



**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΟ ΓΕΝΙΚΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ «ΑΤΤΙΚΟΝ»
Β' ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΗ ΚΑΡΔΙΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΕΥΣΤΑΘΙΟΣ ΗΛΙΟΔΡΟΜΙΤΗΣ**

Τίτλος

**Χαμηλής συχνότητας νευρομυϊκή ηλεκτρική διέγερση των σκελετικών
μυών των κάτω άκρων & νεοαγγειογένεση σε ασθενείς με χρόνια καρδιακή
ανεπάρκεια με χαμηλό κλάσμα εξώθησης**

Νικόλαος Α. Μαγκούτης

Καρδιολόγος

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΑΘΗΝΑ 2018

Ημερομηνία αιτήσεως του υποψηφίου: 19/05/2010

Ημερομηνία ορισμού τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 30/06/2010

Μέλη της τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

1. Ιωάννης Παρίσσης
2. Γεράσιμος Φιλιππάτος
3. Ιγνάτιος Οικονομίδης

Ημερομηνία ορισμού του θέματος: 01/11/2010

Μέλη της επταμελούς Εξεταστικής Επιστροπής:

1. Γεράσιμος Φιλιππάτος
2. Ευστάθιος Ηλιοδρομίτης
3. Ιωάννης Παρίσσης
4. Ιγνάτιος Οικονομίδης
5. Εριφύλη Χατζηαγγελάκη
6. Κωνσταντίνος Φούκας
7. Χρήστος Κρούπης

ΙΠΠΟΚΡΑΤΙΚΟΣ ΟΡΚΟΣ ΚΕΙΜΕΝΟ

ΟΜΝΥΜΙ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΙΗΤΡΟΝ ΚΑΙ ΑΣΚΛΗΠΙΟΝ ΚΑΙ ΥΓΙΕΙΑΝ ΚΑΙ ΠΑΝΑΚΕΙΑΝ ΚΑΙ ΘΕΟΥΣ ΠΑΝΤΑΣ ΤΕ ΚΑΙ ΠΑΣΙΑΣ ΙΣΤΟΡΑΣ ΠΟΙΕΥΜΕΝΟΣ, ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΗΣΕΙΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ ΟΡΚΟΝ ΤΟΝΔΕ ΚΑΙ ΞΥΓΓΡΑΦΗΝ ΤΗΝΔΕ ΗΓΗΣΕΣΘΑΙ ΜΕΝ ΤΟΝ ΔΙΔΑΣΑΝΤΑ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ ΙΣΑ ΤΕΝΕΤΗΣΙΝ ΕΜΟΙΣΙ, ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΟΙΝΩΣΕΣΘΑΙ ΚΑΙ ΧΡΕΩΝ ΧΡΗΖΟΝΤΙ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΕΣΘΑΙ ΚΑΙ ΓΕΝΟΣ ΤΟ ΕΞ ΑΥΤΟΥ ΑΔΕΛΦΕΥΣΙΣΙΟΝ ΕΠΙΚΡΙΝΕΕΙΝ ΑΡΡΕΣΙ ΚΑΙ ΔΙΔΑΣΕΙΝ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ, ΗΝ ΧΡΗΖΩΣΙ ΜΑΝΘΑΝΕΙΝ, ΑΝΕΥ ΜΙΣΘΟΥ ΚΑΙ ΞΥΓΓΡΑΦΗΣ ΠΑΡΑΓΓΕΛΙΗΣ ΤΕ ΚΑΙ ΑΚΡΟΗΣΙΟΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΛΟΙΠΗΣ ΑΠΑΣΗΣ ΜΑΘΗΣΙΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΕΣΘΑΙ ΥΙΟΙΣΙ ΤΕ ΕΜΟΙΣΙ ΚΑΙ ΤΟΙΣΙ ΤΟΥ ΕΜΕ ΔΙΔΑΣΑΝΤΟΣ ΚΑΙ ΜΑΘΗΤΑΙΣΙ ΞΥΓΓΕΓΡΑΜΜΕΝΟΙΣ, ΤΕ ΚΑΙ ΟΡΚΙΣΜΕΝΟΙΣ ΝΟΜΩ ΙΗΤΡΙΚΩ, ΑΛΛΩ ΔΕ ΟΥΔΕΝΙ ΔΙΑΙΤΗΜΑΤΙ ΤΕ ΧΡΗΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΗ ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ, ΕΠΙ ΔΗΛΗΣΕΙ ΔΕ ΚΑΙ ΑΔΙΚΗΣΙΡΡΕΣΙΝ, ΟΥ ΔΩΣΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΦΑΡΜΑΚΟΝ ΟΥΔΕΝΙ ΑΙΤΗΘΕΙΣ ΘΑΝΑΣΙΜΟΝ, ΟΥΔΕ ΥΦΗΓΗΣΟΜΑΙ ΣΥΜΒΟΥΛΙΗΝ ΤΟΙΗΝΔΕ ΟΜΟΙΩΣ ΔΕ ΟΥΔΕ ΓΥΝΑΙΚΙ ΠΕΣΙΟΝ ΦΘΟΡΙΟΝ ΔΩΣΩ, ΑΓΝΩΣΙ ΔΕ ΚΑΙ ΟΣΩΣΙ ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΒΙΟΝ ΤΟΝ ΕΜΟΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΝ ΤΗΝ ΕΜΗΝ, ΟΥ ΤΕΜΕΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΜΗΝ ΛΙΘΙΖΟΝΤΑΣ, ΕΚΧΩΡΗΣΩ ΔΕ ΕΡΓΑΤΗΣΙΝ ΑΝΔΡΑΣΙΝ ΠΡΗΕΙΟΣ ΤΗΣΔΕ ΕΙΣ ΟΙΚΙΑΣ ΔΕ ΟΚΟΣΙΑΣ ΑΝ ΕΣΙΩ, ΕΣΕΛΕΥΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΑ ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ, ΕΚΤΟΣ ΕΩΝ ΠΑΣΗΣ ΑΔΙΚΗΣ ΕΚΟΥΣΗΣ ΚΑΙ ΑΦΡΟΝΗΣ ΤΗΣΤΕ ΑΛΛΗΣ ΚΑΙ ΑΦΡΟΔΙΣΙΩΝ ΕΡΓΩΝ ΕΠΙ ΤΕ ΓΥΝΑΙΚΕΙΩΝ ΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΝΔΡΕΙΩΝ, ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΤΕ ΚΑΡΔΟΥΩΝ, Α Δ' ΕΝ ΕΝ ΘΕΡΑΠΕΙΑ Η ΙΔΩ Η ΑΚΟΥΣΩ, Η ΚΑΙ ΑΝΕΥ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΚΑΤΑ ΕΪΟΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ, Α ΜΗ ΧΡΗ ΠΟΤΕ ΕΚΛΑΛΕΣΘΑΙ ΜΕΣΩ ΣΙΓΗΣΟΜΑΙ, ΑΡΡΗΤΑ ΗΓΕΥΜΕΝΟΣ ΕΙΝΑΙ ΤΑ ΤΟΙΑΥΤΑ, ΟΡΚΟΝ ΜΕΝ ΟΥΝ ΜΟΙ ΤΟΝΔΕ ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΕΟΝΤΙ ΚΑΙ ΜΗ ΞΥΓΓΕΟΝΤΑ ΕΙΝ ΕΠΑΥΡΑΣΘΑΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΣ, ΔΟΣΑΖΟΜΕΝΩ ΠΑΣΙ ΠΑΤΡΙΣΙ ΑΝΘΡΩΠΟΙΣ ΕΣ ΤΟΝ ΑΙΕΙ ΧΡΟΝΟΝ ΠΑΡΑΒΑΙΝΟΝΤΙ ΔΕ ΚΑΙ ΕΒΙΟΡΚΕΟΝΤΙ, ΤΑΝΑΝΤΙΑ ΤΟΥΤΕΩΝ.

Πίνακας περιεχομένων

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ	6
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	7
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	8
<i>Καρδιακή ανεπάρκεια και ενδοθηλιακή δυσλειτουργία</i>	8
<i>Κυκλοφορούντα ενδοθηλιακά προγονικά κύτταρα- EPCs</i>	12
<i>EPCs και ενδοθηλιακή δυσλειτουργία</i>	14
<i>CD34+ κύτταρα</i>	15
<i>CD34+ κύτταρα και Χρόνια Καρδιακή Ανεπάρκεια</i>	16
<i>EPCs και Χρόνια Καρδιακή Ανεπάρκεια</i>	18
<i>VEGF-A ως δείκτης αγγειογένεσης</i>	18
<i>VEGF και Χρόνια Καρδιακή Ανεπάρκεια</i>	21
<i>Άσκηση και Χρόνια Καρδιακή Ανεπάρκεια</i>	22
<i>Άσκηση και EPCs</i>	29
<i>Άσκηση και EPCs στην Χρόνια Καρδιακή Ανεπάρκεια</i>	32
<i>CD34+ κύτταρα και άσκηση στην Χρόνια Καρδιακή Ανεπάρκεια</i>	34
<i>VEGF και άσκηση στην Χρόνια Καρδιακή Ανεπάρκεια</i>	35
<i>FES και τρόποι χρήσης</i>	36
<i>FES και Κεντρικό Νευρικό Σύστημα</i>	37
<i>FES και Χρόνια Καρδιακή Ανεπάρκεια</i>	37
<i>Δοκιμασία βάρδιας σε 6 λεπτά (6-MWT)</i>	42
<i>Υπερηχογραφικός έλεγχος</i>	43
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	45
<i>Σκοπός της διατριβής</i>	45
<i>Μέθοδος</i>	46
<i>Πληθυσμός</i>	46
<i>Κριτήρια αποκλεισμού</i>	46
<i>Πρωτόκολλο μελέτης</i>	47
<i>Πρόγραμμα FES</i>	51
<i>Μέτρηση CD34+ κυττάρων και EPCs</i>	52
<i>Μέτρηση των VEGF</i>	54
<i>Στατιστική ανάλυση</i>	55
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	56
<i>Βασικά χαρακτηριστικά του δείγματος μελέτης</i>	56
<i>Βαθμός συμμόρφωσης των ασθενών</i>	59
<i>Επίδραση FES στους παράγοντες αγγειογένεσης</i>	60
<i>Συσχέτιση μεταβολών δεικτών αγγειογένεσης και 6MWD, E/E'</i>	70
ΣΥΖΗΤΗΣΗ	72
Συμπεράσματα	78
Βιβλιογραφία	79

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

Γεννήθηκα και μεγάλωσα στα Τρίκαλα. Σπούδασα στην Ιατρική Σχολή του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης. Αφού υπηρέτησα στο Π.Ι. Στουρναρέικων ως Αγροτικός Ιατρός, ξεκίνησα την ειδικότητα της Καρδιολογίας στο Γ.Ν.Τρικάλων και την ολοκλήρωσα στο Γ.Ν.Α. «Γεώργιος Γεννηματάς». Εν τω μεταξύ απέκτησα τον μεταπτυχιακό δίπλωμα με τίτλο «Άσκηση και Υγεία» από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Κατά την διάρκεια της λήψης της ειδικότητας, συμμετείχα στην παρακολούθηση των ασθενών του Ιατρείου της Καρδιακής Ανεπάρκειας του Γ.Ν.Α. «Γεώργιος Γεννηματάς» και παράλληλα ξεκίνησα το πειραματικό κομμάτι της διδακτορικής μου διατριβής. Μετά την ολοκλήρωσή του και με την βοήθεια υποτροφίας από την Ελληνική Καρδιολογική Εταιρεία, ξεκίνησα την εξειδίκευση μου σε νέες τεχνικές στο Αιμοδυναμικό Εργαστήριο στο Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Lariboisière CHU στο Παρίσι. Παράλληλα, απέκτησα το δίπλωμα της Επεμβατικής Καρδιολογίας (Diplôme InterUniversitaire, DIU) από το Πανεπιστήμιο Descartes στο Παρίσι. Την διετία της εξειδίκευσής μου στο Αιμοδυναμικό Εργαστήριο, συμμετείχα ενεργά στο ερευνητικό έργο της Πανεπιστημιακής Κλινικής του Lariboisière CHU, με κύριο θέμα το έμφραγμα του μυοκαρδίου και την καρδιακή ανακοπή. Το ερευνητικό αυτό έργο αφορούσε τόσο μελέτες σε ανθρώπους όσο και πειράματα σε χοίρους.

Στη συνέχεια, εργάστηκα επί 3ετίας ως επιμελητής στο Centre Chirurgical Marie Lannelongue στο Παρίσι, με κύριο αντικείμενο το Αιμοδυναμικό Εργαστήριο αλλά και την παρακολούθηση ασθενών με Χρόνια Καρδιακή Ανεπάρκεια. Παράλληλα, εργάστηκα ως έμμισθος επιστημονικός συνεργάτης στο Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Lariboisière CHU και στο Αμερικάνικο Νοσοκομείο στο Παρίσι.

Από 01/01/2018 έχω αναλάβει την διεύθυνση του Αιμοδυναμικού Εργαστηρίου του ΙΑΣΩ Θεσσαλίας.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια (ΧΚΑ) είναι ένα κλινικό σύνδρομο με τεράστιες κοινωνικοοικονομικές προεκτάσεις. Η μειωμένη ανοχή στην άσκηση των ασθενών με προχωρημένη καρδιακή ανεπάρκεια αποτελεί ανεξάρτητο αρνητικό προγνωστικό παράγοντα.

Στο σύνδρομο της καρδιακής ανεπάρκειας η χαμηλή καρδιακή παροχή σε συνδυασμό με την δυσλειτουργία του ενδοθηλίου και άρα την διαταραγμένη αγγειοδιασταλτική λειτουργία οδηγούν σε ιστική υποάρδευση. Όλα αυτά συνεπάγονται μειωμένη λειτουργικότητα, περιορισμένη ικανότητα αυτό-εξυπηρέτησης και συνεπώς μη ικανοποιητική ποιότητα ζωής. Η συστηματική αερόβια άσκηση αλλά και η νευρομυϊκή ηλεκτρική δραστηριότητα (NMΗΔ) δρουν, όπως έχει επαρκώς τεκμηριωθεί, ευεργετικά στη συστηματική φλεγμονή, την δυσλειτουργία του ενδοθηλίου και το μεταβολισμό των μυών. Δεν έχει, παρόλ' αυτά μελετηθεί, μέχρι σήμερα, η επίδραση της ΝΜΗΔ στη νεοαγγειογένεση σε ασθενείς που πάσχουν από μέτρια προς σοβαρή καρδιακή ανεπάρκεια με χαμηλό κλάσμα εξώθησης.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Καρδιακή ανεπάρκεια και ενδοθηλιακή δυσλειτουργία

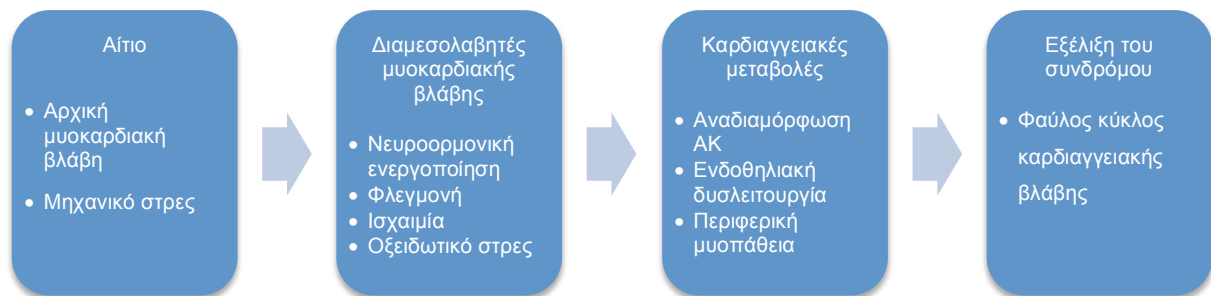
Το αγγειακό ενδοθήλιο είναι ενεργός ιστός που ρυθμίζει την περιφερική ροή του αίματος και τον αγγειακό τόνο με την παραγωγή και απελευθέρωση διαφόρων αγγειοδραστικών παραγόντων.^{1,2} Υπό φυσιολογικές συνθήκες, αποτελεί ρυθμιστικό μηχανισμό ανάμεσα στην αγγειοσύσπαση και την αγγειοδιαστολή, την πηκτικότητα και την αντιπηκτικότητα, την φλεγμονή αλλά και την οξειδωση.^{3,4} Ένα υγιές ενδοθήλιο διατηρεί χαλαρό αγγειακό τόνο αναστέλλοντας όχι μόνο την ανάπτυξη των λείων μυικών κυττάρων αλλά και τη συσσώρευση και συγκόλληση των αιμοπεταλίων και των λευκών αιμοσφαιρίων.^{5,6}

Από τη μία πλευρά, αγγειοδιασταλτικοί παράγοντες με κύριο εκπρόσωπο το μονοξείδιο του αζώτου ή νιτρικό οξείδιο (NO), το οποίο παράγεται κυρίως σε μεσαίου και μεγάλου μεγέθους αγγεία από το αμινοξύ L-αργινίνη. Αναστέλλει όχι μόνο την προσκόλληση των λευκών αιμοσφαιρίων στο ενδοθήλιο αλλά και αλληλεπιδράσεις μεταξύ αιμοπεταλίων και του αγγειακού τοιχώματος καθώς επίσης τον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση των λείων μυικών κυττάρων. Αποτελεί ισχυρό αγγειοδιασταλτικό παράγοντα και παίζει σημαντικό ρόλο στην διατήρηση του αγγειακού τόνου. Εκκρίνεται έπειτα από ενεργοποίηση ειδικών υποδοχέων, όπως της βραδυκινίνης II, μουσκαρινικών αλλά και μηχανικών υποδοχέων ευαίσθητους στην διαμητική τάση (shear & stretch stress).^{7,8}

Από την άλλη πλευρά, αγγειοσυσπαστικοί παράγοντες, όπως η νορεπινεφρίνη, η αγγειοτενσίνη II και η ενδοθηλίνη 1, παρουσιάζουν υπερπλαστικές ιδιότητες και προφλεγμονώδη δράση^{5,9,10} προάγοντας την αγγειακή αναδιαμόρφωση, την υπερπηκτική δραστηριότητα και την παραγωγή

ελευθέρων ριζών σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις, όπως η αθηροσκλήρωση, η αρτηριακή υπέρταση και η καρδιακή ανεπάρκεια.^{9,11}

Σχήμα 1. Παθοφυσιολογικός μηχανισμός καρδιακής ανεπάρκειας



Στο σχήμα 1 περιγράφεται συνοπτικά ο παθοφυσιολογικός μηχανισμός της χρόνιας καρδιακής ανεπάρκειας (ΧΚΑ). Βλέπουμε, λοιπόν, ότι η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία παίζει σημαντικό ρόλο στην εξέλιξη του συνδρόμου αυξάνοντας την περιφερική αγγειοσύσπασση και μειώνοντας την ικανότητα προς άσκηση. Έρευνες έχουν δείξει την ύπαρξή της στα περιφερικά αγγεία αντίστασης αλλά και μια επηρεασμένη αγγειοδιασταλτική ικανότητα των μεγαλύτερων αγγείων στην χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια.¹²⁻¹⁴ Εξάλλου, πειραματικές και κλινικές μελέτες έχουν δείξει μειωμένη αγγειοδιασταλτική ικανότητα ως απάντηση σε χορήγηση ακετυλοχολίνης στα επικαρδιακά στεφανιαία αγγεία τόσο στην ισχαιμική όσο και στην ιδιοπαθή διατατική μυοκαρδιοπάθεια.^{15,16}

Πιστεύεται ότι η οφειλόμενη στο ενδοθήλιο μειωμένη ικανότητα προς αγγειοδιαστολή στην χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια, ανεξάρτητα αιτιολογίας οφείλεται, κυρίως, στα μειωμένα ενδοκυττάρια επίπεδα L-αργινίνης, μειωμένη έκφραση της συνθετάσης του NO (cNOS), μειωμένη απελευθέρωση NO μετά από διέγερση φαρμακολογικών ή μηχανικών υποδοχέων ή αυξημένη αποδόμησή του λόγω του οξειδωτικού στρες.¹⁷⁻²⁰ Στον πίνακα 1 αναφέρονται οι

σημαντικότεροι παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί στους οποίους οφείλεται η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία στην ΧΚΑ.

Πίνακας 1. Παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας στην ΧΚΑ

➤ ↓διατμητικής τάσης (↓cNOS - ↓NO)
➤ ↓κατεχολαμίνες (↓cNOS - ↓NO)
➤ ↑αγγειοτενσίνης (↓cNOS - ↓NO, ↑ενδοθηλίνης 1, ↓βραδυκινίνης)
➤ ↑ενδοθηλίνης 1 (↓cNOS - ↓NO, αγγειακή αναδιαμόρφωση)
➤ ↓βραδυκινίνης (↓cNOS - ↓NO)
➤ ↑προφλεγμονωδών κυτοκινών (↓cNOS+απενεργοποίηση του NO+οξειδωτικού στρες)
➤ ↑απόπτωσης των ενδοθηλιακών κυττάρων
➤ ↓ενδοκυττάριας διαθεσιμότητας L-αργινίνης
➤ ↑δομικής αναδιαμόρφωσης των μικρών αγγείων

Όπου NO: νιτρικό οξείδιο, cNOS: συνθετάση του NO.

Βλέπουμε, λοιπόν, ότι οφείλεται κυρίως στη μείωση της παραγωγής του NO ή/και στην αδρανοποίησή του στο ενδοθήλιο. Βασικές αιτίες αποτελούν: η αυξημένη συγκέντρωση των διαφόρων κυκλοφορούντων αγγειοσυσπαστικών ορμονών (αγγειοτενσίνης II, αλδοστερόνης, κατεχολαμινών, ενδοθηλίνης), η υπερέκφραση των κυκλοφορούντων προφλεγμονωδών κυτοκινών (TNF-α, IL-1, IL-6) και άλλων προφλεγμονωδών παραγόντων σχετιζόμενων με κυτοκίνες (NF-κΒ), η αυξημένη αποδόμηση της βραδυκινίνης, η υπερπαραγωγή των ελευθέρων ριζών οξυγόνου, η μειωμένη ροή στα περιφερικά αγγεία και η μείωση της

διαμητικής τάσης καθώς και η μειωμένη ενδοκυττάρια διαθεσιμότητα L-αργινίνης.^{17, 18, 21-27}

Εξάλλου, οι Ishibashi και συνεργάτες έχουν δείξει ότι η παραγωγή NO στην ΧΚΑ οφείλεται στην ενεργοποίηση πέραν της cNOS και του iNOS (inducible NOS).²⁸ Επίσης, προφλεγμονώδεις κυτοκίνες και το οξειδωτικό στρες μπορούν να οδηγήσουν σε υπερβολική ενεργοποίηση μέσω του iNOS των κυκλοφορούντων μακροφάγων και μονοκυττάρων, οδηγώντας σε υπερπαραγωγή NO με τοξικά αποτελέσματα στο αγγειακό ενδοθήλιο των ασθενών με ΧΚΑ.^{29,30} Η έκκριση NO μέσω της cNOS, παράλληλα, αναστέλλεται μερικώς από την αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών οξυγόνου, η οποία προκαλεί την έκκριση χημειοτακτικών και προσκολλητικών στο ενδοθήλιο παραγόντων και προάγει την χαμηλού βαθμού φλεγμονώδη απάντηση που σχετίζεται με την ενδοθηλιακή βλάβη στην ΧΚΑ.^{31,32}

Από την άλλη, κυκλοφορούσες νευροορμόνες, όπως η αγγιοτενσίνη II και η ενδοθηλίνη I, με ισχυρές αγγειοσυσπαστικές ιδιότητες, συμβάλλουν σημαντικά στην αυξημένη συστηματική αγγειακή αντίσταση και το αυξημένο μεταφορτίο, με αποτέλεσμα την επιδείνωση της ΧΚΑ. Προωθούν, επίσης, την ανάπτυξη των λείων μυικών κυττάρων και την παραγωγή αγγειακού εξωκυττάριου ιστού. Έτσι, μακροπρόθεσμα, μπορούν να οδηγήσουν σε δομική αναδιαμόρφωση των μικρών αγγείων, περαιτέρω αύξηση της περιφερικής αγγειακής αντίστασης και σε μείωση της διαμητικής τάσης (το μηχανικό ερέθισμα για παραγωγή NO) στην ΧΚΑ.^{9,16,33,34}

Επιπρόσθετα, τα επίπεδα δυνητικών αγγειοδιασταλτικών παραγόντων, όπως το νατριουρητικό πεπτίδιο τύπου C (CNP) και η αδρενομεδουλίνη, αυξάνονται στην ΧΚΑ, πιθανώς δρώντας ως αντισταθμιστικοί μηχανισμοί έναντι

στην ενδοθηλιακή βλάβη.³⁵⁻³⁷ Ειδικότερα, το CNP ανήκει στην οικογένεια των νατριουρητικών πεπτιδίων και πιστεύεται ότι έχει ρυθμιστικές ιδιότητες στον αγγειακό τόνο, ενώ ταυτόχρονα αναστέλλει την ανάπτυξη των λείων μυικών κυττάρων μέσω παραγωγής cGMP, λειτουργώντας, λοιπόν, ως αυτοκρινές/παρακρινές σύστημα του ενδοθήλιου.^{35,36,38} Η αδρενομεδουλίνη, εξάλλου, διαθέτει πολλαπλές βιολογικές ιδιότητες, καθώς προάγει την ενδοθηλιο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή, έχει θετική ινότροπη και διουρητική δράση, ενώ αναστέλλει την έκκριση της αλδοστερόνης.³⁷⁻³⁹ Πιστεύεται, λοιπόν, βάσει πειραματικών και κλινικών δεδομένων, ότι τα επίπεδα τόσο των αγγειοσυσπαστικών όσο και των αγγειοδιασταλτικών μορίων αυξάνονται στην ΧΚΑ, με υπερίσχυση των πρώτων.

Τέλος, μία άλλη παράμετρος ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας στην ΧΚΑ αποτελεί η αυξημένη συγκολλητική ικανότητα των ενδοθηλιακών κυττάρων σε συστατικά του αίματος, ιδιαίτερα των μονοκυττάρων.⁴⁰ Αυτή η αλληλεπίδραση ενδοθηλίου-μονοκυττάρων, μέσω της υπερέκφρασης προσκολλητικών μορίων (ICAM-1, VCAM-1, κ.α.) επιταχύνει την απόπτωση του ενδοθήλιου και προάγει την παραγωγή προφλεγμονωδών κυττοκινών και ελευθέρων ριζών οξυγόνου στο καρδιαγγειακό σύστημα των ασθενών με ΧΚΑ.⁴¹ Έτσι, αυξημένα επίπεδα διαλυτών μορφών προσκολλητικών μορίων (sICAM-1, sVCAM-1), ως μη επεμβατικοί δείκτες της προαναφερθείσας αλληλεπίδρασης και, άρα της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας, βρέθηκαν σε ασθενείς με ΧΚΑ, ανάλογα με τη σοβαρότητα της νόσου.^{17,40-42}

Κυκλοφορούντα ενδοθηλιακά προγονικά κύτταρα- EPCs

Η διαδικασία δημιουργίας των αγγείων συμβαίνει με δύο μηχανισμούς. Πρώτον, με ανάπτυξη προϋπαρχόντων αγγείων μέσω βλάστησης

διαφοροποιημένων ή εγκολεασμού από προϋπάρχοντα τριχοειδή (αγγειογένεση-angiogenesis).^{43,44} Δεύτερον, με ανάπτυξη *in situ* προϋπαρχόντων αγγειοβλαστών (φλεβογένεση-vasculogenesis)⁴⁵ Μέχρι πρόσφατα, θεωρείτο ότι η φλεβογένεση συντελείται μόνο κατά την εμβρυογένεση. Ωστόσο, το 1997 πρώτοι οι Asahara και συνεργάτες περιέγραψαν την ύπαρξη ενδοθηλιακών κυττάρων στο περιφερικό αίμα ενηλίκων προερχόμενο από το μυελό των οστών, επιβεβαιώνοντας έτσι τον ρόλο της φλεβογένεσης στην διαδικασία της μετά την γέννηση νεοαγγείωσης.⁴⁶ Ο εν λόγω πληθυσμός κυττάρων ονομάστηκε ενδοθηλιακά προγονικά κύτταρα (endothelial progenitor cells, EPCs). Αποτελούν αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα και κινούνται μεταξύ μυελού των οστών και περιφερικού αίματος. Υπάρχουν, τουλάχιστον, δύο είδη, τα πρώιμα και τα όψιμα. Τα πρώτα αναφέρονται συνήθως ως αγγειογόνα και προκύπτουν από καλλιέργειες μικρής διάρκειας, 4-7 ημέρες. Τα όψιμα, αντίθετα προκύπτουν από καλλιέργειες μακρύτερης διάρκειας, τουλάχιστον 2-4 εβδομάδων και αναφέρονται συχνά ως **outgrowth** EPCs.⁴⁷ Τα εν λόγω κύτταρα έχουν την ικανότητα να συντηρούν, να παράγουν και να αντικαθιστούν κύτταρα τελικού σταδίου διαφοροποίησης εντός του ίδιου τους του ιστού, ως συνέπεια είτε φυσιολογικής εκφύλισης είτε ιστικής βλάβης.⁴⁸

Η βλάβη των ενδοθηλιακών κυττάρων, έπειτα από ιστική ισχαιμία ή αγγειακό τραυματισμό, προκαλεί την έναρξη διαδικασιών επιδιόρθωσης και αναπαραγωγής. Αρχικά κινητοποιούνται τα EPCs από το μυελό των οστών στο περιφερικό αίμα και στη συνέχεια στο σημείο της βλάβης. Τοπικά, η φλεβογένεση πραγματοποιείται μετά την προσκόλληση και τον πολλαπλασιασμό τους στο νεοσχηματιζόμενο αγγειακό δίκτυο με αποτέλεσμα την παραγωγή ώριμων ενδοθηλιακών κυττάρων.⁴⁹ Ο εν λόγω παθοφυσιολογικός μηχανισμός

είναι θεμελιώδης για την διατήρηση του ενδοθηλίου και την αποκατάσταση της αρμονικής λειτουργίας του.

Σύμφωνα με την σύγχρονη βιβλιογραφία, τα βλαστοκύτταρα των ενηλίκων παράγουν διαφοροποιημένα κύτταρα πέραν του ίδιου τους του ιστού, διαδικασία η οποία αποκαλείται «αναπτυξιακή πλαστικότητα» (developmental plasticity). Τα κυκλοφορούντα EPCs έχουν διπλό ρόλο, επούλωση του ενδοθηλίου και νεοαγγειογένεση.^{50,51}

EPCs και ενδοθηλιακή δυσλειτουργία

Επί 10 και πλέον έτη, μελέτες έχουν προσπαθήσει να κατανοήσουν τον ρόλο των EPCs στο καρδιαγγειακό σύστημα, καθώς η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία θεωρείται, πλέον, προγνωστικός δείκτης της καρδιαγγειακής νόσου.^{52,53} Αν και δεν υπάρχουν ακόμα ακριβή κριτήρια προσδιορισμού των EPCs, αρκετές μελέτες έχουν δείξει το σημαντικό τους ρόλο στην αποκατάσταση της ενδοθηλιακής βλάβης.⁵⁴ Χαμηλά επίπεδα EPCs έχουν συσχετιστεί με ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και υψηλό καρδιαγγειακό κίνδυνο.^{55,56}

Μελέτες σε ζώα έδειξαν ότι η προαγωγή των προερχόμενων από το μυελό των οστών EPCs αποτελεί κύριο μηχανισμό αποκατάστασης του ενδοθηλίου. Πιο συγκεκριμένα, έδειξαν ότι σε πειραματικά μοντέλα ισχαιμικής βλάβης, τα προερχόμενα από το μυελό των οστών κύτταρα παίζουν σημαντικό ρόλο στην αποκατάσταση της αγγειακής βλάβης και την παραγωγή νέου ιστού.

57-59

Τα EPCs βρίσκονται, σε μικρές ποσότητες, στην περιφερική αιματική κυκλοφορία στους υγιείς ενήλικες και είναι υπεύθυνα για την αγγειακή και ενδοθηλιακή αποκατάσταση σε περίπτωση ιστικής βλάβης.⁶⁰ Μείωση των

επιπέδων τους σχετίζεται με αυξημένη επίπτωση ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας.

55,61

CD34+ κύτταρα

Το αντιγόνο κυτταρικής επιφάνειας CD34 ανιχνεύθηκε αρχικά χρησιμοποιώντας μονοκλωνικά αντισώματα τα οποία στόχευαν έναν κοινό επιφανειακό δείκτη πολλών αιμοποιητικών προγονικών κυττάρων.^{62,63} Η ανίχνευσή του τόσο σε κυκλοφορούντα στο αίμα όσο και σε κύτταρα στο μυελό των οστών εξελίχθηκε σε μία σχετικά απλή μέθοδο απομόνωσης από τα ανθρώπινα κύτταρα. Έτσι, άνοιξε ο δρόμος για την χρησιμοποίησή τους για την θεραπεία ποικίλων νόσων, όπως ο καρκίνος, ο σακχαρώδης διαβήτης, αυτοάνοσες νόσοι αλλά και η στεφανιαία νόσος (ΣΝ) και η ΧΚΑ. Η πίστη ότι τα CD34+ κύτταρα θα μπορούσαν να παίξουν ρόλο στην θεραπεία της ΣΝ και της ΧΚΑ προέκυψε πρώιμα από την διαπίστωση ότι τόσο τα EPCs όσο και τα πλήρως διαφοροποιημένα ενδοθηλιακά κύτταρα εκφράζουν το αντιγόνο CD34.^{61,64-68}

Η πρωτεΐνη CD34 αποτελεί κανονικό μέλος της οικογένειας των πρωτεϊνών CD34, στην οποία ανήκουν, επίσης, η ποδοκαλυξίνη και η ενδοκαλυξίνη, επί τη βάσει συντηρημένων δομών και γωνιδιωματικών οργανισμών.^{69,70} Αν και οι 3 έχουν παρόμοια δομή, μόνο η CD34 χρησιμοποιείται κλινικά για την ανίχνευση βλαστοκυττάρων. Δομικά, αποτελεί ελικοειδή διαμεμβρανική πρωτεΐνη, της οποίας το εξωκυττάριο N-αμινοτελικό άκρο είναι πολύ μεγαλύτερο από το ενδοκυττάριο C-άκρο. Από τις 3 πρωτεΐνες της οικογένειας, η CD34 είναι η μικρότερη.

Παρά την ακριβή γνώση της δομής της και της χρησιμότητάς της για την ανίχνευση των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων, οι ακριβείς κυτταρικές

λειτουργίες του αντιγόνου CD34 παραμένουν σχεδόν άγνωστες. Οι επικρατούντες υποτιθέμενοι ρόλοι της, σύμφωνα με τις υπάρχουσες γνώσεις μας, είναι οι παρακάτω:

- Προώθηση του πολλαπλασιασμού των αιμοποιητικών προγονικών κυττάρων
- Προώθηση της προσκόλλησης των λεμφοκυττάρων στο αγγειακό ενδοθήλιο μέσω της L-σελεκτίνης, πέραν της βελτίωσης γενικά της προσκολλητικής ικανότητας των κυττάρων
- Πρόληψη της ενεργοποίησης των ιντεγκρινών, εκτεινόμενη πέραν του εξωκυττάρου άκρου της, πιθανόν παίζοντας ρόλο έτσι στην αναστολή της μέσω της ιντεγκρίνης προσκόλλησης των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων⁷⁰
- Συμμετοχή στην αιμοποίηση⁷¹
- Συμμετοχή στην διακίνηση των αιμοποιητικών κυττάρων^{72,73}

Αν και η ακριβής λειτουργία της πρωτεΐνης CD34 δεν έχει πλήρως περιγραφεί, το προφίλ έκφρασής της στους ενήλικες είναι γνωστό. Εξαιρετικής σημασίας είναι το γεγονός ότι εκφράζεται στο αγγειακό ενδοθήλιο των περισσότερων οργάνων και, ιδιαίτερα, στα τριχοειδή.^{65,68,74-83} Η καλά τεκμηριωμένη έκφρασή τους στα αιμοποιητικά προγονικά κύτταρα έχει καταστήσει ικανή την ανοσοκάθαρσή τους από το αίμα και το μυελό των οστών, με αποτέλεσμα την ευρεία χρήση τους στην κλινική πράξη.

CD34+ κύτταρα και Χρόνια Καρδιακή Ανεπάρκεια

Τα EPCs, τα οποία χαρακτηρίζονται από την ταυτόχρονη έκφραση των γονιδίων των CD34, CD133 και του υποδοχέα 2 του αυξητικού παράγοντα του αγγειακού ενδοθηλίου (VEGF 2), σχετίζονται με την παθοφυσιολογία της

συμφορητικής καρδιακής ανεπάρκειας (ΣΚΑ) καθώς τόσο η λειτουργία όσο και ο αριθμός τους είναι μειωμένος. Όσον αφορά όμως τα CD34+ κύτταρα μόλις πρόσφατα προέκυψαν στοιχεία σχετικά με την σχέση τους με την ΧΚΑ.

Πρώτοι οι Valgimigli και συνεργάτες έδειξαν ότι ο αριθμός των CD34+ μειώνεται με την αύξηση του σταδίου της ΧΚΑ και ιδιαίτερα στα προχωρημένα στάδια (II-IV).⁸⁴ Μεταγενέστερες μελέτες κατέληξαν στο ίδιο συμπέρασμα.^{85,86} Οι Vagimigli και συνεργάτες μάλιστα έδειξαν ότι τα επίπεδα των CD34+ στα πρώτα λειτουργικά στάδια I και II ήταν αυξημένα σε σχέση με υγιείς ενήλικες. Όσον αφορά την αιτιολογία της ΧΚΑ, μελέτες έδειξαν ότι τα επίπεδα των CD34+ κυττάρων είναι περισσότερο μειωμένα στην ισχαιμικού τύπου (IMK) σε σχέση με την διατακτική μυοκαρδιοπάθεια (ΔΜΚ) και ιδιαίτερα στα λειτουργικά στάδια I-III, ενώ στο στάδιο IV δεν παρατηρείται διαφορά.^{85,86}

Εξάλλου, ο αριθμός των CD34+ κυττάρων στους ασθενείς με ΧΚΑ μειώνεται με την αύξηση της ηλικίας.⁸⁶ Το εύρημα, άλλωστε, αυτό συνάγει και με αντίστοιχα σε υγιείς ενήλικες όπου, επίσης, ο αριθμός τους μειώνεται με την πάροδο της ηλικίας.^{87,88}

Τέλος, λαμβάνοντας υπόψη ότι οι Heechen και συνεργάτες⁸⁹ βρήκαν ότι δεν υπάρχει διαφορά στα CD34+ κύτταρα στο μυελό των οστών υγιών ενηλίκων και ασθενών με IMK, η απελευθέρωση των CD34+ κυττάρων από το μυελό των οστών θα πρέπει να συμβαίνει με διαφορετικό τρόπο στην ΣΚΑ. Ο μηχανισμός αυτός που ευθύνεται για την απελευθέρωση προγονικών κυττάρων δεν είναι πλήρως γνωστός. Ενδεχομένως να οφείλεται στην αυξημένη συγκέντρωση του παράγοντα νέκρωσης των όγκων (tumor necrosis factor α, TNFα) που παρατηρείται στην ΧΚΑ.⁸⁴ Μία μελέτη σε ποντίκια έδειξε ότι ο TNFα πιθανόν να μειώνει να αυξάνει την απόπτωση των προγονικών κυττάρων σε άτομα με IMK.⁹⁰

Εξάλλου, οι Gefit και συνεργάτες έδειξαν ότι όχι μόνο ο αριθμός των CD34+ κυττάρων είναι αντιστρόφως ανάλογος του λειτουργικού σταδίου ΚΑ αλλά στη μέτριο με σοβαρού βαθμού ΚΑ η μη αντιστρεπτή απόπτωση των CD34+ αυξάνεται.⁹¹

EPCs και Χρόνια Καρδιακή Ανεπάρκεια

Περιορισμένες είναι οι γνώσεις μας σχετικά με τα επίπεδα των κυκλοφορούντων EPCs στην ΧΚΑ. Ειδικότερα, πιστεύεται, σύμφωνα με τις υπάρχουσες μελέτες, ότι η κινητοποίηση των EPCs χωρίζεται σε δύο φάσεις στην ΧΚΑ, αυξημένη στα ήπια στάδια και μειωμένη στα πιο προχωρημένα.^{84,91} Πιθανώς, αυτό οφείλεται, όπως ήδη αναφέρθηκε για τα CD34+ κύτταρα, στο μυελοκατασταλτικό ρόλο των κυττοκινών, όπως του TNFα. Σημαντική προοδευτική άνοδος των EPCs παρατηρήθηκε σε ασθενείς που προσήλθαν και νοσηλεύτηκαν με οξεία επιδείνωση της ΧΚΑ κατά την περίοδο της κλινικής βελτίωσης των συμπτωμάτων τους.⁹²

Ενδιαφέρον, εξάλλου, παρουσιάζει μελέτη των Gefit και συνεργατών σχετικά με τα πρώιμα και όψιμα αποπτωτικά EPCs στην ΣΚΑ, η οποία έδειξε ότι ασθενείς με σοβαρή ΚΑ παρουσίαζαν υψηλότερες συγκεντρώσεις αποπτωτικών EPCs και ότι υπήρχε συσχέτιση των κυττάρων αυτών με τη σοβαρότητα της νόσου. Ωστόσο, αυτό δεν επιβεβαιώθηκε σε άλλες μελέτες.⁹³

VEGF-A ως δείκτης αγγειογένεσης

Τρεις διακριτές διαδικασίες συμβάλλουν στην ανάπτυξη νέων αιμοφόρων αγγείων: η αγγειογένεση, η αρτηριογένεση και η de novo αγγειογένεση (vasculogenesis), η οποία αναφέρεται στην δημιουργία αγγείων από το αρχέγονο αγγειακό πλέγμα.⁹⁴ Η αγγειογένεση είναι η διαδικασία κατά την οποία νέα

τριχοειδή αναπτύσσονται από το προϋπάρχον αγγειακό σύστημα. Η εν λόγω διαδικασία περιλαμβάνει τη μετανάστευση και τον πολλαπλασιασμό των ενδοθηλιακών κυττάρων που είναι παρόντα στο υπάρχον αγγείο, ως απάντηση σε ερεθίσματα, όπως η υποξία, το μηχανικό στρες και η φλεγμονή.^{95,96}

Η αρτηριογένεση είναι η διαδικασία της μεγέθυνσης των παράπλευρων αγγείων, η οποία προκύπτει από την αναδιαμόρφωση ή την αύξηση προϋπαρχόντων παράπλευρων συνδέσεων αρτηριολίων.⁹⁴ Προκύπτουν, μ'αυτόν τον τρόπο, αρτηρίες αρκετά μεγάλες ώστε να φαίνονται αγγειογραφικά. Το κύριο ερέθισμα για την αρτηριογένεση πιστεύεται ότι είναι η αλλαγή της διαμητρικής τάσης μέσα σ'ένα αποφραγμένο αγγείο και τα συνδετικά αρτηριόλια τα οποία προκύπτουν από τη μετατόπιση ροής και πίεσης λόγω μηχανικής απόφραξης.^{97,98}

Αντίθετα, η de novo αγγειογένεση ορίζεται ως η de novo δημιουργία από ένα αρχέγονο αγγειακό δίκτυο μέσω της διαφοροποίησης πρόδρομων κυττάρων του μεσοδέρματος, όπως ενδοθηλιακά προγονικά κύτταρα,⁹⁹ χωρίς να προϋπάρχει αγγείωση. Παραδείγματα αποτελούν η νεοαγγείωση σε όγκους και η μετατραυματική δημιουργία αγγείων (π.χ. μετά από έμφραγμα του μυοκάρδιου).

100

Ένας από τους σημαντικότερους παράγοντες αύξησης αλλά και επιβίωσης του ενδοθηλίου αποτελεί ο VEGF-A ή απλά VEGF.⁹⁴ Πιο συγκεκριμένα, πρόκειται για μέλος της οικογένειας των VEGFs η οποία αποτελείται από 5 εκκρινόμενους διμερείς γλυκοπρωτεϊνικούς αυξητικούς παράγοντες που απαντώνται στα θηλαστικά. Οι άλλοι τέσσερις είναι: ο VEGF-B, ο VEGF-C, ο VEGF-D και ο αυξητικός παράγοντας του πλακούντα (placenta

growth factor, PIGF). Έχουν την ιδιότητα να συνδέονται με ειδικούς υποδοχείς του αγγειακού ενδοθηλίου (VEGFR-1, VEGFR-2 και VEGFR-3).

Ο VEGF-A έχει πλειοτροπική δράση και, μεταξύ άλλων, προάγει τον πολλαπλασιασμό των ενδοθηλιακών κυττάρων και την αγγειογένεση (**πίνακας 2**). Πρόκειται για μια πρωτεΐνη που συνδέεται με την ηπαρίνη η οποία εκκρίνεται ως 45-kDa ομοδιμερές.⁹⁵ Εκκρίνεται από διάφορα κύτταρα, όπως ενδοθηλιακά, πολυδύναμα βλαστοκύτταρα και ώριμα μυοκαρδιακά κύτταρα.¹⁰¹ Η δραστικότητα του VEGF-A αποδίδεται, κυρίως, σε παρακρινείς και αυτοκρινείς δράσεις.¹⁰²⁻¹⁰⁵

Πίνακας 2. Φυσιολογικές λειτουργίες που επηρεάζονται από την βιοδραστικότητα των VEGF

- Δημιουργία νέων αγγείων, περιλαμβάνοντας της αγγειογένεση, την αρτηριογένεση και την vasculogenesis
- Σταθεροποίηση των νεοσχηματισθέντων αγγείων και μυοκαρδιακών κυττάρων μέσω μειωμένης απόπτωσης
- Αγγειοδιαστολή
- Αυξημένη διαπερατότητα των αγγείων
- Διαμόρφωση της νευρικής διέγερσης
- Στρατολόγηση εμβρυικών κυττάρων

Όπου VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor - αυξητικός παράγοντας του αγγειακού ενδοθηλίου

Η ανάπτυξη των νέων αιμοφόρων αγγείων, ή αγγειογένεση, ξεκινάει με την ενεργοποίηση των ενδοθηλιακών κυττάρων των “μητρικών” αγγείων.⁹⁶ Ο VEGF-A συνδέεται κυρίως με τον VEGFR-1 υποδοχέα, τον οποίο κι ενεργοποιεί,

με αποτέλεσμα την οργάνωση των ενδοθηλιακών κυττάρων σε λειτουργικά αγγεία¹⁰⁶ και τον αποικισμό πρόδρομων βλαστοκυττάρων.¹⁰⁷

Εξάλλου, σε περίπτωση απόφραξης ενός μεγάλου αγγείου, η ροή του αίματος στον ισχαιμούν ιστό εξαρτάται από τα παράπλευρα αγγεία. Μελέτες in vivo αλλά και σε ασθενείς έχουν δείξει ότι ο VEGF βελτιώνει την παράπλευρο αιματική ροή στις ισχαιμικές περιοχές.^{97,98}

Οι Losordo και συνεργάτες έδειξαν ότι η απευθείας έγχυση πλασμιδιακού VEGF DNA (rhVEGF165) βελτίωσε την μυοκαρδιακή αιματική ροή σε ασθενείς με μυοκαρδιακή ισχαιμία.⁹⁹ Τέλος, οι Yang Y και συνεργάτες έδειξαν ότι ο VEGF βελτιώνει τη μετεμφραγματική μυοκαρδιακή λειτουργία σε ποντίκια με έγχυση εμβρυικών βλαστοκυττάρων.¹⁰⁰

VEGF και Χρόνια Καρδιακή Ανεπάρκεια

Δεδομένης της ιδιότητας του VEGF να προάγει τον πολλαπλασιασμό αλλά την επιβίωση των ενδοθηλιακών κυττάρων, ενδιαφέρον παρουσιάζει ο δυνητικός θεραπευτικός του ρόλος στην καρδιακή ανεπάρκεια. Η τελευταία, ανεξαρτήτου αιτιολογίας, χαρακτηρίζεται, μεταξύ άλλων, από ελλειπή σχηματισμό νέων αγγείων. Πολλές έρευνες, λοιπόν, τόσο σε προκλινικό όσο και κλινικό επίπεδο έδειξαν ότι ο VEGF θα μπορούσε να είναι χρήσιμος σε άτομα με ΧΚΑ. Ωστόσο, κλινικές μελέτες με γονιδιακή θεραπεία με VEGF απέτυχαν να δείξουν κλινικό όφελος τόσο στη στεφανιαία νόσο όσο και στην περιφερική αγγειοπάθεια.¹⁰⁸

Τέλος, αξίζει να σημειωθεί ότι οι Vaglimigli και συνεργάτες έδειξαν ότι τα επίπεδα του VEGF ήταν αυξημένα στην ΧΚΑ, και ιδιαίτερα στα προχωρημένα λειτουργικά στάδια.⁸⁴ Ενδεχομένως, αποτυγχάνουν να ενεργοποιήσουν τα EPCs

λόγω της ανασταλτικής δράσης του TNFα για κινητοποίηση κυττάρων του μυελού των οστών σε άτομα με προχωρημένη νόσο.

Άσκηση και Χρόνια Καρδιακή Ανεπάρκεια

Μέχρι πριν από 3 δεκαετίες, οι οδηγίες για τους ασθενείς με ΚΑ περιελάμβαναν ξεκούραση στο κρεβάτι και αποχή από άσκηση. Η πρώτη μελέτη σχετικά με το όφελος της άσκησης στην ΚΑ δημοσιεύτηκε το 1990 και άλλαξε την προσέγγισή μας στον τομέα αυτό.¹⁰⁹ Πιο συγκεκριμένα, έδειξε βελτίωση των συμπτωμάτων της ΚΑ και της ικανότητας προς άσκηση σε ασθενείς που ακολούθησαν πρόγραμμα συστηματικής άσκησης, χωρίς να αναφερθούν επιπλοκές. Οι συγγραφείς συμπέραναν ότι η αντίληψη ότι οι ασθενείς με ΚΑ θα πρέπει να παραμένουν κλινήρεις στο κρεβάτι τους δεν μπορούσε πλέον να είναι αποδεκτή. Μετέπειτα μελέτες έδειξαν ότι η μειωμένη ανοχή στην άσκηση αποτελεί ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα επανεισαγωγής στο νοσοκομείο και θνητότητας στους εν λόγω ασθενείς.^{110,111}

Σήμερα, σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες της Ευρωπαϊκής Καρδιολογικής Εταιρίας συστήνεται συστηματική αερόβια άσκηση σε άτομα με ΧΚΑ για την βελτίωση της λειτουργικής ικανότητας και των συμπτωμάτων (κλάση I, επίπεδο A).¹¹² Οι οδηγίες της Αμερικανικής Καρδιολογικής Εταιρίας συστήνουν επίσης τα προγράμματα συστηματικής άσκησης για την βελτίωση της ανοχής προς άσκηση και την ποιότητα ζωής των εν λόγω ασθενών (κλάση I, επίπεδο B).¹¹³

Όπως ήδη αναφέρθηκε, η μη ανοχή στην κόπωση, η οποία καθορίζεται ποσοτικά, ως επί το πλείστον, από την κατανάλωση οξυγόνου στη μέγιστη κόπωση (peak VO₂), αποτελεί κοινό χαρακτηριστικό τόσο στην ΧΚΑ τόσο με διατηρημένο κλάσμα εξώθησης (Heart Failure with preserved Ejection Fraction,

HFrEF) όσο και με μειωμένο κλάσμα εξώθησης (Heart Failure with Reduced Ejection Fraction, HFrEF).¹¹⁴ Διακρίνουμε, γενικά, 2 ειδών αίτια αυτής της χαμηλής λειτουργικής ικανότητας: 1) καρδιακά και 2) περιφερικά.

Όσον αφορά, τα καρδιακά, γνωρίζουμε από το νόμο του Fick ότι η VO_2 ισούται με το γινόμενο της καρδιακής παροχής (cardiac output, CO) επί της αρτηριοφλεβικής διαφοράς οξυγόνου ($a-vO_2$ diff). Έτσι, μειωμένη ικανότητα να αυξηθεί είτε η πρώτη είτε η δεύτερη κατά την άσκηση μπορεί να οδηγήσει σε μειωμένη ικανότητα προς άσκηση. Όσον αφορά τη μειωμένη ικανότητα προς αύξηση της πρώτης στην άσκηση, πιστεύεται ότι παρατηρείται τόσο στην HFrEF όσο και στην HFpEF και οφείλεται κυρίως σε μειωμένη ικανότητα αύξησης του όγκου παλμού αλλά και σε μειωμένη ικανότητα αύξησης της καρδιακής συχνότητας.¹¹⁵⁻¹⁹

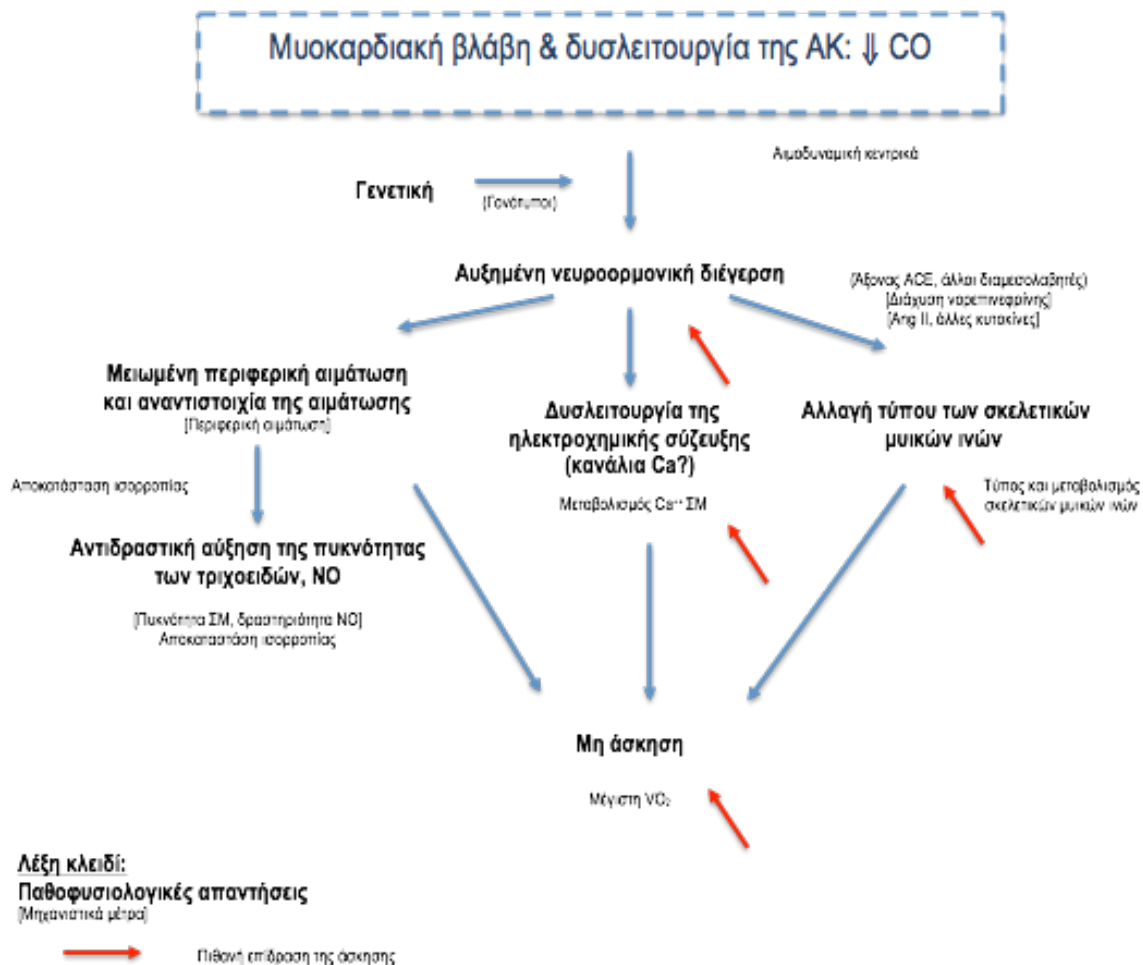
Πιο συγκεκριμένα, η συστηματική άσκηση στην HFrEF πιστεύεται ότι σχετίζεται με βελτιωμένη CO και όγκο παλμού στην άσκηση, χαμηλότερη καρδιακή συχνότητα σε υπομέγιστα επίπεδα άσκησης, μείωση στον όγκο της ΑΚ στην ηρεμία καθώς και αμετάβλητη πίεση πλήρωσης της ΑΚ ή της πνευμονικής πίεσης στην ηρεμία και την κόπωση.^{120,121} Όσο για την HFpEF, σύμφωνα με τα υπάρχοντα δεδομένα, ελάχιστη είναι η επίδραση της άσκησης σε καρδιακό επίπεδο.^{122,123} Αν και μελέτες με βραχείας διάρκειας άσκηση έδειξαν σημαντική βελτίωση στην λειτουργική ικανότητα των ατόμων αυτών, όπως αυτή καθορίζεται από την peak VO_2 , ο μηχανισμός δεν έχει διευκρινιστεί. Πιστεύεται, ωστόσο, ότι οφείλεται κυρίως σε βελτίωση στην απορρόφηση του οξυγόνου από τον σκελετικό μυ ($a-vO_2$ diff) παρά σε αυξημένη απόδοση σε καρδιακό επίπεδο.¹²²

Όσον αφορά τα περιφερικά αίτια της μειωμένης ικανότητας προς άσκηση των ατόμων με ΧΚΑ, αναφέρθηκε προηγουμένως, μεταξύ άλλων, η μειωμένη

αγγειοδιασταλτική ικανότητα σε επίπεδο περιφερικών μυών, λόγω επικράτησης αγγειοσυσπαστικών παραγόντων. Προκειμένου να ανακατανείμει την διαθέσιμη αιματική ροή και να διατηρήσει την αρτηριακή πίεση κατά την διάρκεια της άσκησης σε άτομα με ΚΑ, οι κινητικοί μύες παρουσιάζουν αυξημένη συμπαθητική αγγειοσύσπαση, μειωμένη ενδοθηλιακή αγγειοδιασταλτική λειτουργία και αυξημένες φλεβικές πιέσεις που επηρεάζουν την αντλητική ικανότητα των μυών να διευκολύνουν την αιματική ροή.

Δεδομένα από υπάρχουσες μελέτες δείχνουν ότι θα πρέπει να υπάρχει ένας περιφερικός αποκλεισμός σε ασθενείς με ΚΑ, ο οποίος περιορίζει την ικανότητα να μεταφράζει κεντρικές αιμοδυναμικές μεταβολές σε μεταβολές στην λειτουργική ικανότητα. Εξάλλου, ενδογενείς διαταραχές παρατηρούνται σε επίπεδο σκελετικών μυών σε ασθενείς με ΚΑ σε σχέση με αντίστοιχους υγιείς ενήλικες, με αποτέλεσμα να εμφανίζουν αναερόβιο μεταβολισμό στους σκελετικούς μύες των κάτω άκρων, τόσο σε ηρεμία όσο και κατά την άσκηση.¹²⁴⁻¹²⁵ Επιπρόσθετα, η χρήση ινοτρόπων και αγγειοδιασταλτικών ουσιών δε μεταφράζεται σε βελτίωση της ικανότητας προς άσκηση ή μείωση του πρώιμου αναερόβιου μεταβολισμού, παρά την αύξηση της αιματικής ροής των κάτω άκρων και της CO.¹²⁶⁻¹²⁷

Αντίστροφα, η συστηματική άσκηση βελτιώνει το κατώφλι του αερόβιου μεταβολισμού και την λειτουργική ικανότητα, χωρίς όμως να αυξάνει την CO τόσο στην HFrEF¹²⁰ όσο και στην HFpEF.¹²² Αυτή, ωστόσο, που είναι λιγότερο γνωστή είναι η χρονική ακολουθία των κεντρικών και περιφερικών μεταβολών στην ΧΚΑ, γεγονός ιδιαίτερα σημαντικό για την επιλογή νέων θεραπευτικών στρατηγικών. Στο **σχήμα 2**, βλέπουμε συνοπτικά το πώς μία επηρεασμένη λειτουργία της ΑΚ, απότοκος μυοκαρδιακής βλάβης με μειωμένη CO, μπορεί να



Σχήμα 2. Το σχήμα παρουσιάζει ένα μοντέλο επίδρασης της δυσλειτουργίας της ΑΚ, αποτέλεσμα μιας μυοκαρδιακής βλάβης με μειωμένη καρδιακή παροχή (CO), στην χαμηλή ανοχή στην κόπωση αλλά και αντιστροφής των μεταβολών αυτών μέσω της άσκησης. Οι παθοφυσιολογικές μεταβολές σε κάθε στάδιο εμφανίζονται με έντονα γράμματα, ενώ οι υπεύθυνοι μηχανισμοί με μικρά γράμματα μέσα σε παρενθέσεις. Τα πιθανά σημεία στα οποία η άσκηση πιθανόν αναστέλλει τον παραπάνω μηχανισμό που οδηγεί στην χαμηλή ανοχή στην κόπωση απεικονίζονται με γραμμές οι οποίες στην άκρη τους αντί για βέλος έχουν μία κάθετη γραμμή. Αντιγραφή από Kraus et al. (27) ACE: μεταπρεπτικό ένζυμο της αγγειοτενσίνης, Ang II: αγγειοτενσίνη II, NO: νιτρικό οξείδιο, ΣΜ: σκελετικοί μύες, VO₂: κατανάλωση O₂.

οδηγήσει σε μειωμένη λειτουργική ικανότητα και πώς η άσκηση μπορεί να την αναστρέψει. Στον **πίνακα 3**, εξάλλου, απεικονίζονται οι βασικοί παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί, κεντρικοί και περιφερικοί, που οδηγούν σε χαμηλή ανοχή στην κόπωση σε ασθενείς με ΧΚΑ, ενώ στον **πίνακα 4**, οι

αντίστοιχοι μηχανισμοί με τους οποίους η άσκηση μπορεί βελτιώσει την ικανότητά τους προς άσκηση.

Πίνακας 3. Παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί της ΧΚΑ που οδηγούν σε χαμηλή ικανότητα προς άσκηση

Κεντρικοί μηχανισμοί

- Δυσλειτουργία ΑΚ→↓όγκου παλμού→↓καρδιακής παροχής
- ↓χρονότροπης εφεδρείας
- Πνευμονική συμφόρηση απότοκος δυσλειτουργίας ΑΚ
- Λειτουργική ΑΜ
- ↑αερισμού/λεπτό απότοκος της ↑παραγωγής CO₂
- Δομικές ανωμαλίες των πνευμόνων
- ↓απόδοσης των αναπνευστικών μυών

Περιφερικοί μηχανισμοί

- ↓μάζας σκελετικών μυών
- Μεταβολή του τύπου των σκελετικών μυικών ινών (τύπος I→τύπος IIb)
- ↓οξειδωτικού μεταβολισμού των ΣΜ & ↓παραγωγής ATP
- Ενδοθηλιακή δυσλειτουργία
- Αποσυντονισμός του νευροορμονικού συστήματος
- Παραγωγή φλεγμονωδών κυτοκινών

Όπου ΑΚ: Αριστερή Κοιλία, ΑΜ: Ανεπάρκεια Μιτροειδούς, CO₂: διοξείδιο του άνθρακα, ΣΜ: Σκελετικοί Μύες, ATP: τριφωσφορική αδενοσίνη

Οι Esposito και συνεργάτες έδειξαν, εξάλλου, ότι η ΧΚΑ μειώνει την διαχυτική αγωγιμότητα του οξυγόνου στους μύες (muscle oxygen diffusion conductance, DO_{2m}).¹²⁸ Έτσι, εξηγείται γιατί η αυξημένη παροχή O₂ στους σκελετικούς μύες μέσω αγγειοδιασταλτικών ουσιών σε ασθενείς με ΧΚΑ δεν συνεπάγεται την αναμενόμενη αυξημένη κατανάλωση O₂ από τους μύες κατά την διάρκεια της αερόβιας άσκηση. Η μειωμένη DO_{2m} μπορεί, επίσης, να

βοηθήσει στην κατανόηση της μειωμένης μυϊκής λειτουργίας και της ικανότητας προς άσκηση τόσο στην HFrEF όσο και την HFpEF.¹²⁹

Πίνακας 4. Μηχανισμοί με τους οποίους η άσκηση βελτιώνει την ανοχή στην κόπωση στην ΧΚΑ

Κεντρικοί μηχανισμοί

- Βελτίωση της καρδιακής παροχής στο μέγιστο της άσκησης
- ↓LVEDD στην ηρεμία
- ↑VO₂peak κατά 30%
- ↑λειτουργικής ικανότητας σε ασθενείς με DCM και διαστολική δυσλειτουργία
- Η προπόνηση των αναπνευστικών μυών βελτιώνει τα συμπτώματα, VO₂peak & την καρδιακή απόδοση

Περιφερικοί μηχανισμοί

- ↑φορτίου των μιτοχονδρίων των ΣΜ & και του οξειδωτικού μεταβολισμού
- Αντιστροφή του τύπου των σκελετικών μυϊκών ινών (τύπος IIb→I)
- ↑περιφερικής αιματικής ροής με ↑της ενεργειακής απόδοσης
- Βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας
- ↓NADPH & παραγωγής ROS
- ↓διέγερσης του συμπαθητικού συστήματος

Όπου ΧΚΑ: Χρόνια Καρδιακή Ανεπάρκεια, LVEDD: τελοδιαστολική διάμετρος της αριστερής κοιλίας, VO₂peak: μέγιστη κατανάλωση οξυγόνου, DCM: διατακτική μυοκαρδιοπάθεια, ΣΜ: Σκελετικοί Μύες, NADPH: νικοτιναμινο-αδενινο-φωσφοδινουκλεοτίδιο. ROS: ελεύθερες ρίζες οξυγόνου.

Επιπρόσθετα, πιστεύεται σήμερα ότι η συστηματική άσκηση αποφέρει ποικίλα οφέλη σε ασθενείς με ΧΚΑ, όπως βελτίωση στην φυσική ικανότητα (μία αύξηση της τάξης 10-30% όσον αφορά τη μέγιστη τιμή της),^{130,131} στην ποιότητα ζωής (Quality of Life, QoL),¹³² της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας,¹³³ στα επίπεδα των κυκλοφορούντων κατεχολαμινών,¹³⁴ στην θνησιμότητα και τις νοσηλείες.¹³⁵

Οι περισσότερες μελέτες στην ΧΚΑ χρησιμοποιούν άσκηση μέτριας/υψηλής έντασης (70-80% της προβλεπόμενης καρδιακής συχνότητας, ΚΣ). Ακόμα και μικρότερης έντασης προγράμματα (40-50% peak VO₂) έχουν δείξει ότι βελτιώνουν την ικανότητα προς άσκηση.¹³²

Μια σχετικά πρόσφατη μεγάλη πολυκεντρική τυχαιοποιημένη μελέτη, “Heart Failure - A Controlled Trial Investigating Outcomes of exercise Training” (HF-ACTION) εξέτασε τις επιδράσεις των προγραμμάτων συστηματικής άσκησης σε 2331 σχετικά νέους (μέσος όρος ηλικίας 59 έτη), ιατρικά σταθερούς ασθενείς με μέτρια ως σοβαρή συμπτωματολογία (λειτουργική κλάση κατά New York Heart Association, NYHA, II 63% και III 35%) και κλάσμα εξώθησης (ejection fraction, EF) ≤35%.¹³⁶ Το πρόγραμμα περιελάμβανε 36 συνεδρίες άσκησης υπό επίβλεψη ακολουθούμενες από άσκηση στο σπίτι. Ο μέσος χρόνος παρακολούθησης ήταν 30 μήνες.

Παρατηρήθηκε μη σημαντική μείωση του μεικτού τελικού σημείου ολικής θνητότητας ή ενδονοσοκομειακής νοσηλείας (HR:0,93, $p=0,13$) μετά από μέτριας έντασης άσκηση. Εξάλλου, δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά στην θνητότητα ανάμεσα στους ασθενείς του προγράμματος σε σχέση με την ομάδα ελέγχου (16% vs. 17%). Ωστόσο, σημαντική ήταν η βελτίωση της peak VO₂ στους πρώτους (0,6 vs. 0,2 mL/kg/minute). Αξίζει να σημειωθεί ότι μόλις το 40% των ασθενών που συμμετείχαν στη μελέτη πραγματοποιούσαν την προβλεπόμενη διάρκεια άσκησης, 1,5 ώρα/εβδομάδα τους πρώτους 3 μήνες, γεγονός το οποίο εξηγεί, ίσως, τα περιορισμένα οφέλη του συγκεκριμένου προγράμματος, ενώ ταυτόχρονα εγείρει την ανάγκη για εύρεση εναλλακτικών, εξίσου αποτελεσματικών, μορφών άσκησης.

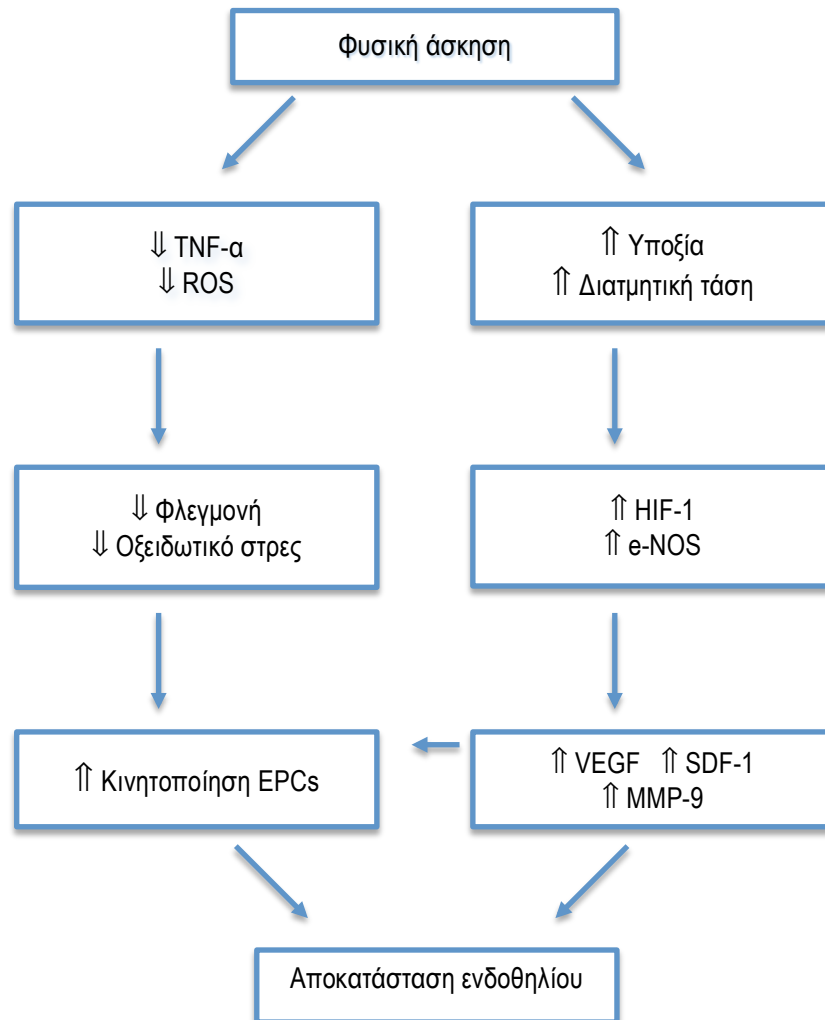
Οι Mammi και συνεργάτες, εξάλλου, μελέτησαν την επίδραση της συστηματικής άσκησης στον αποπτωτικό μηχανισμό των ενδοθηλιακών κυττάρων ασθενών με ΧΚΑ.¹³⁷ Παρατήρησαν, λοιπόν, ότι οι ασθενείς που ακολούθησαν ένα πρόγραμμα άσκησης υπό ειδική παρακολούθηση εντός νοσοκομείου εμφάνισαν μείωση στην ικανότητα των αποπτωτικών ουσιών (TNF-α, μεταλλοπρωτεϊνάση του συνδετικού ιστού-MMP-1, μεταλλοπρωτεϊνάση του ιστικού αναστολέα-TIMP-1) με αποτέλεσμα να μειωθεί ο ρυθμός κυτταρικού θανάτου σε επίπεδο ενδοθήλιου.

Μία άλλη ενδιαφέρουσα μελέτη των Gary και συνεργατών εστιάστηκε στα αποτελέσματα της άσκησης σε ηλικιωμένες γυναίκες με HFPEF.¹³⁸ Συνολικά συμμετείχαν 32 γυναίκες με NYHA II και III, LVEF>45% και συμπτώματα δύσπνοιας ή κόπωσης, οι οποίες τυχαιοποιήθηκαν είτε σε πρόγραμμα άσκησης ήπιας ως μέτριας έντασης (40 - 60% της μέγιστης προβλεπόμενης ΚΣ, αντίστοιχα) 12 εβδομάδων κι εκπαίδευση είτε απλά σε εκπαίδευση. Κατέληξαν ότι η εν λόγω άσκηση σε συνδυασμό με την ανάλογη εκπαίδευση αποτελεί αποτελεσματική στρατηγική για την βελτίωση της λειτουργικής ικανότητας και της ποιότητας ζωής των υπό μελέτη ασθενών.

Άσκηση και EPCs

Η φυσική δραστηριότητα προάγει δυνητικά την κινητοποίηση των EPCs από το μυελό των οστών και τη συγκέντρωσή τους στα σημεία της ισχαιμίας **(Σχήμα 3)**.^{139,140,141} Οι επιδράσεις των προγραμμάτων άσκησης στην ενδοθηλιακή λειτουργία και την δραστηριότητα των EPCs έχουν αποτελέσει αντικείμενο πολλών μελετών, σε μοντέλα τόσο ζώων όσο και ανθρώπων. Έχει δειχθεί ότι τόσο η οξεία όσο και η χρόνια άσκηση οδηγούν σε αύξηση των

κυκλοφορούντων στο αίμα EPCs, τονίζοντας έτσι τη μεγάλη σημασία της έντασης και της διάρκειάς της στην κινητοποίησή τους.¹⁴²⁻¹⁴⁵



Σχήμα 3. Επίδραση της φυσικής άσκησης στην ενδοθηλιακή λειτουργία και τα επίπεδα των EPCs. TNF-α: Tumor Necrosis Factor-α, παράγοντας νέκρωσης των όγκων, ROS: Radical Oxygen Species, ελεύθερες ρίζες οξυγόνου, HIF-1: Hypoxia-Induced Factor-1, επαγόμενος από υποξία παράγοντας 1, e-NOS: endothelial-Nitric Oxide Synthase, ενδοθηλιακή συνθετάση του νιτρικού οξειδίου, VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor, αυξητικός παράγοντας του αγγειακού ενδοθηλίου, SDF-1: Stromal cell-Derived growth Factor, αυξητικός παράγοντας 1 προερχόμενος από τα στρωματικά κύτταρα, MMP-9: μεταλλοπρωτεϊνάσες-9.

Πιο συγκεκριμένα, οι Laufs και συνεργάτες πρώτοι έδειξαν ότι η άσκηση οδηγεί σε αύξηση των EPCs σε ποντίκια μετά από 28 εβδομάδες άσκησης σε περιστρεφόμενες ρόδες.¹⁴² Η επίδραση αυτή παρατηρήθηκε πρόωρα, μόλις 7 ημέρες μετά την έναρξη του προγράμματος, και παρέμεινε σταθερό μέχρι τουλάχιστον 4 εβδομάδες, δείχνοντας ότι η φυσική δραστηριότητα μπορεί να αυξήσει μέχρι και 3 φορές τη συγκέντρωση των κυκλοφορούντων EPCs. Τα ευρήματα αυτά επιβεβαιώθηκαν στη συνέχεια από μία άλλη ομάδα ερευνητών, οι οποίοι μελέτησαν ενήλικες ανθρώπους μέσης και τρίτης ηλικίας και έδειξαν ότι, μετά από τρίμηνο πρόγραμμα βαδίσματος μέτριας έντασης, αυξήθηκαν τα επίπεδα των κυκλοφορούντων αγγειογενετικών κυττάρων (Circulating Angiogenic Cells, CAC).¹⁴³

Σήμερα πιστεύεται ότι οι μεταβολές που παρατηρούνται στην διατμητική τάση των αγγείων με την άσκηση, με την αύξηση της αιματικής ροής και της δραστηριότητας των e-NOS, λειτουργούν ως δυναμικό ερέθισμα για την απελευθέρωση των EPCs από το μυελό των οστών. Αξίζει να σημειωθεί ότι σε ποντίκια, στα οποία έλειπε το γονίδιο για τα e-NOS, παρουσίασαν μείωση των κυκλοφορούντων EPCs, αριθμητικά αλλά και όσον αφορά την λειτουργικότητά τους, σε περίπτωση ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας.¹⁴⁶⁻⁴⁹ Αναλόγως, μελέτες με προγράμματα άσκησης τόσο σε ποντίκια¹⁴² όσο και σε ανθρώπους¹⁵⁰ έδειξαν αύξηση της δραστηριότητας των e-NOS και των επιπέδων των EPCs.

Επιπρόσθετα, η άσκηση προκαλεί σημαντική μείωση σε μυελοκατασταλτικές και προφλεγμονώδεις κυτοκίνες, όπως η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP)¹⁵¹ και TNF- α ¹⁵² (Angoletti et al 1999), παίζοντας έτσι αντιφλεγμονώδη ρολό. Είναι γνωστό ότι σε παθολογικές καταστάσεις, όπως η ισχαιμία, παρατηρούνται υψηλά επίπεδα φλεγμονωδών κυτοκινών καθώς και

αύξηση της παραγωγής των ROS, με επακόλουθη αδρανοποίηση του NO,^{153,154} απόπτωση των EPCs¹⁵⁵ και ενδοθηλιακή δυσλειτουργία. Τα EPCs περιέχουν υψηλά επίπεδα ενζύμων που μεταβολίζουν τα ROS και τα οποία είναι σημαντικά για την επιβίωσή τους κατά την αναπαραγωγή του ιστού σε περίπτωση τραυματισμού.¹⁵⁶ Η φυσική δραστηριότητα μπορεί να εξουδετερώσει τόσο την έλλειψη διαθεσιμότητας NO όσο και το αγγειακό οξειδωτικό στρες αυξάνοντας την εξωκυττάρια υπεροξειδική δισμουτάση (SOD) με βελτίωση της επιδιόρθωσης των αγγείων και της αγγειογένεσης, και μειώνοντας τις προφλεγμονώδεις κυτοκίνες και την παραγωγή ROS με μακροβιότερη επιβίωση των EPCs.¹⁵⁷

Άσκηση και EPCs στην Χρόνια Καρδιακή Ανεπάρκεια

Σήμερα πιστεύεται ότι σε ασθενείς με ήπια ως μέτρια ΚΑ παρατηρείται σημαντική αύξηση των EPCs προκειμένου να αποκατασταθεί η αγγειακή βλάβη που οφείλεται στην επηρεασμένη καρδιακή λειτουργία.⁸⁴ Μελέτες σε ασθενείς με ΚΑ κι επηρεασμένη ενδογενή ενδοθηλιακή αναγεννητική ικανότητα, αξιολόγησαν την επίδραση προγραμμάτων άσκησης στα επίπεδα των κυκλοφορούντων EPCs.

Σημαντική αύξησή τους παρατηρήθηκε, λοιπόν, σε μελέτη των Sarto και συνεργατών μετά από υπό επίβλεψη πρόγραμμα άσκησης 8 εβδομάδων σε ασθενείς με ΧΚΑ.¹⁵⁸ Σε παρόμοια αποτελέσματα κατέληξε μια πρόσφατη μελέτη, η οποία συνέκρινε τα αποτελέσματα ενός προγράμματος άσκησης 6 εβδομάδων σε σύγκριση με ασθενείς με ΚΑ αλλά και υγιείς ενήλικες χωρίς άσκηση.¹⁵⁹ Οι συγγραφείς ανέφεραν μια αντιστροφή της δυσλειτουργίας των κυκλοφορούντων αγγειογενετικών κυττάρων αλλά και αύξηση των EPCs.

Ανάλογη αύξηση του αριθμού των EPCs παρατηρήθηκε μετά από βραχυχρόνιο πρόγραμμα άσκησης (3 εβδομάδων) σε 14 ασθενείς με ΣΚΑ.¹⁶⁰ Το

εν λόγω πρόγραμμα περιελάμβανε συνδυασμό γυμναστικής και αερόβιας άσκησης με ένταση έως 75-85% της προβλεπόμενης μέγιστης καρδιακής συχνότητας. Οι συγγραφείς υποστήριξαν ότι ακόμα κι ένα σχετικά σύντομο πρόγραμμα άσκησης βελτώνε την ικανότητα του ορού να εξασφαλίζει την επιβίωση των EPCs καθώς και την αύξηση των πρωτεϊνών που συμμετέχουν στην αναδιαμόρφωση της ΑΚ.

Οι Mezzani και συνεργάτες δημοσίευσαν επίσης τα αποτελέσματα της μελέτης τους σχετικά με την επίδραση της άσκησης στα επίπεδα των EPCs σε ασθενείς με ΣΚΑ.¹⁶¹ Πιο συγκεκριμένα, 30 ασθενείς με ΝΥΗΑ ΙΙ τυχαιοποιήθηκαν είτε σε πρόγραμμα άσκησης 3 εβδομάδων είτε σε ομάδα ελέγχου, ενώ ταυτόχρονα μελετήθηκαν κι 7 υγιείς ενήλικες ανάλογης ηλικίας. Η εν λόγω μελέτη ήρθε να προσθέσει σε σχέση με προηγούμενες, ότι ο αριθμός των EPCs, αν και δεν διέφεραν αρχικά μεταξύ των διαφόρων ομάδων, αυξήθηκαν σημαντικά στους ασθενείς με ΣΚΑ που ακολούθησαν το πρόγραμμα άσκησης, φτάνοντας μάλιστα τα επίπεδα των υγιών ενηλίκων, ενώ η διαφορά μεταξύ της ομάδας ελέγχου και των υγιών ενηλίκων δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική. Να σημειωθεί, επίσης, ότι τα επίπεδα των EPCs παρέμειναν σταθερά στην ομάδα ελέγχου.

Η πιο πρόσφατη, τέλος, μελέτη των Sandri M και συνεργατών εξέτασε εάν τα οφέλη της άσκησης διατηρούνται και στους πιο ηλικιωμένους ασθενείς με ΧΚΑ.¹⁶² Παρατήρησαν, λοιπόν, ότι τόσο οι νεαρής ηλικίας (55 έτη) όσο και οι πιο ηλικιωμένοι ασθενείς (>65 έτη) παρουσίασαν, μετά από πρόγραμμα άσκησης 4 εβδομάδων έως 60-70% του VO_2max , στατιστικά σημαντική αύξηση των επιπέδων των EPCs και της λειτουργίας τους. Η εν λόγω αύξηση συνοδεύτηκε από σημαντική βελτίωση της προκαλούμενης με την ροή διάτασης των αγγείων.

CD34+ κύτταρα και άσκηση στην Χρόνια Καρδιακή Ανεπάρκεια

Όσον αφορά την επίδραση γενικά της άσκησης στον αριθμό των CD34+ κυττάρων, ενδιαφέρον παρουσιάζει μία μελέτη των Ikeda N και συνεργατών, οι οποίοι εξέτασαν την κινητοποίηση των εν λόγω κυττάρων από το μυελό των οστών σε ασθενείς μετά από έμφραγμα μυοκάρδιου στους οποίους εφαρμόστηκε πρόγραμμα άσκησης.¹⁶³ Τυχαιοποίησαν, λοιπόν, ασθενείς μετά από έμφραγμα μυοκαρδίου, το οποίο αντιμετωπίστηκε με αγγειοπλαστική, σε 2 διαφορετικά προγράμματα άσκησης διαφορετικής έντασης και διάρκειας. Παρατήρησαν ότι η μέτρια καθημερινή άσκηση διάρκειας 4 εβδομάδων αύξησε την ικανότητα προς άσκηση αλλά και τα επίπεδα των κυκλοφορούντων CD34+/133+ κυττάρων 3 μήνες μετά από το έμφραγμα.

Εξάλλου, τα επίπεδα των EPCs [μετρημένα ως CD34+ κύτταρα που εκφράζουν τον AC133 και τον υποδοχέα 2 του VEGF (VEGFR2) και ως ενδοθηλιακές μονάδες σχηματισμού αποικιών (colony forming units, CFU)] μελετήθηκαν σε ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια (ΧΝΑ) σε αιμοδιάλυση μετά από πρόγραμμα άσκησης 6 εβδομάδων.¹⁶⁴ Στην εν λόγω μελέτη δεν υπήρξε σημαντική μεταβολή στα CD34+ ή στα CD34+/AC133+/VEGFR2 κύτταρα αλλά υπήρξε σημαντική μεταβολή στον αριθμό των e-CFUs.

Τέλος, 37 ασθενείς με ΣΚΑ (LVEF $24 \pm 2\%$) τυχαιοποιήθηκαν είτε σε πρόγραμμα άσκησης 12 εβδομάδων (n=18) είτε σε καθιστική ζωή (n=19). Στην πρώτη ομάδα παρατηρήθηκε αύξηση των CD34+ προγεννητικών κυττάρων από 1094 ± 677 σε 1450 ± 798 κύτταρα/ml αίματος ($p=0,032$ vs ομάδα ελέγχου). Ο αριθμός των CD34+/KDR+ EPCs βρέθηκε να αυξάνονται από 100 ± 127 σε 183 ± 156 κύτταρα ($p=0,014$ vs ομάδα ελέγχου) καθώς και η ικανότητά τους προς μετανάστευση να βελτιώνεται εξίσου σημαντικά ($p=0,03$).¹⁶⁵

VEGF και άσκηση στην Χρόνια Καρδιακή Ανεπάρκεια

Οι Gustafsson T και συνεργάτες μελέτησαν πρώτοι την επίδραση της άσκησης μετά από πρόγραμμα 8 εβδομάδων στα επίπεδα του mRNA που είναι υπεύθυνο για την σύνθεση VEGF (VEGF mRNA) σε ασθενείς με ΧΚΑ (NYHA II-III).¹⁶⁶ Παρατήρησαν ότι αυξήθηκε η ικανότητα προς άσκηση κατά 36%, ενώ ταυτόχρονα διπλασιάστηκαν τα επίπεδα τόσο του mRNA ($p=0,03$) όσο και της αντίστοιχης πρωτεΐνης ($p=0,02$). Η εν λόγω αύξηση του γονιδίου έκφρασης του VEGF με την άσκηση έδειξε ότι ο VEGF αποτελεί ενδεχομένως έναν διαμεσολαβητή της αγγειογένεσης που επάγεται από την άσκηση και άρα θα πρέπει να αποτελεί στόχο σε ασθενείς με ΧΚΑ.

Εξάλλου, οι Esposito F και συνεργάτες ήταν οι πρώτοι που μελέτησαν την επίδραση της οξείας άσκησης στο VEGF mRNA ασθενών με ΧΚΑ σε σχέση με υγιείς ενήλικες.¹⁶⁷ Κατέληξαν στα εξής πολύ ενδιαφέροντα συμπεράσματα: 1) τα επίπεδα του VEGF mRNA στους σκελετικούς μύες δεν διέφεραν σημαντικά ανάμεσα σε υγιή άτομα και άτομα με ΣΚΑ, 2) δεν υπήρχε σημαντική διαφορά στα τριχοειδή των σκελετικών μυών μεταξύ υγιούς πληθυσμού και ασθενών και 3) η οξεία άσκηση αύξησε παρομοίως τα επίπεδα του VEGF mRNA στους εν λόγω πληθυσμούς. Απέδειξαν, λοιπόν, ότι ακόμα και στα άτομα με ΣΚΑ παραμένει ανέπαφη η ιδιότητα της οξείας άσκησης να επάγει την ανάπτυξη τριχοειδών αγγείων και την συντήρηση των προϋπαρχόντων αγγείων στους σκελετικούς μύες.

Τέλος, οι Sarto P και συνεργάτες μελέτησαν, μεταξύ άλλων, την επίδραση υπό επίβλεψη προγράμματος άσκησης 8 εβδομάδων στα επίπεδα των VEGF ασθενών με ΧΚΑ (NYHA II-III).¹⁵⁸ Παρατήρησαν ότι τα εν λόγω επίπεδα

αυξήθηκαν με στατιστικά σημαντικό τρόπο ($p < 0,001$), γεγονός που είναι σε συμφωνία με προηγούμενες μελέτες¹⁶⁶. Ωστόσο, έδειξαν επίσης, ότι 8 εβδομάδες μετά το τέλος του προγράμματος άσκησης τα επίπεδα των VEGF επανήλθαν στα αρχικά προ άσκησης.

Σύμφωνα με τα υπάρχοντα, λοιπόν, δεδομένα οι ασθενείς με ΧΚΑ διατηρούν ακόμα την ιδιότητα να αυξάνουν τα επίπεδα των VEGF με την άσκηση αλλά η ευνοϊκή αυτή επίδραση διαρκεί όσο και η άσκηση.

FES και τρόποι χρήσης

Τα προγράμματα αποκατάστασης με χορήγηση χαμηλής συχνότητας λειτουργική ηλεκτρική δραστηριότητα (Functional Electrical Stimulation, FES) μπορούν να πραγματοποιηθούν είτε στο νοσοκομείο είτε στην οικία του ασθενούς, χρησιμοποιώντας πομπό με μπαταρία διπλού καναλιού. Η χρήση των συσκευών FES είναι πολύ απλή. Συνίσταται στην εφαρμογή αυτοκόλλητων ηλεκτροδίων επιφανείας στους μηρούς, περίπου 5 cm κάτω από τη μηροβουβωνική πτυχή και 3 cm πάνω από το άνω όριο της επιγονατίδας. Ηλεκτρόδια, επίσης, τοποθετούνται στους γαστροκνήμιους μύες, σε μια περιοχή 2 cm κάτω από το γόνατο και ακριβώς άνωθεν του Αχίλλειου τένοντα.

Ο ασθενής ξαπλώνει σε ύπτια θέση, έχοντας τους μηρούς σε ελαφρώς λυγισμένη θέση σχηματίζοντας γωνία 120° σε σχέση με τον κορμό (**εικόνα 1**). Υπό αυτή την γωνία, οι μύες είναι ικανοί να παράγουν τη μέγιστη δυνατή δύναμη. Η ηλεκτρική διέγερση επιτυγχάνεται μέσω των ηλεκτροδίων επιφάνειας. Ο πομπός χορηγεί διφασικό ρεύμα χαμηλής συχνότητας (10-50 Hz), με προοδευτικά αυξανόμενη ένταση 40-80 mA, μη φροντίζοντας ωστόσο να μην ξεπερνάμε τον ουδό του άλγους. Πιστεύεται ότι τα ερεθίσματα χαμηλής έντασης είναι περισσότερο αποτελεσματικά, καθώς επιδρούν στις κινητήριες μονάδες

βραδέος τύπου I, οι οποίες μειώνονται σε ασθενείς με ΧΚΑ. Μ'αυτόν τον τρόπο, λοιπόν, η χρόνια ηλεκτρική διέγερση χαμηλής συχνότητας οδηγεί σε αύξηση της οξειδωτικής ικανότητας με ταυτόχρονη μείωση της κόπωσης.



Εικόνα 1. Τρόπος εφαρμογής FES στους σκελετικούς μύες των κάτω άκρων

FES και Κεντρικό Νευρικό Σύστημα

Η ευνοϊκή επίδραση της FES στην λειτουργία των περιφερικών μυών έχει περιγραφεί σε ασθενείς μετά από αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο ή σε επιζώντες μετά από τραυματισμό στην σπονδυλική στήλη, στους οποίους παρατηρήθηκαν σημεία βελτίωσης της πλαστικότητας του κεντρικού νευρικού συστήματος (ΚΝΣ) καθώς και διαδικασίες αναγέννησης.^{168,169}

FES και Χρόνια Καρδιακή Ανεπάρκεια

Η FES έχει επικρατήσει, εδώ και δύο δεκαετίες ως εναλλακτικός τρόπος άσκησης σε ασθενείς με ΧΚΑ.^{170,171} Οι Quittan M και συνεργάτες μελέτησαν πρώτοι την δυνατότητα εφαρμογής αλλά και την αποτελεσματικότητά της στους εν λόγω ασθενείς.¹⁷¹ Πιο συγκεκριμένα, εφάρμοσαν ένα πρόγραμμα 8

εβδομάδων επαναλαμβανόμενων συνεδριών FES στους περιφερικούς μύες των ποδιών (κάτω από το γόνατο) ασθενών μέσης ηλικίας (56 ± 5 έτη) και LVEF $20,1 \pm 10\%$. Τα αποτελέσματα υπήρξαν ενθαρρυντικά αφού παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική ενίσχυση της δύναμης και αντοχής των εν λόγω μυών ενώ δεν αναφέρθηκε κάποιο ανεπιθύμητο συμβάν.

Οι Nuhr M και συνεργάτες, στην συνέχεια, πραγματοποίησαν μία τυχαίοποιημένη μελέτη επιχειρώντας να μελετήσουν τα αποτελέσματα της χρόνιας (10 εβδομάδες, 4 ώρες την ημέρα, 7 ημέρες την εβδομάδα) ηλεκτρικής διέγερσης με κύματα χαμηλής συχνότητας (15 Hz) στους μύες κάτω από το γόνατο σε υγιείς ενήλικες.¹⁷² Μία ομάδα ελέγχου (n=10) έκανε το ίδιο πρόγραμμα με την υπό μελέτη ομάδα (n=10) με την διαφορά ότι η διέγερση ήταν χαμηλής έντασης ώστε να μην προκαλεί μυικές συσπάσεις. Ιστοτεμάχια βιοψίας λήφθηκαν πριν και μετά το πέρας του προγράμματος και στις δύο ομάδες. Στην πρώτη δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές. Στην δεύτερη, ωστόσο, σημειώθηκαν σημαντικές διαφορές στην ισομορφή των αλυσίδων β-μυοσίνης στην ταχεία προς βραδεία κατεύθυνση, με σχετική μείωση 20% των IId/x (από 28% σε 22%) και αύξηση κατά 10% στη σχετική συγκέντρωση των I (από 30% σε 34%). Σημειώθηκε, επίσης, μια αύξηση της δραστηριότητας της κιτρικής συνθετάσης κατά 9% και μία επακόλουθη μείωση της δραστηριότητας της δευδρογονάσης της γλυκεραλδεϋδικής φωσφατάσης (GAPDH). **(πίνακας 5)**. Αυτή η αύξηση της αερόβιας-οξειδωτικής ικανότητας συνοδεύτηκε από βελτίωση της ικανότητας προς άσκηση και της κατανάλωσης O_2 στον αναερόβιο ουδό κατά 26 και 20% αντίστοιχα.

Πίνακας 5. Επίδραση της FES στις μυικές ίνες

- | |
|--|
| 1) Προοδευτικές μορφολογικές/μεταβολικές/βιοχημικές αλλαγές στις ταχείες-γλυκολυτικές ίνες |
| 2) Αλλαγή των ισομορφών των βαρέων αλύσεων της μυοσίνης (MHC), με αύξηση των βραδέων-οξειδωτικών MHC-I και μείωση των ταχέων-γλυκολυτικών MHC-II |
| 3) Αύξηση της οξειδωτικής ικανότητας |
| 4) Μείωση της γλυκολυτικής δραστηριότητας |

Η πρώτη τυχαιοποιημένη μελέτη που συνέκρινε τα αποτελέσματα της FES με τα αντίστοιχα της συμβατικής αερόβιας άσκησης σε χρόνια βάση (π.χ. άσκηση σε διάδρομο ή ποδήλατο) σε ασθενείς με ΧΚΑ πραγματοποιήθηκε από τους Harris S.¹⁷³ Πιο συγκεκριμένα, 46 ασθενείς με ΧΚΑ με σταθερή συμπτωματολογία και NYHA Class II/III τυχαιοποιήθηκαν σε πρόγραμμα άσκησης 6 εβδομάδων είτε με ποδήλατο είτε με ηλεκτρική διέγερση των τετρακέφαλων και των γαστροκνημίων. Και στις δύο ομάδες σημειώθηκε παρόμοια βελτίωση στο 6-min walking test, την διάρκεια βαδίσματος στον διάδρομο καθώς και στον δείκτη κόπωσης των τετρακέφαλων. Η μέγιστη κατανάλωση δεν παρουσίασε μεταβολή σε καμία ομάδα, πιθανόν λόγω της χαμηλής έντασης του ακολουθούμενου προγράμματος.

Μια εξίσου σημαντική μετέπειτα μελέτη συνέκρινε την FES με την συστηματική συμβατική αερόβια άσκηση σε ασθενείς με ΧΚΑ.¹⁷⁴ 24 ασθενείς με σταθερή ΧΚΑ (NYHA II-III) τυχαιοποιήθηκαν σε πρόγραμμα άσκησης 5 εβδομάδων είτε με FES (n=12, 5 ώρες την εβδομάδα) είτε με συμβατικά μέσα (n=12). Η μέγιστη κατανάλωση O₂ καθώς και το μέγιστο έργο κατά την άσκηση αυξήθηκαν σε στατιστικά σημαντικό βαθμό και στις δύο ομάδες (p<0,01).

Παράλληλα, και στις δύο ομάδες σημειώθηκε σημαντική αύξηση της μέγιστης δύναμης έκτασης του γόνατος ($p < 0,05$), της διανυθείσας απόστασης στο 6-min walking test ($p < 0,01$), ενώ μειώθηκε ο χρόνος που απαιτούνταν για την κάλυψη απόστασης 200μ ($p < 0,01$). Η διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων δεν ήταν στατιστική σημαντική. Κατέληξαν, λοιπόν, ότι ένα πρόγραμμα FES 5 εβδομάδων αποδίδει παρόμοια οφέλη με την συμβατική αερόβια άσκηση στους ασθενείς με ΧΚΑ τόσο σε επίπεδο ικανότητας προς άσκηση όσο και μυική ενδυνάμωση.

Εξάλλου, οι Nuhr και συνεργάτες επιχείρησαν να μελετήσουν εάν η FES μπορεί να αντιστρέψει τις σημαντικές αλλαγές που παρατηρούνται σε επίπεδο μυών και άρα την ικανότητα προς άσκηση σε ασθενείς με προχωρημένη ΧΚΑ (ΝΥΗΑ II-IV).¹⁷⁵ Οι ασθενείς που πραγματοποίησαν την FES εμφάνισαν σημαντική βελτίωση στο 6-min walking test, αύξηση στα επίπεδα της κιτρικής συνθετάσης και της GAPDH, ενώ οι ισομορφές των βαρέων αλυσίδων μυοσίνης μετατοπίστηκαν προς την βραδεία κατεύθυνση. Συμπέραναν, λοιπόν, ότι η FES μπορεί να αντιστρέψει τις αρνητικές δομικές μεταβολές που παρατηρούνται στους ασθενείς με σοβαρή ΣΚΑ και άρα να βελτιώσει την ικανότητά τους προς άσκηση.

Επίσης, οι Karavidas και συνεργάτες κατέληξαν στα ίδια συμπεράσματα όσον αφορά την βελτίωση της λειτουργικής ικανότητας που επιφέρει στους παραπάνω ασθενείς η συστηματική εφαρμογή της FES.¹⁷⁶ Χρησιμοποιώντας, ωστόσο, ερωτηματολόγια ποιότητας ζωής (Kansas City Cardiomyopathy Questionnaire-KCCQ, Zung self-rating depression scale-SDS, Beck Depression Inventory-BDI) έδειξαν για πρώτη φορά ότι μειώνει το συναισθηματικό άγχος και βελτιώνει την ποιότητα ζωής τους.

Μια άλλη αξιοσημείωτη προοπτική τυχαιοποιημένη μελέτη συνέκρινε την FES με την συμβατική αερόβια άσκηση όσον αφορά την ενδοθηλιακή λειτουργία και την λειτουργική ικανότητα ασθενών με NYHA II-III.¹⁷⁷ Μετά από πρόγραμμα άσκησης 6 εβδομάδων, οι ασθενείς που πραγματοποίησαν FES εμφάνισαν στατιστικά σημαντική βελτίωση του δείκτη διάτασης μέσω ροής της βραχιόνιου αρτηρίας (flow-mediated dilation, FMD), η οποία, ωστόσο, ήταν σαφώς μικρότερη σε σχέση με την ομάδα των ασθενών που πραγματοποίησαν αερόβια άσκηση ($p=0,034$). Το συμπέρασμα των συγγραφέων, λοιπόν, ήταν ότι η επίδραση της FES στην ενδοθηλιακή λειτουργία σε επίπεδο μυών, αν και κατώτερο της συμβατικής άσκησης, ήταν σημαντική.

Ενδιαφέρον, εξάλλου, παρουσιάζει μια πιο πρόσφατη μελέτη των Karavidas A και συνεργατών, οι οποίοι μελέτησαν την επίδραση της FES στις προαναφερθείσες κλινικές και συναισθηματικές παραμέτρους αλλά σε ασθενείς με HFpEF.¹⁷⁸ Παρατήρησαν, λοιπόν, ότι, όπως και στην HFpEF, έτσι και στην HFpEF, η FES αυξάνει την ικανότητα προς άσκηση, την ποιότητα ζωής, μειώνει το συναισθηματικό άγχος, ενώ βελτιώνει την ενδοθηλιακή λειτουργία.

Αξίζει, επίσης, να αναφερθεί μια πρόσφατη μεταανάλυση των μέχρι σήμερα μελετών σχετικά με την FES, η οποία περιέλαβε 10 μελέτες με συνολικά 301 ασθενείς. 158 ολοκλήρωσαν ένα πρόγραμμα με FES, 85 ένα πρόγραμμα αερόβιας άσκησης, ενώ 58 δεν έκαναν ούτε το πρώτο ούτε το δεύτερο.¹⁷⁹ Καταρχήν, σε καμία μελέτη δεν αναφέρθηκαν ανεπιθύμητες ενέργειες στους ασθενείς με FES. Η τελευταία αύξησε την VO₂ peak αλλά σε μικρότερο βαθμό από την αερόβια άσκηση ($p=0,04$). Ωστόσο, η αύξηση σε σχέση με τους ασθενείς που είτε δεν έκαναν καθόλου άσκηση είτε έκαναν sham FES (με ερεθίσματα μικρότερης έντασης έτσι ώστε να μην προκαλείται μυική σύσπαση)

ήταν στατιστικά σημαντική ($p < 0,0001$). Καμία διαφορά δεν παρατηρήθηκε μεταξύ FES και αερόβιας άσκησης όσον αφορά το 6-min walking test. Και οι 2 ομάδες παρουσίασαν στατιστικά σημαντική αύξηση στο παραπάνω test σε σχέση με τους ασθενείς που δεν έκαναν ούτε άσκηση ούτε sham FES ($p = 0,0002$). Αξίζει, εξάλλου, να σημειωθεί ότι η αύξηση της VO_2 peak στην ομάδα της FES ήταν ανάλογη των συνολικών ορών συνεδριών ($p = 0,02$).

Προκύπτει, λοιπόν, με βάση τις υπάρχουσες μελέτες ότι η FES επιδρά ουσιαστικά στην βελτίωση της ικανότητας προς άσκηση αλλά και της ποιότητας ζωής ασθενών με προχωρημένη ΧΚΑ (NYHA II-III). Αναφέρθηκε, εξάλλου εκτενώς παραπάνω ότι η συστηματική αερόβια άσκηση αλλά και η FES δρουν ευεργετικά στη συστηματική φλεγμονή, την δυσλειτουργία του ενδοθηλίου και το μεταβολισμό των μυών. Επίσης η κλασική μορφή άσκησης αυξάνει τους παράγοντες αγγειογένεσης και άρα, μέσω της αύξησης της πυκνότητας των τριχοειδών, την ιστική αιμάτωση τόσο των περιφερικών μυών όσο και της καρδιάς. Δεν έχει, παρόλ' αυτά, μελετηθεί, μέχρι σήμερα, η επίδραση της FES στη νεοαγγειογένεση σε ασθενείς που πάσχουν από μέτρια προς σοβαρή καρδιακή ανεπάρκεια με χαμηλό κλάσμα εξώθησης.

Δοκιμασία βάρδισης σε 6 λεπτά (6-MWT)

Η μέθοδος η οποία επιλέχθηκε για τον έλεγχο της ανοχής της κόπωσης ήταν η δοκιμασία βάρδισης σε 6 λεπτά, ή αλλιώς το 6-minute walking test (6-MWT), κατά την οποία ο ασθενής καλείται να περπατήσει όσο πιο γρήγορα μπορεί για 6 λεπτά και στο τέλος υπολογίζεται η απόσταση την οποία διήνυσε. Η ασφάλεια όσο και η επαναληψιμότητά της σε ασθενείς με ΧΚΑ έχει επαρκώς μελετηθεί.¹⁸⁰

Πρόκειται για μία ευρέως γνωστή δοκιμασία, η οποία έχει αποδείξει την αξία της στην εκτίμηση της ανοχής σε κόπωση των ασθενών με καρδιακή ανεπάρκεια.¹⁸¹⁻¹⁸² Πιο συγκεκριμένα, οι Ingle L και συνεργάτες έδειξαν ότι η απόσταση (distance) η οποία διανύεται κατά το 6-MWT, ή αλλιώς η 6-MWD, συσχετίζεται άμεσα με την VO₂max, η οποία, ως επί το πλείστον, χρησιμοποιείται για την εκτίμηση της ανοχής στην κόπωση. Εξάλλου, οι Haass M και συνεργάτες απέδειξαν ότι το 6-MWT αποτελεί μια εναλλακτική της εργοσπιρομετρίας, οικονομικά αποδοτική μέθοδο εκτίμησης της ανοχής στην κόπωση σε ασθενείς με χρόνια συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια.¹⁸²

Εξάλλου, οι Ingle L και συνεργάτες, σε μια άλλη πρόσφατη μελέτη τους απέδειξαν την προγνωστική αξία της 6-MWD σε ασθενείς με ΧΚΑ.¹⁸³ Υπέβαλλαν σε 6-MWT 2 φορές με μεσοδιάστημα 1 έτους 600 ασθενείς με ΧΚΑ και μέσο LVEF 34% και στη συνέχεια τους παρακολούθησαν επί 8 έτη. Παρατήρησαν, λοιπόν, ότι η 6-MWD ήταν ένας από τους 4 ανεξάρτητους προγνωστικούς παράγοντες της ολικής θνητότητας στους εν λόγω ασθενείς. Πρόκειται, ουσιαστικά, για επιβεβαίωση των ευρημάτων προηγούμενων αντίστοιχων μελετών.^{184,185}

Υπερηχογραφικός έλεγχος

Όπως γνωρίζουμε, το κλάσμα εξώθησης της αριστερής κοιλίας (Left Ventricular Ejection Fraction, LVEF) αποτελεί τον πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο υπερηχογραφικό δείκτη για την εκτίμηση της συστολικής ικανότητας της αριστερής κοιλίας. Παρά την αδιαμφισβήτητη αξία του ως δείκτη εκτίμησης της λειτουργικής ικανότητας της ΑΚ, δεν έχει αποδείξει την προγνωστική του αξία στην ικανότητα προς άσκηση των ασθενών με ΧΚΑ.^{186,187} Αντίθετα, ο λόγος E/E', ο οποίος χρησιμοποιείται για την εκτίμηση της διαστολικής λειτουργίας και

της πίεσης πλήρωσης της ΑΚ, αποτελεί έναν πολύ καλό προγνωστικό δείκτη ικανότητας προς άσκηση σε ασθενείς με ΧΚΑ.^{188,189} Τόσο σε ηρεμία όσο και μετά από υποβολή του ασθενούς σε κόπωση, ο λόγος αυτός αποτελεί αξιόπιστο προγνωστικό δείκτη έκβασης της πορείας του όσο και της ικανότητας του προς άσκηση.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Σκοπός της διατριβής

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η διερεύνηση της επίδρασης της συστηματικής εφαρμογής FES για 6 μήνες στους σκελετικούς μύες των κάτω άκρων στη νεοαγγειογένεση. Προκειμένου να επιτύχουμε αυτόν τον σκοπό μετρήσαμε πριν και μετά τους 6 μήνες εφαρμογής της FES τους εξής, ευρέως πλέον χρησιμοποιούμενους, δείκτες νεοαγγειογένεσης:

- 1) VEGF
- 2) CD 34+ πρόδρομα κύτταρα
- 3) EPCs

Οι δείκτες αυτοί συσχετίστηκαν με κλινικές, όπως το 6-min walking test (6MWD), υπερηχογραφικές (LVEF, E/E' ratio) αλλά και βιολογικές παραμέτρους (εγκεφαλικό νατριουρητικό πεπτίδιο, brain natriuretic peptide, BNP) οι οποίες μετρήθηκαν πριν και μετά την υπό μελέτη περίοδο των 6 μηνών.

Μέθοδος

Πληθυσμός

Υποψήφιοι για ένταξη στη μελέτη ήταν ασθενείς με ΧΚΑ, ισχαιμικής αιτιολογίας ή διατακτική μυοκαρδιοπάθεια, με σταθερή συμπτωματολογία ΝΥΗΑ II-III και κλάσμα εξώθησης <40%. Εξ αυτών, 22 ήταν άνδρες και 5 γυναίκες, ενώ η μέση ηλικία ήταν 69,4 έτη (διακύμανση από 55-82 έτη). 15 ασθενείς τυχαιοποιήθηκαν σε ένα πρόγραμμα FES 6 μηνών, ενώ 12 υποβλήθηκαν σε πλασματική (sham) διέγερση.

Αξίζει να σημειωθεί ότι όλοι οι ασθενείς που συμμετείχαν στο συγκεκριμένο πρωτόκολλο παρακολουθούνταν με τακτικές επισκέψεις στο ιατρείο Καρδιακής Ανεπάρκειας του Γ.Ν.Α. «Γεώργιος Γεννηματάς». Η επιλογή τους πραγματοποιήθηκε γνωρίζοντας τον υψηλό δείκτη συμμόρφωσής τους στις εκάστοτε υποδείξεις των θεραπόντων ιατρών αλλά και την τακτική τους προσέλευση στις προγραμματισμένες επισκέψεις.

Κριτήρια αποκλεισμού

Αποκλείστηκαν άτομα τα οποία έφεραν τις παρακάτω καταστάσεις:

- 1) πρόσφατο οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου (<6 εβδομάδες)
- 2) πρόσφατη νοσηλεία για καρδιακή ανεπάρκεια (<4 εβδομάδες)
- 3) υψηλού κινδύνου ασταθής στηθάγχη
- 4) οξεία μυοκαρδίτιδα ή περικαρδίτιδα
- 5) οξεία συστηματική νόσος (πνευμονική εμβολή, αορτικός διαχωρισμός)
- 6) κακοήθη νοσήματα τελικού σταδίου

Πρωτόκολλο μελέτης

Οι ασθενείς οι οποίοι πληρούσαν τα κριτήρια της μελέτης, τυχαιοποιούνταν είτε στην ομάδα του FES είτε στην ομάδα του sham FES (placebo). Πριν την έναρξη του προγράμματος και την χορήγηση του μηχανήματος, όλοι οι ασθενείς υποβάλλονταν σε εκτενή κλινικό, βιοχημικό και υπερηχογραφικό έλεγχο.

Αρχικά, ελεγχόταν ότι ο ασθενής βρίσκεται όντως σε λειτουργικό στάδιο NYHA II-III και ότι η κατάστασή του ήταν σταθερή τους τελευταίους μήνες. Αυτό γινόταν τόσο με την λήψη του ιστορικού όσο και με την κλινική εξέταση. Παράλληλα, πραγματοποιούνταν αιματολογικοί έλεγχοι, μετρώντας κυρίως το BNP. Αξίζει, εδώ, να σημειωθεί ότι το σύνολο των ασθενών που έλαβαν μέρος στο πρωτόκολλο, ήταν ασθενείς οι οποίοι παρακολουθούνταν στο ιατρείο Καρδιακής Ανεπάρκειας του Γ.Ν.Α. «Γεώργιος Γεννηματάς» και ήταν γνωστή τόσο η πορεία της νόσου τους όσο και ο βαθμός συμμόρφωσής τους στις εκάστοτε θεραπευτικές υποδείξεις των ιατρών.

Ακολουθούσε η αναλυτική ενημέρωση του ασθενή σχετικά με τη μελέτη στην οποία καλούνταν να λάβει μέρος. Κάθε υποψήφιος ασθενής λάμβανε ένα ενημερωτικό φυλλάδιο σχετικά με τα δεδομένα της επωφελούς επίδρασης της άσκησης στην ΧΚΑ αλλά και τις μέχρι τότε γνώσεις μας σχετικά με την FES στην ΧΚΑ. Εξηγούνταν, επίσης, η υποχρέωση του ασθενούς να εκτελεί πιστά το παραπάνω πρωτόκολλο για 6 μήνες και ότι θα έπρεπε να υποβληθεί πριν και μετά σε μια σειρά εξετάσεων. Μετά την ενημέρωσή του, λάμβανε επίσης το έντυπο συγκατάθεσης κι εφόσον συμφωνούσε να συμμετάσχει, προγραμματιζόταν η ημερομηνία έναρξής του στη μελέτη.

Η συνεδρία κατά την οποία ο ασθενής εντασσόταν στο πρόγραμμα, κατέθετε υπογεγραμμένο το έντυπο συγκατάθεσης και υποβαλλόταν σε μια σειρά εξετάσεων πριν του υποδειχθεί ο ακριβής τρόπος χρήσης του μηχανήματος. Πιο συγκεκριμένα, γινόταν ένας πλήρης κλινικός έλεγχος με αναλυτική καταγραφή των ευρημάτων. Ακολουθούσε, αιμοληψία κατά την οποία λαμβανόταν δείγμα αίματος. Μέρος αυτού φυγοκεντρούταν άμεσα και στη συνέχεια τοποθετούταν σε βαθειά κατάψυξη (-80 °C), ενώ το υπόλοιπο μεταφερόταν άμεσα στο Κυτταρολογικό Ιατρείο του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Αττικών προκειμένου να πραγματοποιηθεί εντός 48ώρου η εξέταση με κυτταρομετρία ροής για τη μέτρηση των CD34+ κυττάρων καθώς και των EPCs. Μέρος του φυγοκεντρημένου αίματος χρησιμοποιούνταν για τη μέτρηση των VEGF με τη μέθοδο ELISA.

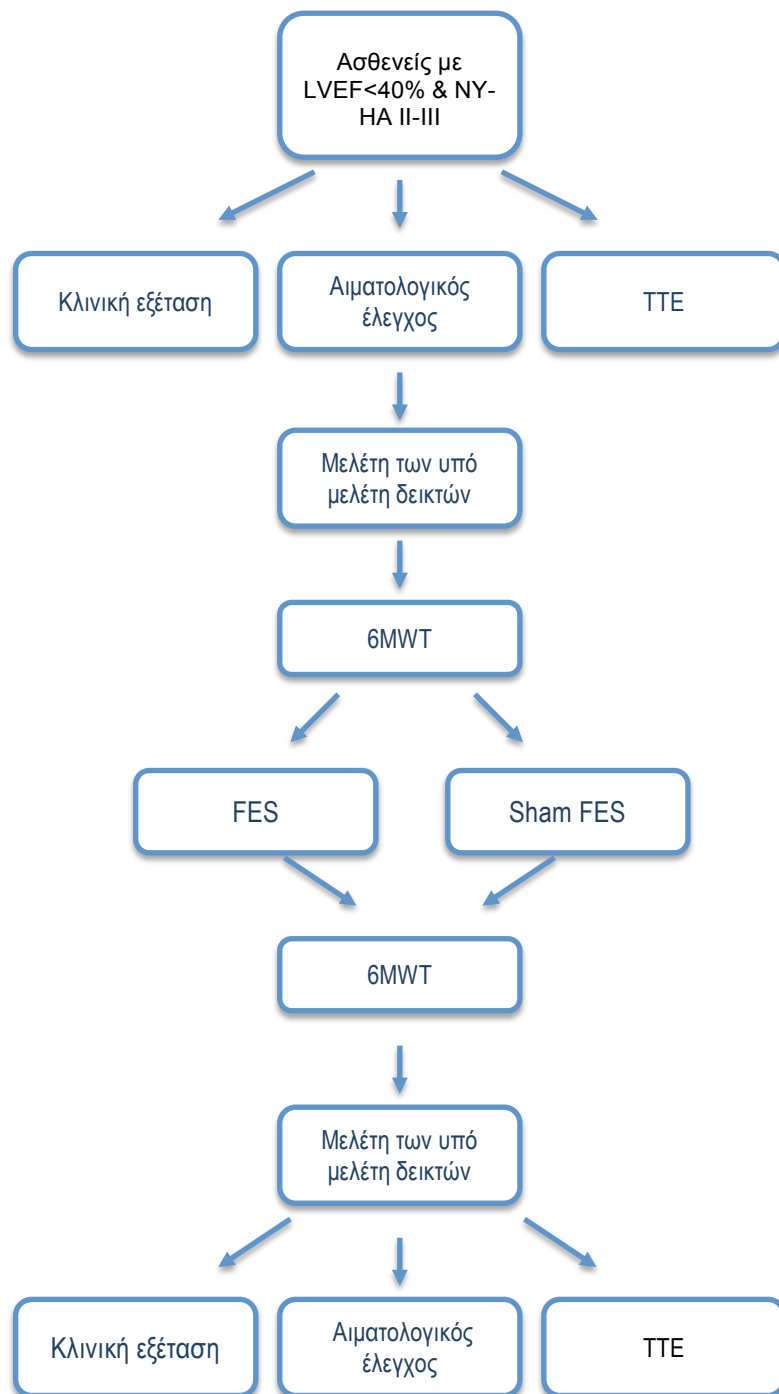
Ακολουθούσε πλήρης υπερηχογραφικός έλεγχος, ο οποίος περιελάμβανε, μεταξύ άλλων, τη μέτρηση του LVEF αλλά και αιμοδυναμικών μετρήσεων, όπως του λόγου E/E'. Στη συνέχεια, ο ασθενής υποβαλλόταν σε 6-min walking test, προκειμένου να εκτιμηθεί η ικανότητά του προς άσκηση πριν τη μελέτη.

Στη συνέχεια και για διάστημα 6 μηνών, όπως αναφέρθηκε παραπάνω, ο ασθενής ακολουθούσε το προβλεπόμενο πρόγραμμα είτε FES είτε sham FES. Ταυτόχρονα, παρακολουθούνταν στο ιατρείο Καρδιακής Ανεπάρκειας του Γ.Ν.Α. «Γεώργιος Γεννηματάς» με τακτικές επισκέψεις αλλά και τηλεφωνική επικοινωνία προκειμένου να εξασφαλιστεί η σωστή εφαρμογή του προγράμματος και να ελέγχεται η συνέπεια του ασθενούς.

Με την πάροδο των 6 μηνών, ακολουθούσε η προγραμματισμένη επίσκεψη του ασθενούς στο ιατρείο Καρδιακής Ανεπάρκειας Γ.Ν.Α. «Γεώργιος Γεννηματάς» όπου πραγματοποιούνταν εκ νέου πλήρης κλινικός έλεγχος με

αναλυτική καταγραφή των ευρημάτων. Ο ασθενής ενημέρωνε τον ιατρό όσον αφορά τη συμμόρφωσή του στο πρόγραμμα αλλά και τις τυχόν δυσκολίες που συνάντησε για την εφαρμογή του. Στη συνέχεια, λαμβανόταν ικανή ποσότητα δείγματος αίματος προκειμένου να μετρηθούν εκ νέου τόσο το BNP όσο και στη συνέχεια με κυτταρομετρία ροής τα CD34+ κύτταρα και τα EPCs^{190,191} αλλά και τα VEGF με τη μέθοδο ELISA.¹⁹²

Ακολουθούσε υπερηχογραφικός έλεγχος, εστιάζοντας στις ίδιες με τον αρχικό έλεγχο μετρήσεις, όπως LVEF και λόγο E/E'. Τέλος, ο ασθενής υποβαλλόταν σε έλεγχο της λειτουργικής του ικανότητας με 6-min walking test.



Σχήμα 4. Σχηματική αναπαράσταση του πρωτοκόλλου μελέτης
 TTE: Διαθωρακικό υπερηχοκαρδιογράφημα, 6-min walking test: Δοκιμασία
 βάρδισης 6 λεπτών, FES (Functional Electrical Stimulation): Νευρομυική ηλεκτρική
 διέγερση, Sham FES: Πλασματική νευρομυική ηλεκτρική διέγερση.

Πρόγραμμα FES

Το πρόγραμμα της FES αποτελούταν από 5 συνεδρίες την εβδομάδα με διάρκεια 30 λεπτά έκαστη, για συνολικά 6 μήνες. Οι ασθενείς τυχαιοποιούνταν είτε σε ένα πρόγραμμα FES είτε σε ένα πρόγραμμα placebo με πλασματική (sham) διέγερση. Στην πρώτη ομάδα (ομάδα FES) εφαρμόζονταν ισχυρές συσπάσεις, ενώ στην άλλη ομάδα διοχετεύονταν ερεθίσματα έως τον ουδό της αίσθησης, χωρίς πρόκληση μυϊκής σύσπασης. Η πρώτη συνεδρία πραγματοποιούνταν στο νοσοκομείο και υπό την επίβλεψη γιατρού και νοσηλεύτη, ενώ στη συνέχεια, ο ασθενής λάμβανε τη συσκευή και εκτελούσε το παραπάνω πρωτόκολλο στην οικία του για διάρκεια 6 μηνών.

Οκτώ αυτοκόλλητα ηλεκτρόδια (μεγέθους 5 x 9 εκατοστά) τοποθετούνταν στην έκφυση και την κατάφυση των τετρακεφάλων και των γαστροκνημίων μυών και των δύο ποδιών των ασθενών. Στους τετρακέφαλους μύες, τα άνω ηλεκτρόδια τοποθετούνταν 4 εκατοστά κάτω από την βουβωνική πτυχή, ενώ τα κάτω λίγο πιο πάνω από την επιγονατίδα. Στους γαστροκνήμιους μύες, τα άνω ηλεκτρόδια τοποθετούνταν 2 εκατοστά κάτω από τον ιγνυακό βόθρο, ενώ τα κάτω ακριβώς πιο πάνω από τον Αχίλλειο τένοντα των 2 κνημιαίων μυών.

Στην ομάδα FES, μετά την τοποθέτηση των ηλεκτροδίων διοχετεύονταν με το ειδικό μηχάνημα της ηλεκτροδιέγερσης, ερεθίσματα συχνότητας 25Hz για 5 δευτερόλεπτα, ακολουθούμενα από 5 δευτερόλεπτα ανάπαυσης, και έντασης προοδευτικά αυξανόμενης (40-80mA). Η ένταση του ερεθίσματος προσαρμοζόταν έτσι ώστε να επιτυγχάνεται η μέγιστη ορατή ανώδυνη σύσπαση, χωρίς να προκαλείται

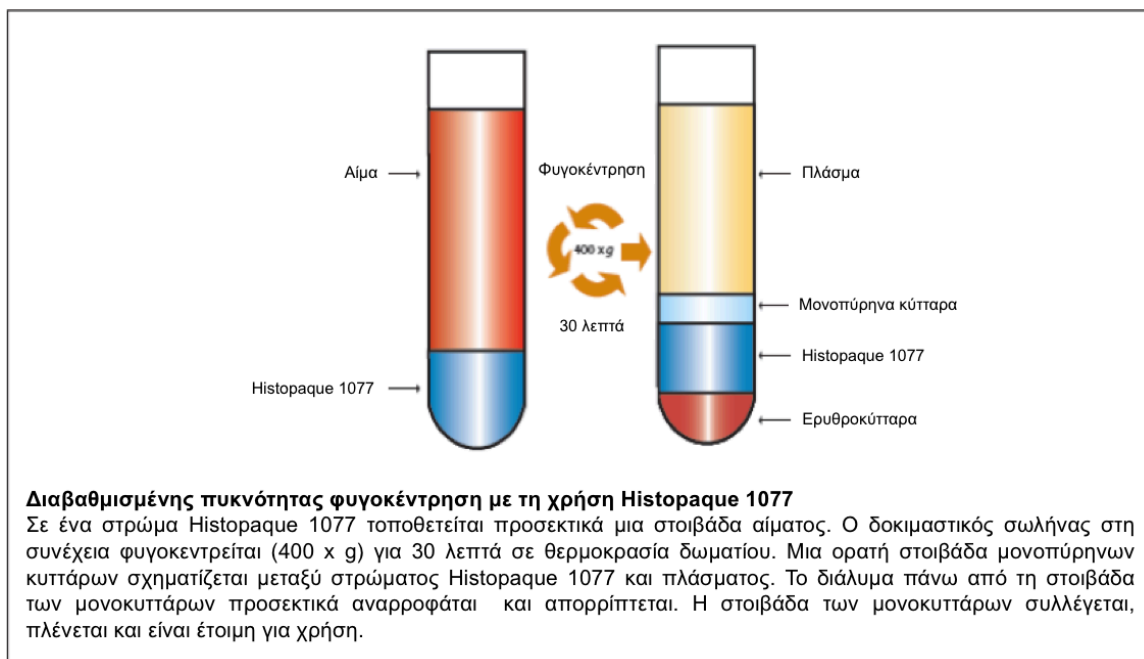
σημαντική κίνηση στο γόνατο ή στον αστράγαλο, όπως έχει περιγραφεί αναλυτικά σε προηγούμενες μελέτες.^{193,194} Όταν οι μύες του δεξιού ποδιού συσπώνταν οι αντίστοιχοι μύες του αριστερού ποδιού χαλάρωναν και αντίθετα.

Στην ομάδα των ασθενών που υποβλήθηκαν σε πλασματική διέγερση διοχετεύονταν ήπια ερεθίσματα (5 Hz) έως τον ουδό της αίσθησης, χωρίς πρόκληση μυϊκής σύσπασης.

Μέτρηση CD34+ κυττάρων και EPCs

Απομόνωση των PBMCs

Μονοπύρρηνα κύτταρα του περιφερικού αίματος (Peripheral Blood Mononuclear Cells, PBMCs) του αίματος, τα οποία αποτελούνται από τα μονοπύρρηνα, τα λεμφοκύτταρα και πιθανά βλαστικά κύτταρα, απομονώθηκαν χρησιμοποιώντας βαθμίδωση κατάλληλου πολυσακχαρίτη (density gradient, ficoll-like). Το περιφερικό αίμα συλλέχθηκε σε σωληνάρια με EDTA ως αντιπηκτικό. 3 ml αίματος εναποτέθηκαν πάνω από 3 ml ενός ficoll-like μέσω διαχωρισμού (Histopaque 1077, Sigma) και φυγοκεντρήθηκαν για 30 λεπτά στα 400g. Το νεφελώδες μεσαίο στρώμα που προέκυψε (λευκή στοιβάδα), το οποίο περιείχε μονοπύρρηνα κύτταρα, λεμφοκύτταρα και βλάστες μεταφέρθηκε σε ένα άλλο σωληνάριο, ξεπλύθηκε δύο φορές με PBS με BSA 1% w/v και EDTA 2mM, με αποτέλεσμα να δημιουργηθεί τελικά ένα κυτταρικό αιώρημα 500uL.



Καταμέτρηση των κυττάρων

Η μέτρηση των PBMCs πραγματοποιήθηκε με την βοήθεια ενός εμπορικά διαθέσιμου kit (CD4 EasyCount, Partec). 20uL κυτταρικού αιωρήματος επωάστηκε με μονοκλωνικά αντισώματα CD4-PE και CD45-PerCP. Στη συνέχεια, προστέθηκαν κατάλληλα ρυθμιστικά διαλύματα προκειμένου να αυξηθεί ο όγκος και να σταθεροποιηθεί το δείγμα. Τα δείγματα αναλύθηκαν σε κυτταρομετρία ροής με ογκομετρική μέτρηση (CyflowSpace, Partec). Ταυτόχρονα, έγινε ο υπολογισμός του ποσοστού των λεμφοκυττάρων αλλά και του αριθμού των λευκοκυττάρων/ml.

EPCs-CECs (Circulating Endothelial Cells)

Ο αριθμός των EPCs προσδιορίστηκε σύμφωνα με ήδη δοκιμασμένες μεθόδους.¹⁹¹ Ικανός όγκος αιωρήματος PBMCs, το οποίο περιείχε λιγότερα από 10^6 κύτταρα ανά 100uL, επωάστηκε με κατάλληλο μείγμα αποκλεισμού μη-ειδικής πρόσδεσης (Human TruStain FcX, Biolegend) για 20 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια, προστέθηκαν τα μονοκλωνικά αντισώματα

και τα δείγματα επωάστηκαν για 30 λεπτά στους 4 °C (CD45-FITC, CD34-PerCP και VEGFR2-Alexa647 από Biolegend και CD133-PE από Myltenyi). Ακολούθησε προσθήκη 2ml λυτικού (Quicklysis, Cytognos) και τα δείγματα επωάστηκαν για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου και ξεπλύθηκαν με φυγοκέντρηση σε 500g για 10 λεπτά. Τα κύτταρα επωάστηκαν ξανά σε PBS και αναλύθηκαν σε κυτταρομετρητή ροής (CyflowSpace, Partec, Munster) εξοπλισμένο με lasers 488 και 633nm.

Τα δείγματα αναλύθηκαν χρησιμοποιώντας ένα Boolean gate που οριοθετούσε τα ανέπαφα κύτταρα, όπως αυτά ορίζονται από την πρόσθια και την πλάγια σκέδαση, θετικά για το CD34 και αρνητικά ή ασθενώς θετικά για το CD45. Τα οριοθετημένα κύτταρα (gated cells) θεωρήθηκαν ως EPCs όταν ήταν CD133+ και VEGFR2+ και ως CECs όταν ήταν CD133- και VEGFR2+. Ο απόλυτος και ο επί τοις εκατό υπολογισμός των κυττάρων γινόταν με βάση το ποσοστό των λεμφοκυττάρων στα PMNs και το ολικό αίμα.

Μέτρηση των VEGF

Η μέτρηση των VEGF, και πιο συγκεκριμένα του κλάσματος VEGF-A, πραγματοποιήθηκε με την ανοσοϊστοχημική μέθοδο ELISA¹⁹² και την χρήση INVitrogen USA kits στο Βιοχημικό-Ερευνητικό εργαστήριο του ΚΑΤ, το οποίο υπάγεται στο Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Στατιστική ανάλυση

Πραγματοποιήθηκε έλεγχος κανονικότητας των ποσοτικών μεταβλητών με το τεστ του Kolmogorov-Smirnov. Στις μεταβλητές που ακολουθούσαν κανονική κατανομή ελέγχθηκαν οι διαφορές μεταξύ των ομάδων με παραμετρικούς ελέγχους ενώ σε εκείνες που δεν την ακολουθούσαν με αντίστοιχους μη παραμετρικούς ελέγχους. Οι στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας το STATA v 13.0 πακέτο λογισμικού (StataCorp LP, College Station, TX, USA). Οι αριθμητικές μεταβλητές εκφράζονται ως διάμεσος (διατεταρτημοριακή περιοχή, interquartile range) και οι κατηγορικές μεταβλητές ως αριθμός περιπτώσεων και/ή ποσοστό. Οι μεταβολές των αριθμητικών μεταβλητών κατά την διάρκεια της θεραπείας αξιολογήθηκαν με ανάλυση γραμμικής παλινδρόμησης (linear regression) χρησιμοποιώντας ανάλογη προσαρμογή με βάση τις αρχικές τιμές. Η σύγκριση των εκάστοτε διαφορών των κατηγορικών μεταβλητών έγινε χρησιμοποιώντας το χ^2 test ή το ακριβές test Fischer, ανάλογα με την περίπτωση. Οι συσχετίσεις μεταξύ αριθμητικών μεταβλητών εξετάστηκαν με συσχέτιση Spearman. Τιμές p-value <0,05 θεωρήθηκαν ενδεικτικές στατιστικής σημαντικότητας. Ο υπολογισμός ισχύος post-hoc έδειξε ότι η μελέτη είχε 100% δύναμη να ανιχνεύσει την παρατηρούμενη μεταβολή στην 6MWD.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Βασικά χαρακτηριστικά του δείγματος μελέτης

Τα βασικά δημογραφικά χαρακτηριστικά δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ των 2 υπό μελέτη ομάδων (FES έναντι sham/placebo). Πιο συγκεκριμένα, οι υπερηχογραφικές μεταβλητές LVEF και E/E', τα επίπεδα του BNP καθώς και η λειτουργική κλάση κατά NYHA δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ των 2 ομάδων.

Όσον αφορά τους δείκτες αγγειογένεσης, τόσο ο VEGF-A όσο και τα CD34+ κύτταρα δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ των 2 ομάδων. Η μόνη διαφορά στις αρχικές μετρήσεις των δύο ομάδων αφορούσε τα EPCs, των οποίων ο αριθμός ήταν χαμηλότερος στην ομάδα των ασθενών που πραγματοποίησαν FES [5,6 (0-8,9) έναντι 11,0 (8,6-13,8) (% ποσοστό των CD34+ κυττάρων), $p=0,003$].

Πίνακας 1. Βασικά χαρακτηριστικά ομάδων

	FES		Sham		p
	Διάμεσος /Αριθμός	25 ^η -75 ^η /Ποσοστό	Διάμεσος /Αριθμός	25 ^η -75 ^η /Ποσοστό	
N	15		12		
Άνδρες	12	80%	10	83%	0,612
Ηλικία	73	63-74	70,5	62,5-76,25	0,746
Ύψος (μέτρα)	1,72	1,64-1,75	1,68	1,64-1,74	0,598
Σωματικό Βάρος (Kg)	73	67-81	76	70,5-79,75	0,373
BMI (Kg/m²)	25	23,3-26,9	27,1	25,6-29,4	0,282
LVEF %	25%	25-30	27,5%	25-33,8	0,683
E/E'	12,9	10,8-15,5	14,25	11,5-16,5	0,347
Αιτία ΚΑ					0,484
Ισχαιμική	10	67%	9	75%	
Διατατική	5	33%	3	25%	
ΝΥΗΑ					0,603
I	0	0%	0	0%	
II	9	60%	6	50%	
III	6	40%	6	50%	
6MWD (μέτρα)	335	310-420	310	268,8-431,3	0,516
Αρτηριακή Υπέρταση	11	73%	8	67%	0,516
Σακχαρώδης Διαβήτης	8	53%	6	50%	0,803
Κάπνισμα	8	53%	9	75%	0,226
Υπερλιπιδαιμία	10	67%	6	50%	0,315
Αλκοόλ	7	47%	6	50%	0,863
Κολπική Μαρμαρυγή	5	33%	4	33%	0,657
BNP (pg/mL)	559	250-624	600,5	323,5-673	0,442
Ουρία (mg/mL)	46	40-60	49	37,5-63,3	0,858
Κρεατινίνη (mg/mL)	1,1	1-1,5	1,3	1,1-1,5	0,427
Γλυκόζη (mg/mL)	134	110-144	117	99,8-151,5	0,456
Αιματοκρίτης %	38	36,5-39,1	37,6	36,2-39,5	0,875
VEGF-A (pg/mL)	81,2	54,0-204,6	99,9	73,6-224,2	0,516
CD34+ (κύτταρα/mL)	799	180-1290	1050	708,8-1277,5	0,256

CD34+ %	0,22	0,15-0,39	0,175	0,13-0,33	0,548
EPCs (% των CD34+)	5,6	0-8,9	11	8,6-13,8	0,003

FES: Functional Electrical Stimulation: νευρομυική ηλεκτρική διέγερση, BMI: Body Mass Index: δείκτης μάζας σώματος, LVEF: Left Ventricular Ejection Fraction: κλάσμα εξώθησης της αριστερής κοιλίας, E/E': ο λόγος E/E', KA: Καρδιακή Ανεπάρκεια, NYHA: κατηγοριοποίηση κατά New York Heart Association, 6MWD: 6-Minute-Walking-Distance-διανυθείσα απόσταση σε βάδισμο 6 λεπτών, BNP: Brain Natriuretic Peptide-εγκεφαλικό νατριουρητικό πεπτίδιο, VEGF-A: Vascular Endothelial Growth Factor-A-αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας-A, CD34+: κύτταρα που φέρουν τον υποδοχέα CD34 την επιφάνειά τους, EPCs: Endothelial Progenitor Cells-ενδοθηλιακά προγονικά κύτταρα.

Βαθμός συμμόρφωσης των ασθενών

Τόσο οι ασθενείς της ομάδας FES όσο και οι ασθενείς της ομάδας με sham διέγερση παρουσίασαν αρκετή καλή συμμόρφωση στο προβλεπόμενο πρόγραμμα. Μόλις 2 ασθενείς της πρώτης ομάδας διέκοψαν πρόωρα το πρόγραμμα. Ο πρώτος διέκοψε πρόωρα το πρόγραμμα για προσωπικούς λόγους χωρίς να αναφέρει κάποια ανεπιθύμητη ενέργεια ή κάποια δυσκολία αναφορικά με την εφαρμογή της FES. Ο δεύτερος διέκοψε κάθε επαφή με την ομάδα του ιατρείου Καρδιακής Ανεπάρκειας, χωρίς να είναι δυνατή η επικοινωνία ούτε με τον ίδιο αλλά ούτε και με κάποιο συγγενικό του πρόσωπο. Και οι δύο παραπάνω ασθενείς εξαιρέθηκαν της μελέτης και αντικαταστάθηκαν από άλλους ασθενείς, οι οποίοι ακολούθησαν χωρίς προβλήματα το πρόγραμμα της μελέτης. Ο συνολικός, λοιπόν, βαθμός συμμόρφωσης ήταν 88% στην ομάδα FES και 100% ομάδα με sham διέγερση.

Επίδραση FES στους παράγοντες αγγειογένεσης

Πίνακας 2. Υπό μελέτη παράμετροι στην αρχή και στο τέλος του πρωτοκόλλου (μετά από 6 εβδομάδες)

	Αρχικά		Μετά από 6 εβδομάδες		P
	FES (n=15)	Sham (n=12)	FES (n=15)	Sham (n=12)	
VEGF-A (pg/mL)	81,2 (54,0-204,6)	99,9 (73,9-224,2)	204,6 (157,7-244,8)	109,1 (64,7-195,7)	0,002
CD34+ (κύτταρα/mL)	799 (180-1290)	1050 (709-1278)	1600 (855-4515)	1313 (1058-1695)	0,060
EPCs (% των CD34+)	5,6 (0-8,9)	11,0 (8,5-13,8)	10,2 (7,3-11,7)	11,2 (7,8-13,8)	0,092
Ταξινόμηση κατά NYHA (I/II/III)	0/6/9	0/6/6	2/13/0	0/7/5	<0,001
6MWD (μέτρα)	335 (310-420)	310 (269-431)	455 (380-500)	353 (250-415)	<0,001
BNP (pg/mL)	559 (250-624)	600 (324-673)	282 (156-355)	463 (309-565)	<0,001
E/E'	12,9 (10,8-15,5)	14,3 (11,5-16,5)	9,1 (8,2-11,3)	14,1 (10,9-15,6)	<0,001

FES: Functional Electrical Stimulation-νευρομυική ηλεκτρική διέγερση, VEGF-A: Vascular Endothelial Growth Factor-Αυξητικός Παράγοντας του Αγγειακού Ενδοθηλίου, EPCs: Endothelial Progenitor Cells- Ενδοθηλιακά Προγονικά Κύτταρα, NYHA: New York Heart Association, 6MWD: 6-Minute Walking Distance-διανυθείσα απόσταση σε 6 λεπτά, BNP: Brain Natriuretic Peptide- εγκεφαλικό νατριουρητικό πεπτιδίο, E/E': ο λόγος E/E'.

Πίνακας 3. Μεταβολή των υπό μελέτη παραμέτρων πριν και μετά το πέρας του πρωτοκόλλου της FES (μετά από 6 εβδομάδες)

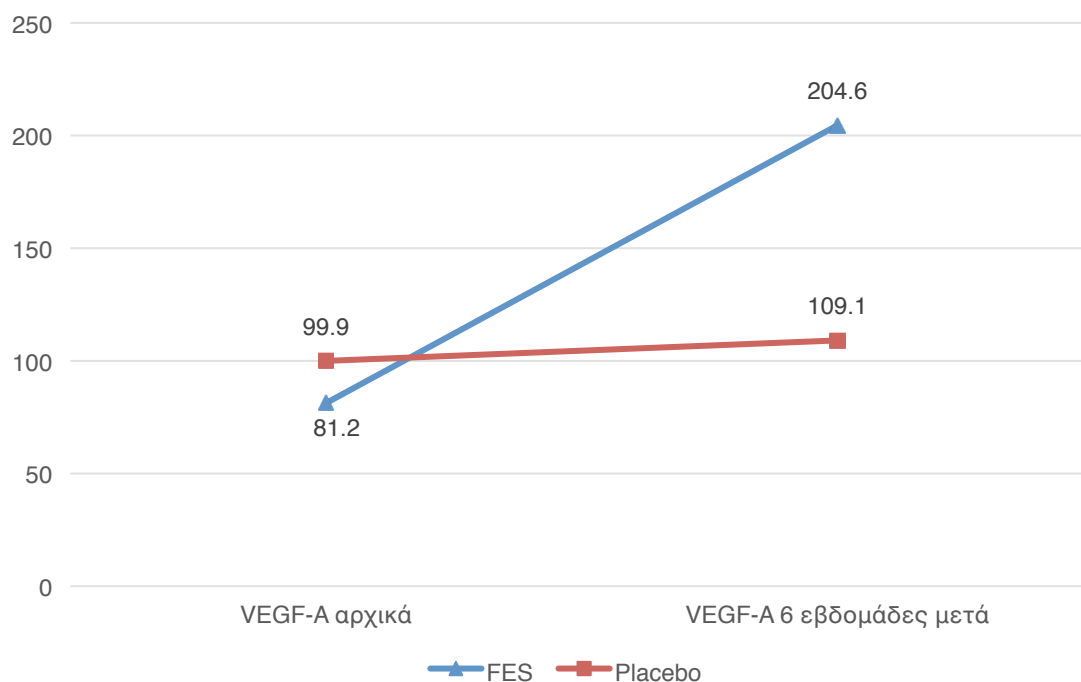
	FES		Sham		p
	Mean	Std Error	Mean	Std Error	
Δ6MWD (μέτρα)	96,3	8,4	3,75	12,5	<0,001
ΔBNP (pg/mL)	-207,7	28,7	-93,3	32,1	<0,001
ΔE/E'	-3,54	0,35	-0,64	0,48	<0,001
ΔEPCs (% των CD34+)	5,3	1,4	0,1	0,8	0,092
ΔCD34+ (κύτταρα/mL)	2572,7	1119,7	-852,9	1278,6	0,06
ΔVEGF-A (pg/mL)	98,7	21,6	3,1	12,5	0,002

Δ6MWD: Μεταβολή της 6MWD-διανυθείσας απόστασης σε 6 λεπτά, ΔBNP: Μεταβολή του BNP-εγκεφαλικού νατριουρητικού πεπτιδίου, ΔE/E': μεταβολή του λόγου E/E', ΔEPCs: μεταβολή των EPCs- ενδοθηλιακών προγονικών κυττάρων, ΔCD34+ : μεταβολή των CD34+ κυττάρων, ΔVEGF-A: μεταβολή του VEGF-A- αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα - A.

α. VEGF-A

Οι ασθενείς που πραγματοποίησαν FES παρουσίασαν σημαντικά μεγαλύτερη άνοδο των VEGF-A μετά από τους 6 μήνες του προγράμματος σε σχέση με την ομάδα των ασθενών με sham διέγερση. Πιο συγκεκριμένα, η μέση αύξηση στην πρώτη ομάδα ήταν 98,7 έναντι μόλις 3,1 στην ομάδα ελέγχου [mean Δ (standard error): 98,7 pg/ml (21,6) έναντι 3,1 (12,5), p προσαρμοσμένο με τις αρχικές τιμές =0,002] (γράφημα 1).

Γράφημα 1. Επίδραση της FES στα επίπεδα των VEGF-A

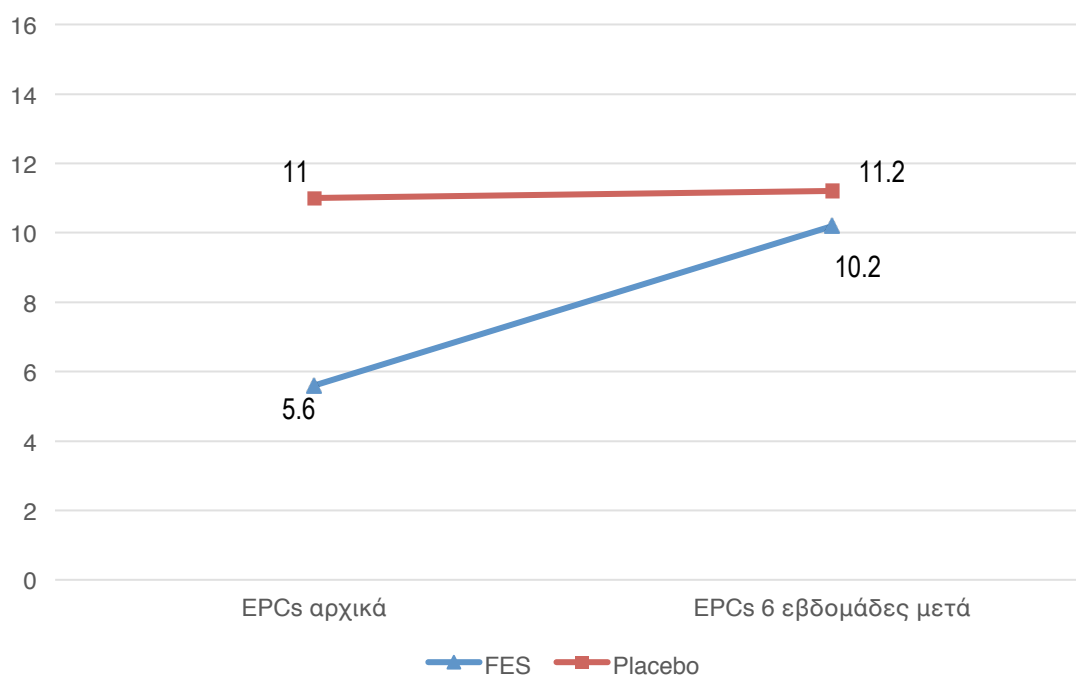


VEGF-A: Vascular Endothelial Growth Factor-A-αυξητικός παράγοντας του αγγειακού ενδοθηλίου-A, FES: Functional Electrical Stimulation-νευρομυική ηλεκτρική διέγερση, Placebo: ομάδα με sham διέγερση.

β. EPCs

Όσον αφορά των αριθμό των EPCs, παρατηρήθηκε μια τάση μεγαλύτερης αύξησης στην ομάδα των ασθενών που πραγματοποίησαν το πρόγραμμα FES σε σχέση με την ομάδα ελέγχου, ωστόσο αυτή η διαφορά δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική. Αναλυτικότερα, η πρώτη ομάδα παρουσίασε αύξηση κατά 5,3% έναντι μόλις 0,1% στην δεύτερη ομάδα [5,3% των CD34+ (1,4) έναντι 0,1 (0,8), $p=0,092$] (γράφημα 2).

Γράφημα 2. Επίδραση της FES στα επίπεδα των EPCs

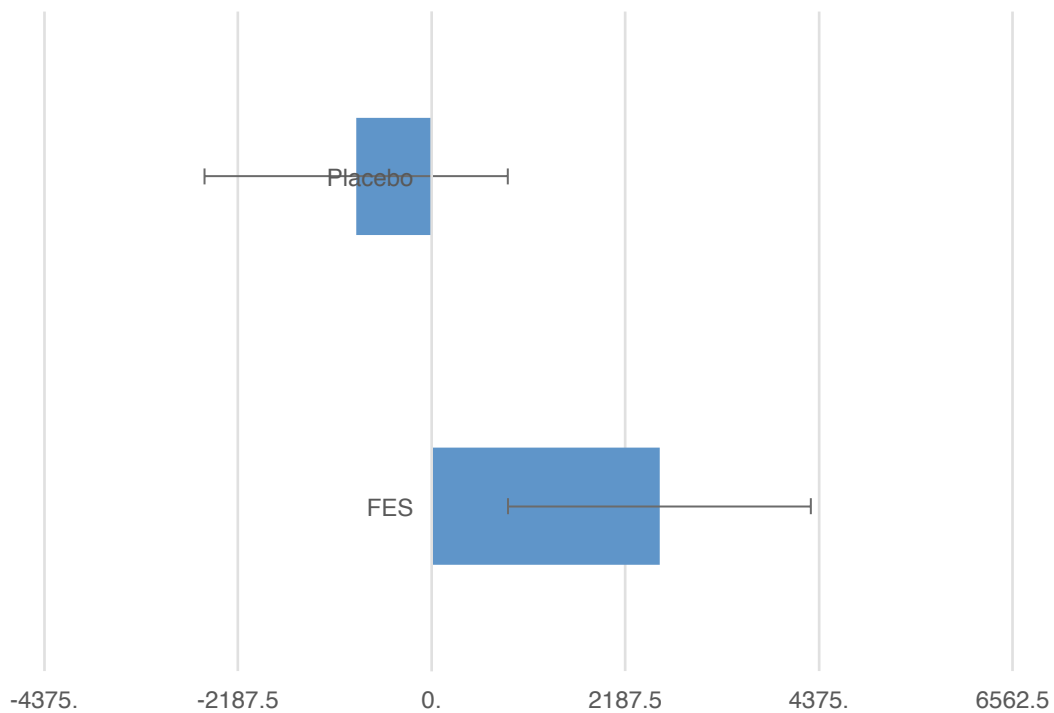


EPCs: Endothelial Progenitor Cells-ενδοθηλιακά προγονικά κύτταρα, FES: Functional Electrical Stimulation-νευρομυϊκή ηλεκτρική διέγερση. Placebo: ομάδα με sham διέγερση.

γ. CD34+ κύτταρα

Παρομοίως, η ομάδα FES παρουσίασε μια τάση αύξησης στον αριθμό των CD34+ κυττάρων [(2572,7 κύτταρα/mL (1119,7) σε αντίθεση με την ομάδα της sham διέγερσης, η οποία παρουσίασε σημαντική πτώση (-852,9 (1278,6), $p=0,060$] (γράφημα 3).

Γράφημα 3. Επίδραση της FES στη συγκέντρωση των CD34+ κυττάρων

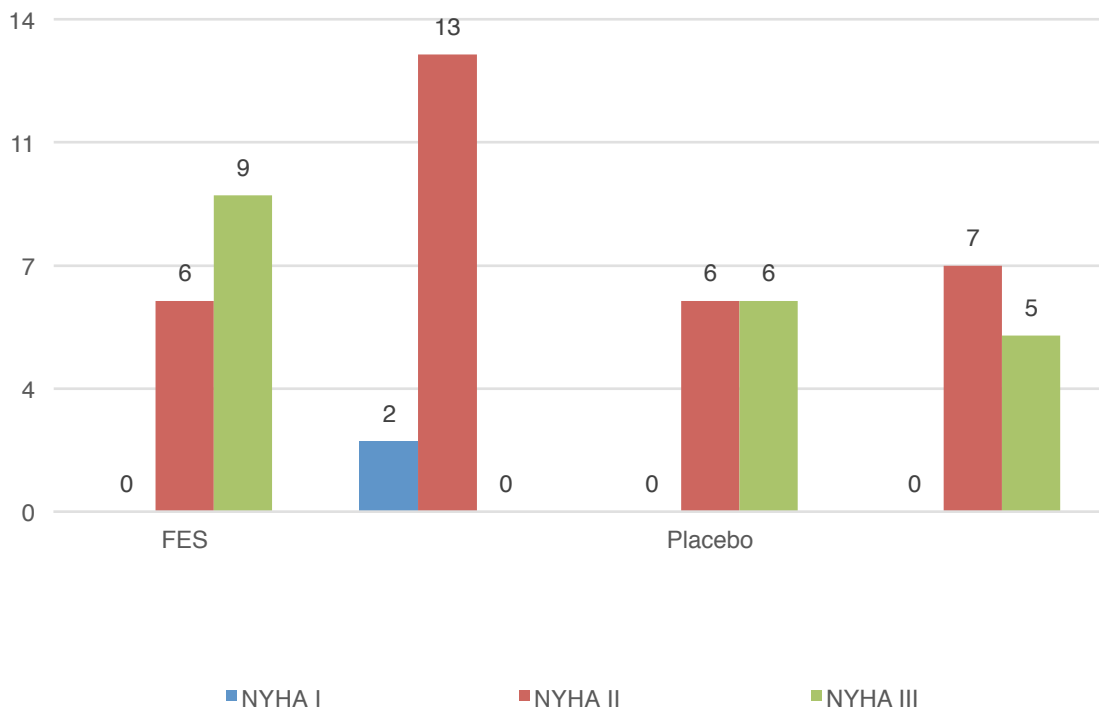


FES: Functional Electrical Stimulation-νευρομυϊκή ηλεκτρική διέγερση. Placebo: ομάδα με sham διέγερση.

FES και λειτουργική κατάσταση

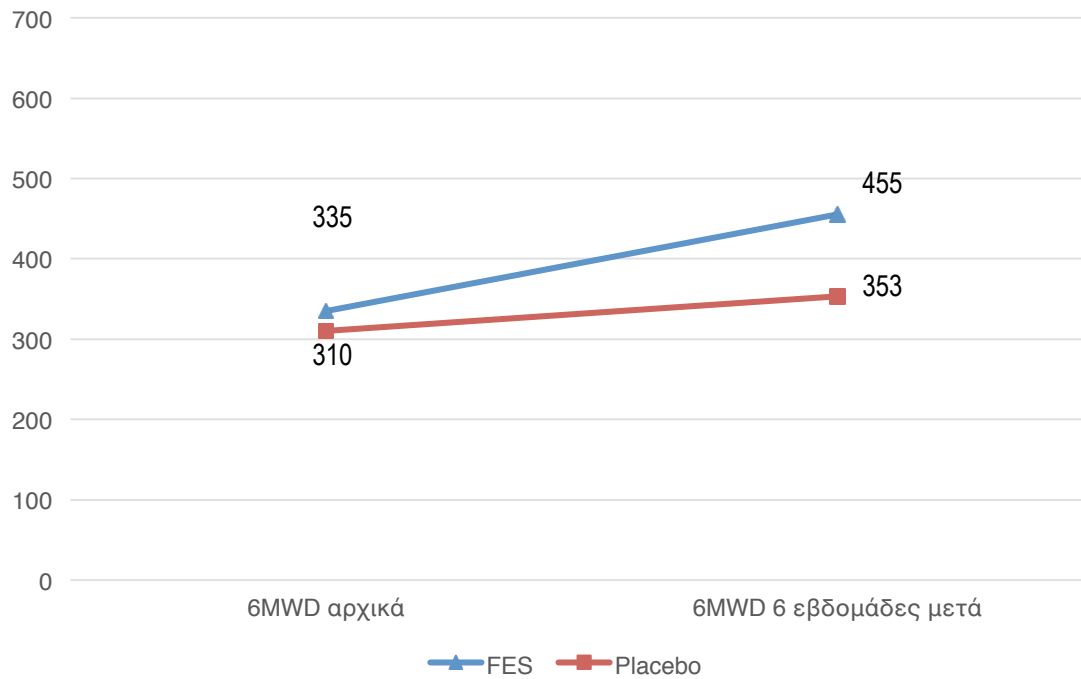
Η FES βελτίωσε με στατιστικά σημαντικό τρόπο τόσο την λειτουργική κλάση κατά NYHA των ασθενών ($p < 0,001$) όσο και την ικανότητα προς βάρδιση, όπως αυτή ορίζεται από την διανυθείσα απόσταση από την εξάλεπτη δοκιμασία βάρδισης (6-min walked distance, 6MWD) σε σύγκριση πάντα με την ομάδα ελέγχου ($p < 0,001$) (γραφήματα 4 και 5).

Γράφημα 4. Επίδραση της FES στην κατηγοριοποίηση κατά NYHA



FES: Functional Electrical Stimulation-νευρομυϊκή ηλεκτρική διέγερση, Placebo: ομάδα με sham διέγερση, NYHA: ταξινόμηση κατά New York Heart Association.

Γράφημα 5. Επίδραση της FES στην 6MWD

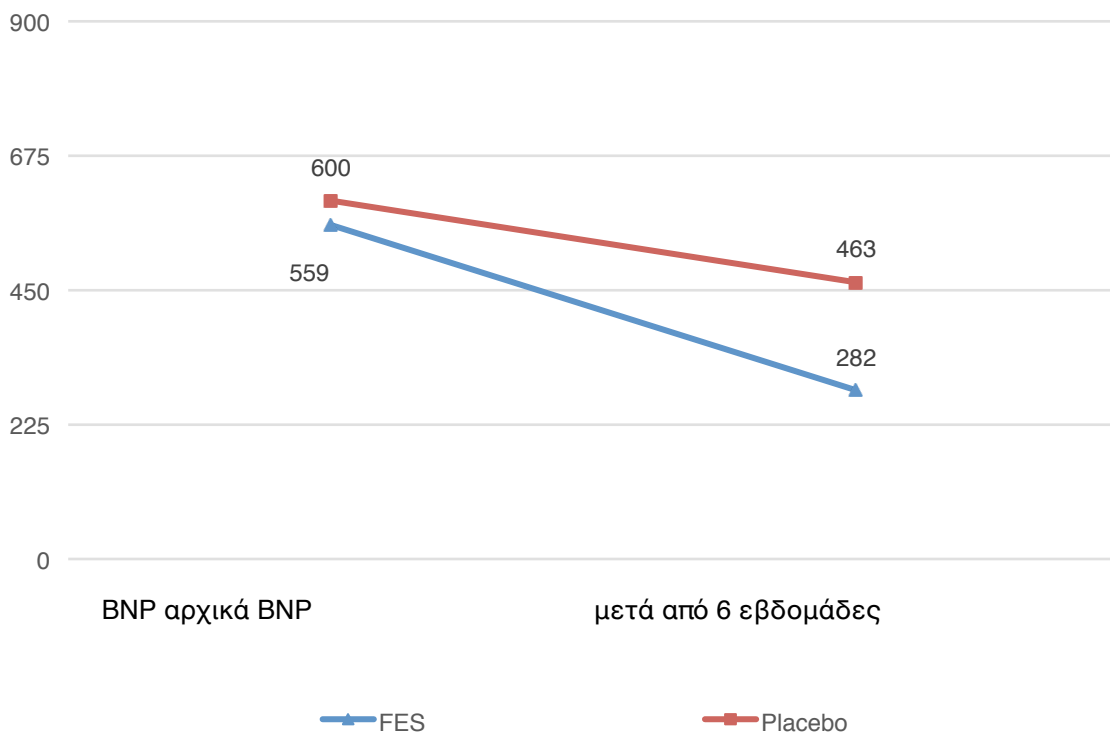


6MWD: 6-Minute Walking Distance-απόσταση διανυθείσα σε περπάτημα 6 λεπτών, FES: Functional Electrical Stimulation-νευρομυϊκή ηλεκτρική διέγερση, Placebo: ομάδα με sham διέγερση, 6MWD: 6-Minute Walking Distance-διανυθείσα απόσταση σε 6 λεπτά.

FES και BNP

Οι ασθενείς που πραγματοποίησαν το πρόγραμμα με FES παρουσίασαν στατιστικά σημαντική μείωση του BNP ($p < 0.001$), σε σύγκριση με τους ασθενείς με sham διέγερση οι οποίοι δεν εμφάνισαν σημαντική μείωση (γράφημα 6).

Γράφημα 6. Επίδραση της FES στα επίπεδα του BNP

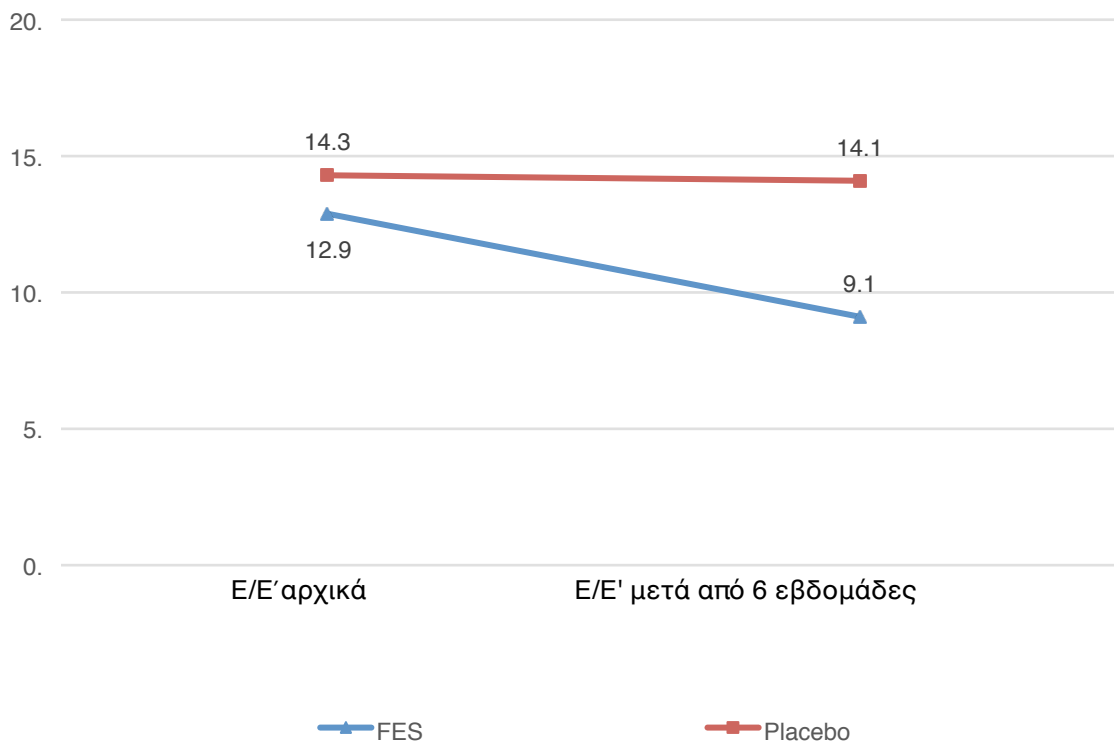


BNP: Brain Natriuretic Peptide-εγκεφαλικό νατριουρητικό πεπτίδιο, FES: Functional Electrical Stimulation-νευρομυική ηλεκτρική διέγερση, Placebo: ομάδα με sham διέγερση.

FES και λόγος E/E

Ο λόγος E/E' παρουσίασε στατιστικά σημαντική μείωση στην ομάδα FES ($p < 0.001$) σε σχέση με την ομάδα με sham διέγερση (γράφημα 7).

Γράφημα 7. Επίδραση της FES στον λόγο E/E'

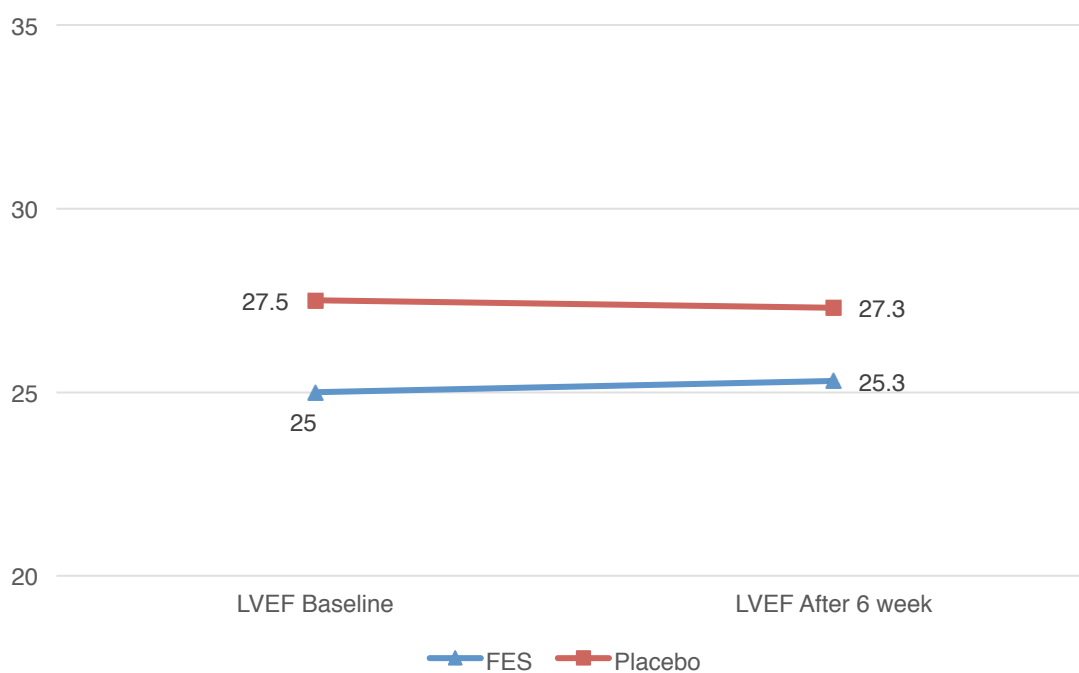


E/E': λόγος E/E', FES: Functional Electrical Stimulation-νευρομυϊκή ηλεκτρική διέγερση, Placebo: ομάδα με sham διέγερση.

FES και LVEF

Το LVEF δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντική μεταβολή στην ομάδα FES ($p < 0,832$) σε σχέση με την ομάδα με sham διέγερση (γράφημα 8).

Γράφημα 8. Επίδραση της FES στον LVEF



LVEF: κλάσμα εξώθησης αριστερής κοιλίας, FES: Functional Electrical Stimulation-νευρομυική ηλεκτρική διέγερση, Placebo: ομάδα με sham διέγερση.

Συσχέτιση μεταβολών δεικτών αγγειογένεσης και 6MWD, E/E'

Αξίζει εδώ να σημειωθεί ότι η μεταβολή των VEGF-A (Δ -VEGF-A) και των EPCs (Δ -EPCs) παρουσίασε σημαντική θετική συσχέτιση με την αντίστοιχη μεταβολή της 6MWD (Δ -6MWD) ($\rho=0,549$, $p=0,003$ και $\rho=0,684$, $p<0,001$, αντίστοιχα). Επιπλέον, σημαντική θετική συσχέτιση παρουσίασε η μεταβολή των CD34+ κυττάρων (Δ -CD34+) με την Δ -6MWD ($\rho=0,648$, $p<0,001$) και σημαντική αρνητική συσχέτιση με την αντίστοιχη μεταβολή του λόγου E/E' (Δ E/E') ($\rho=-0,597$, $p=0,001$). Θετική, εξάλλου, υπήρξε η συσχέτιση της μείωσης τόσο του BNP (Δ BNP) ($\rho=-0,517$, $p=0,006$) όσο και του λόγου E/E' (Δ E/E') ($\rho=-0,596$, $p=0,001$) με την αντίστοιχη μεταβολή της 6MWD (Δ 6MWD) (**Πίνακας 4**).

Πίνακας 4. Συσχέτιση μεταξύ διαφόρων μεταβολών

Spearman's rho (ρ)		$\Delta 6MWD$	ΔBNP	$\Delta E/E'$	$\Delta EPCs$	$\Delta CD34$	$\Delta VEGF-A$
$\Delta 6MWD$	Correlation Coefficient	1	-0,517**	-0,596**	0,684**	0,648**	0,549**
	Sig. (2-tailed)		0,006	0,001	0,000	0,000	0,003
	N	27	27	27	27	27	27
ΔBNP	Correlation Coefficient	-0,517**	1	0,661**	-0,136	-0,473*	-0,136
	Sig. (2-tailed)	0,006		0,000	0,498	0,013	0,498
	N	27	27	27	27	27	27
$\Delta E/E'$	Correlation Coefficient	-0,596**	0,661**	1	-0,343	-0,597**	-0,372
	Sig. (2-tailed)	0,001	0,000		0,08	0,001	0,056
	N	27	27	27	27	27	27
$\Delta EPCs$	Correlation Coefficient	0,684**	-0,136	-0,343	1	0,473*	0,619**
	Sig. (2-tailed)	0,000	0,498	0,08		0,013	0,001
	N	27	27	27	27	27	27
$\Delta CD34$	Correlation Coefficient	0,648**	-0,473*	-0,597**	0,473*	1	0,292
	Sig. (2-tailed)	0,000	0,013	0,001	0,013		0,139
	N	27	27	27	27	27	27
$\Delta VEGF-A$	Correlation Coefficient	0,549**	-0,136	-0,372	0,619**	0,292	1
	Sig. (2-tailed)	0,003	0,498	0,056	0,001	0,139	
	N	27	27	27	27	27	27

** Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

* Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η μειωμένη ανοχή στην άσκηση, όπως ήδη αναφέρθηκε, αποτελεί ανεξάρτητο αρνητικό προγνωστικό παράγοντα σε ασθενείς με προχωρημένη καρδιακή ανεπάρκεια.^{110,111} Είναι αποτέλεσμα ενός παθοφυσιολογικού μηχανισμού ο οποίος αφορά τόσο την χαμηλή καρδιακή παροχή όσο και την επηρεασμένη αιματική ροή στους περιφερικούς μύες. Με την πρόοδο της νόσου, η χαμηλή περιφερική αιματική ροή είναι αποτέλεσμα περισσότερο της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας και της χαμηλής αγγειοδιασταλτικής ικανότητας των περιφερικών μυών παρά της χαμηλής καρδιακής παροχής.

Εδώ και λίγες δεκαετίες, έρευνες έδειξαν ότι η συστηματική άσκηση αποτελεί την καλύτερη «θεραπευτική προσέγγιση» για ασθενείς με προχωρημένη καρδιακή ανεπάρκεια και χαμηλή ανοχή στην κόπωση. Η ευεργετική της δράση είναι πλειοτροπική. Πέρα από την βελτίωση της καρδιακής παροχής, κυρίως μέσω του όγκου παλμού, αυξάνει και την περιφερική ροή αίματος των μυών. Αυτό επιτυγχάνεται τόσο με την βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας και κατά συνέπεια την καλύτερη ανταπόκριση σε αγγειοδιασταλτικές ουσίες όσο και στη νεοαγγειογένεση. Μελέτες που αναφέρθηκαν παραπάνω έδειξαν ότι η συστηματική αερόβια άσκηση οδηγεί στην αύξηση γνωστών δεικτών αγγειογένεσης όπως ο VEGF-A, τα CD34+ κύτταρα και τα EPCs.

Ωστόσο, μία πρόσφατη μεγάλη πολυκεντρική τυχαιοποιημένη μελέτη, η HF-ACTION, της οποίας τα αποτελέσματα αναλύθηκαν ήδη λεπτομερώς, ανέδειξε ένα σημαντικό μειονέκτημα της άσκησης στους ασθενείς με προχωρημένη ΚΑ καθώς η συμμόρφωσή τους στο προβλεπόμενο πρόγραμμα ήταν πολύ χαμηλή. Μόλις 4 στους 10 κατάφεραν να ακολουθήσουν το πρόγραμμα τους πρώτους 3 μήνες. Αντιλαμβάνεται, λοιπόν, κανείς ότι,

δυστυχώς, είναι αντικειμενικά πολύ δύσκολο να ωφεληθούν από τις ευεργετικές ιδιότητες της άσκησης οι ασθενείς με προχωρημένη ΣΚΑ, οι οποίοι ενδεχομένως επιβαρύνονται και από άλλες συννοσηρότητες. Έτσι, προέκυψε η ανάγκη να αναζητηθούν εναλλακτικά μέσα άσκησης τα οποία θα αποδίδουν στον οργανισμό τα οφέλη της άσκησης χωρίς ωστόσο να απαιτούν ιδιαίτερο κόπο από πλευράς του ασθενούς.

Η FES έχει επικρατήσει εδώ και 2 δεκαετίες ως εναλλακτικός τρόπος άσκησης σε ασθενείς με ΧΚΑ, καθώς απέδειξε την αποτελεσματικότητά της στην βελτίωση της ικανότητας προς άσκηση χωρίς να εγκυμονεί κάποιο κίνδυνο για τον ασθενή. Παράλληλα, η συμμόρφωση των ασθενών, όπως αυτή καταγράφηκε σε διάφορες μελέτες, ήταν αρκετά υψηλή. Όλες οι μελέτες έχουν δείξει ότι αυτός ο εναλλακτικός, ασφαλής τρόπος άσκησης είναι ιδιαίτερα αποτελεσματικός στην βελτίωση της ικανότητας προς άσκηση, αυξάνοντας την ανοχή και βελτιώνοντας την ποιότητα ζωής των ασθενών αυτών. Παρόλ'αυτά, αν και υπάρχουν ενδείξεις ότι βελτιώνεται η ενδοθηλιακή λειτουργία, ωστόσο δεν έχει μελετηθεί επαρκώς ο ευεργετικός μηχανισμός δράσης της στην αιματική ροή των περιφερικών μυών και πιο συγκεκριμένα, η επίδρασή της στους δείκτες νεοαγγειογένεσης.

Η μελέτη μας έδειξε, καταρχήν, ότι η συστηματική εφαρμογή FES είναι ασφαλής αφού καμία ανεπιθύμητη ενέργεια δεν αναφέρθηκε. Το συγκεκριμένο εύρημα είναι σύμφωνο με όλες τις προηγούμενες μελέτες οι οποίες έχουν αποδείξει ήδη την ασφάλεια της μεθόδου. Παράλληλα, ψηλός ήταν και ο βαθμός συμμόρφωσης των ασθενών (88%) στο πρόγραμμα που τους υποδείχθηκε, καθώς μόλις 2 στους 15 δεν κατάφεραν να το ολοκληρώσουν, για λόγους όμως άσχετους με το πρόγραμμα. Το ποσοστό αυτό συμβαδίζει με τα ποσοστά προηγούμενων μελετών και είναι πολύ υψηλότερο από το αντίστοιχο της HF-

ACTION, σε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε πρόγραμμα συμβατικής αερόβιας άσκησης 3 μόλις μηνών. Αντιλαμβάνεται, λοιπόν, κανείς ότι η FES επιτυγχάνει να καλύψει το βασικό μειονέκτημα της συστηματικής άσκησης που είναι η χαμηλή δυνατότητα συστηματικής εφαρμογής της από συνήθως ιδιαίτερα ταλαιπωρημένους κι ευάλωτους ασθενείς.

Παράλληλα, ένα άλλο σημαντικό εύρημα της μελέτης μας ήταν ότι η συστηματική χορήγηση FES οδήγησε σε σημαντική αύξηση της ικανότητας προς άσκηση, όπως αυτή ορίζεται από την 6MWD. Αυτό έρχεται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα μεγάλων προηγούμενων μελετών,^{172,173,174} οι οποίες είχαν ήδη δείξει ότι η βελτίωση που παρατηρείται στην ικανότητα προς άσκηση ασθενών με ΧΚΑ μετά από συστηματική εφαρμογή FES είναι συγκρίσιμη με την αντίστοιχη μετά από αερόβια άσκηση. Αξίζει να σημειωθεί, επίσης, ότι για πρώτη φορά δείξαμε ότι, πέρα από την 6MWD, βελτιώνεται με στατιστικά σημαντικό τρόπο και η λειτουργική κλάση κατά NYHA. Βλέπουμε, λοιπόν, ότι η βελτιωμένη ανοχή στην κόπωση μεταφράζεται και σε μεγαλύτερη δυνατότητα αυτοεξυπηρέτησης και άρα επάρκειας στην καθημερινή ζωή των εν λόγω ασθενών.

Επιπρόσθετα, η υπερηχογραφική μελέτη πριν και μετά την εφαρμογή του πρωτοκόλλου μας έδειξε καταρχήν ότι δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική μεταβολή του LVEF. Τα δεδομένα όσον αφορά τη μεταβολή του LVEF μετά από συστηματική εφαρμογή αερόβιας άσκησης είναι συγκεχυμένα, καθώς άλλες μελέτες δείχνουν βελτίωση,^{195,196} ενώ άλλες μη στατιστικά σημαντικές μεταβολές.^{197,198} Όσο για την FES, δεν υπάρχουν δεδομένα για την επίδρασή της στο LVEF σε ασθενείς με ΧΚΑ. Βλέπουμε, λοιπόν, ότι η ευνοϊκή επίδραση του εναλλακτικού αυτού μέσου άσκησης στην βελτίωση της αντοχής στην

κόπωση δεν επιτυγχάνεται μέσω βελτίωση της καρδιακής παροχής αλλά μέσω βελτίωσης της περιφερικής κυκλοφορίας σε επίπεδο μυών.

Ένα άλλο ενδιαφέρον υπερηχογραφικό εύρημα αφορά στον λόγο E/E' πριν και μετά την εφαρμογή FES. Όπως είδαμε παραπάνω, ο λόγος αυτός έχει αποδείξει την προγνωστική του αξία όσον αφορά τόσο την έκβαση του ασθενούς με ΧΚΑ όσο και την ικανότητά του προς άσκηση. Η ευνοϊκή επίδραση της συστηματικής αερόβιας άσκησης έχει επαρκώς μελετηθεί τόσο στην ΧΚΑ με χαμηλό όσο και με διατηρημένο LVEF. Έχει αποδειχθεί, λοιπόν, ότι και στις 2 περιπτώσεις ο λόγος αυτός μειώνεται με στατιστικά σημαντικό τρόπο, ενώ η μεταβολή αυτή συσχετίστηκε με καλύτερη ικανότητα προς άσκηση.¹⁹⁹⁻²⁰¹ Για πρώτη φορά, μελετήσαμε την επίδραση της FES στην ίδια ομάδα ασθενών και καταλήξαμε στο ίδιο συμπέρασμα. Είδαμε ότι η ευνοϊκή επίδραση της αερόβιας άσκησης στη μείωση του λόγου E/E' και άρα στην βελτίωση της ικανότητας προς άσκηση παρατηρείται και μετά από την εφαρμογή FES.

Ένα άλλο σημαντικό εύρημα της μελέτης μας αφορούσε τον δείκτη BNP, ο οποίος χρησιμοποιείται ευρέως τόσο για την διάγνωση της καρδιακής ανεπάρκειας^{202,203} όσο και για την παρακολούθηση και την προσαρμογή της θεραπευτικής αγωγής ασθενών με ΧΚΑ.²⁰⁴ Παρατηρήσαμε, λοιπόν, ότι όπως και η χρόνια αερόβια άσκηση^{205,206} έτσι και η συστηματική εφαρμογή FES οδηγεί σε στατιστικά σημαντική μείωση του εν λόγω δείκτη, πάντα συγκρινόμενου με την ομάδα της sham διέγερσης. Το εν λόγω εύρημα έρχεται σε συμφωνία με προηγούμενες μελέτες.^{178,207} Στην πρώτη, η εφαρμογή FES επί 6 εβδομάδες επέφερε στατιστικά σημαντική μείωση του BNP τόσο σε άτομα με NYHA II όσο και σε άτομα με NYHA III-IV. Στην δεύτερη μελέτη, οι ίδιοι συγγραφείς μελέτησαν ασθενείς με ΧΚΑ αλλά διατηρημένο κλάσμα εξώθησης. Στους ασθενείς αυτούς

παρατήρησαν μείωση του εν λόγω δείκτη αλλά αυτή η μείωση δεν ήταν στατιστικά σημαντική.

Δεδομένου ότι ο BNP αποτελεί σημαντικό προγνωστικό δείκτη έκβασης και πιθανών νοσηλειών,²⁰⁸ γίνεται αντιληπτή η ευνοϊκή επίδραση της FES και στον τομέα αυτό. Γνωρίζοντας, επίσης, ότι ο BNP αποτελεί έναν δείκτη που αφορά τις πιέσεις πλήρωσης της κοιλίας, μπορούμε να συμπεράνουμε ότι η FES ασκεί ευνοϊκή επίδραση όχι μόνο σε περιφερικό αλλά, ενδεχομένως, και σε κεντρικό επίπεδο. Αυτό έρχεται σε συμφωνία με το προαναφερθέν υπερηχογραφικό εύρημα της σημαντικής μείωσης του λόγου E/E' στην ομάδα FES.

Εξάλλου, όσον αφορά τους δείκτες αγγειογένεσης, είδαμε ότι η ομάδα που εφάρμοσε το πρόγραμμα με FES παρουσίασε στατιστικά σημαντική αύξηση των VEGF-A σε σχέση με την ομάδα με sham διέγερση. Για πρώτη φορά μελετήθηκαν τα επίπεδα των VEGF-A σε άτομα με ΧΚΑ στα οποία εφαρμόστηκε FES. Βλέπουμε, λοιπόν, ότι η θετική επίδραση της αερόβιας άσκησης στα επίπεδα του εν λόγω δείκτη^{158,167} επιτυγχάνεται και μετά από χορήγηση FES. Το σημαντικότερο, ωστόσο, σημείο αναφορικά με την εν λόγω αύξηση είναι ότι παρατηρήθηκε σημαντική συσχέτιση με την αντίστοιχη αύξηση της 6MWD. Με άλλα λόγια, βλέπουμε ότι η αύξηση των VEGF-A παρατηρήθηκε παράλληλα με την αύξηση της 6MWD και, άρα, θα μπορούσε κάποιος να υποθέσει μια αιτιολογική σχέση, έστω ως ένα βαθμό, μεταξύ της αύξησης της πρώτης και της δεύτερης. Παρόμοια ήταν και τα αποτελέσματα σχετικά με τον δεύτερο δείκτη αγγειογένεσης που μελετήσαμε. Τα EPCs, λοιπόν, παρουσίασαν επίσης στατιστικά σημαντική άνοδο στην ομάδα FES σε σχέση πάντα με την ομάδα με sham διέγερση. Το εν λόγω αποτέλεσμα είναι σύμφωνο με αντίστοιχα

συμπεράσματα μελετών της επίδρασης της αερόβιας άσκησης σε ασθενείς με ΧΚΑ,¹⁵⁸⁻¹⁶⁰ οι οποίες είχαν δείξει την ευεργετική της επίδραση στα επίπεδα των EPCs. Για πρώτη φορά, ωστόσο, δείξαμε ότι η ευνοϊκή αυτή επίδραση αφορά και εναλλακτικούς τρόπους άσκησης όπως η FES. Και σ'αυτή την περίπτωση, η σημαντική αύξηση των EPCs συσχετίστηκε με στατιστικά σημαντικό τρόπο με την αύξηση της 6MWD. Και αυτό το αποτέλεσμα, λοιπόν, ενισχύει την παραπάνω διαπίστωση, ότι δηλαδή η βελτιωμένη ανοχή στην κόπωση μπορεί να αποδοθεί, τουλάχιστον εν μέρει στην αυξημένη νεοαγγειογένεση.

Επιπρόσθετα, τα CD34+ κύτταρα παρουσίασαν, επίσης, σημαντική άνοδο στην ομάδα FES σε σχέση με την ομάδα της sham διέγερσης. Ήταν η πρώτη φορά που μελετήθηκε η επίδραση της FES στα επίπεδα των εν λόγω κυττάρων σε άτομα με ΧΚΑ και τα αποτελέσματα ήταν εξίσου σημαντικά με τα αντίστοιχα της αερόβιας άσκησης.^{164,165} Όπως και στους 2 παραπάνω δείκτες, έτσι και στα CD34+ κύτταρα, η αύξηση των επιπέδων τους συσχετίστηκε στατιστικά με την αύξηση της 6MWD. Στη συγκεκριμένη, όμως, περίπτωση παρατηρήθηκε ταυτόχρονα και σημαντική συσχέτιση με τη μείωση του λόγου E/E' στο υπερηχογράφημα καρδιάς.

Βλέπουμε, λοιπόν, ότι και οι 3 δείκτες αγγειογένεσης που μελετήθηκαν για πρώτη φορά σε πρόγραμμα FES σε ασθενείς πάσχοντες από προχωρημένη ΚΑ παρουσίασαν σημαντική αύξηση και ότι η εν λόγω αύξηση συνοδεύτηκε από σημαντική αύξηση της 6MWD. Προκύπτει, έτσι το συμπέρασμα ότι η αυξημένη ανοχή στην κόπωση οφείλεται, τουλάχιστον σε ένα βαθμό, στην βελτίωση της νεοαγγειογένεσης και της ενδοθηλιακής λειτουργίας των περιφερικών μυών, μέσω της αύξησης των εν λόγω δεικτών αγγειογένεσης.

Συμπεράσματα

Από την ανάλυση των δεδομένων προέκυψαν τα εξής βασικά συμπεράσματα, αναφερόμενοι πάντα στους ασθενείς που εντάχθηκαν στη μελέτη μας:

- Η εφαρμογή του προγράμματος FES αποτελεί ασφαλή εναλλακτική μέθοδο άσκησης
- Ο βαθμός συμμόρφωσης στο πρόγραμμα FES ήταν πολύ μεγαλύτερος σε σχέση με την τυπική άσκηση
- Το πρόγραμμα FES οδήγησε σε στατιστικά σημαντική πτώση των τιμών του BNP και του λόγου E/E' σε σχέση με την ομάδα της sham διέγερσης, όχι όμως και του LVEF. Βελτιώνει, λοιπόν, παράγοντες οι οποίοι έχει αποδειχθεί ότι συσχετίζονται με την καλή ανοχή στην κόπωση.
- Υπήρξε σημαντικά μεγαλύτερη αύξηση όλων των υπό μελέτη δεικτών νεοαγγειογένεσης στην ομάδα που ακολούθησε το πρόγραμμα FES σε σχέση πάντα με την ομάδα της sham διέγερσης. Η διαφορά αυτή ήταν στατιστικά σημαντική όσον αφορά την αύξηση των VEGF-A και οριακά μη στατιστικά σημαντική για την αύξηση των EPCs και των CD34+ κυττάρων. Χρειάζεται ενδεχομένως μεγαλύτερο δείγμα ασθενών για να διευκρινιστεί εάν αυτή η διαφορά είναι στατιστικά σημαντική ή όχι.
- Η εν λόγω αύξηση των δεικτών νεοαγγειογένεσης συσχετίστηκε με στατιστικά σημαντικό τρόπο με την βελτίωση των δεικτών (6MWD & ταξινόμηση κατά NYHA) που χρησιμοποιήθηκαν για την εκτίμηση της λειτουργικής ικανότητας των ασθενών.
- Από όλα τα παραπάνω, μπορούμε να συμπεράνουμε ότι η συστηματική εφαρμογή προγραμμάτων FES, πέρα από την βελτίωση της λειτουργικής ικανότητας και τις αιμοδυναμικές παραμέτρους σε καρδιακό επίπεδο, μπορεί να προάγει την αγγειογένεση και να βελτιώνει την ενδοθηλιακή λειτουργία στους περιφερικούς μύες. Θα μπορούσε, λοιπόν, η χρήση της να αποτελεί μια πολύ καλή εναλλακτική επιλογή σε ασθενείς με προχωρημένη ΧΚΑ, είτε ως μόνιμος τρόπος άσκησης είτε προσωρινά μέχρι η τυπική φυσική άσκηση να γίνει εφικτή.

Βιβλιογραφία

1. Vane JR, Anggard EE, Botting RM. Regulatory function of the vascular endothelium. *N Engl J Med* 1990;323:27–36.
2. Petty RG, Pearson JD. Endothelium: the axis of vascular health and disease. *J R Coll Phys Lond* 1989;23:92–102.
3. Rabanyi GM. The role of endothelium in cardiovascular homeostasis and diseases. *J Cardiovasc Pharmacol* 1993;22(suppl 4):S1–S14.
4. Drexler H. Endothelial dysfunction: clinical implications. *Prog Cardiovasc Dis* 1997;4:287–324.
5. Drexler H. Factors involved in the maintenance of endothelial function. *Am J Cardiol* 1998;82(10A):35–45.
6. Gibbons GH, Dzau VJ. The emerging concept of vascular remodeling. *N Engl J Med* 1994;330:1431–8.
7. Busse R, Mulsch A, Fleming I et al. Mechanisms of nitric oxide release from the vascular endothelium. *Circulation* 1993;87:18 – 25.
8. Cooke JP, Rossitch EJ, Andon NA et al. Flow activates an endothelial potassium channel to release an endogenous nitrovasodilator. *J Clin Invest* 1991;88:1663–71.
9. Hahn AWA, Resnik TJ, Mackie E et al. Effect of peptide vasoconstrictors on vessel structure. *Am J Med* 1993;94:13–9.
10. Luscher TF, Noll G. The pathogenesis of cardiovascular disease: role of the endothelium as a target and mediator. *Atherosclerosis* 1995;188(Suppl):581–90.
11. Katz SD. The role of endothelium-derived vasoactive substances in the pathophysiology of exercise intolerance in patients with congestive heart

- failure. *Prog Cardiovasc Dis* 1995;38:23–50.
12. Kubo SH, Rector TS, Banki AJ et al. Endothelium-dependent vasodilation is attenuated in patients with heart failure. *Circulation* 1991;84:1589 – 96.
 13. Katz SD, Biasucci L, Sabba C et al. Impaired endothelium-mediated vasodilation in the peripheral vasculature of patients with congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol* 1992;19:918–25.
 14. Ramsey MW, Goodfellow J, Jones CJ, Luddington LA, Lewis MJ, Henderson AH. Endothelial control of arterial distensibility is impaired in chronic heart failure. *Circulation* 1995;92:3212–9.
 15. Wang J, Seyedi N, Xiap-Bin X et al. Defective endothelium-mediated control of coronary circulation in conscious dogs after heart failure. *Am J Physiol* 1994;266:670–80.
 16. Treasure CB, Vita JA, Cox DA et al. Endothelium-dependent dilation of the coronary microvasculature is impaired in dilated cardiomyopathy. *Circulation* 1990;81:772–9. .
 17. Ferrari R, Bachetti T, Angoletti L, Comini L, Curello S. Endothelial function and dysfunction in heart failure. *Eur Heart J* 1998;19(Suppl G):G41–7.
 18. Parissis J, Mentzikof D, Karas S. Alterations of endothelial function in chronic heart failure. *Hellenic J Cardiol* 1999;40:101 – 8.
 19. Bachetti T. Endothelial dysfunction in chronic heart failure. *Ital Heart J* 2000;1(10):656–61.

20. Mohri M, Egashira K, Tagawa T et al. Basal release of nitric oxide is decreased in the coronary circulation in patients with heart failure. *Hypertension* 1997;30:50–6.
21. Pepine C. Endothelial dysfunction and its role in the cycle of cardiovascular disease. *Can J Cardiol* 1998;14(Suppl. D):5D–7D.
22. Drexler H, Hayoz D, Munzel T et al. Endothelial function in chronic congestive heart failure. *Am J Cardiol* 1992;69:1596–601.
23. Bachetti T. Endothelial dysfunction in chronic heart failure. *Ital Heart J* 2000;1(10):656–61.
24. Mohri M, Egashira K, Tagawa T et al. Basal release of nitric oxide is decreased in the coronary circulation in patients with heart failure. *Hypertension* 1997;30:50–6.
25. Mann DL, Young JB. Basic mechanisms in congestive heart failure: recognizing the role for proinflammatory cytokines. *Chest* 1994;105:897 – 904.
26. Yoshizumi M, Perrella MA, Burnett JCJ et al. Tumor necrosis factor down-regulates an endothelial nitric oxide synthase mRNA by shortening its half life. *Circ Res* 1993;73:205–9.
27. Adamopoulos S, Parissis J, Kremastinos D. A glossary of circulating cytokines in chronic heart failure. *Eur J Heart Fail* 2001;3(5):517– 26.
28. Ishibashi Y, Shimada T, Murakami Y et al. An inhibitor of inducible nitric oxide synthase decreases forearm blood flow in patients with congestive

- heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2000;38:1470–6.
29. Ferrari R. Tumor necrosis factor in CHF: a double faced cytokine. *Cardio-vasc Res* 1998;37:554 – 9.
 30. Ferrari R, Comini L, Bachetti T. et al. Tumor necrosis factor and expres- sion of inducible nitric oxide synthase in the monocytes of patients with congestive heart failure (Abstract). *Eur Heart J* 1996;17(Suppl P):71.
 31. Ferrari R, Agnoletti L, Comini L et al. Oxidative stress during myocardial ischemia and heart failure. *Eur Heart J* 1998;19(Suppl B):B2–B11.
 32. Indik JH, Goldman S, Gaballa MA. Oxidative stress contributes to vascular endothelial dysfunction in heart failure. *Am J Physiol* 2001;281:H1767 – 70.
 33. Scott-Burden T, Vanhoutte PM. The endothelium as a regulator of vascu- lar smooth muscle proliferation. *Circulation* 1993;87:51 – 5.
 34. Bobik A, Grooms A, Millar JA et al. Growth factor activity of endothelin on vascular smooth muscle cells. *Am J Physiol* 1990;258:C408 – 15.
 35. Chen HH, Burnett Jr. JC. C-type natriuretic peptide: the endothelial com- ponent of the natriuretic peptide system. *J Cardiovasc Phar- macol* 1998;32(Suppl III):S22–8.
 36. Naruko T, Veda M, van del Wal AC et al. C-type natriuretic peptide in hu- man coronary atherosclerotic lesions. *Circulation* 1996;94:3103 – 8.
 37. Eto T, Kitamura K, Kato J. Biological and clinical roles of adrenomedullin in

- circulation control and cardiovascular diseases. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1999;26:371–80.
38. Brunner F, Wolkart G. Relaxant effect of C-type natriuretic peptide involves endothelium and nitric oxide cGMP system in rat coronary microvasculature. *Cardiovasc Res* 2001;51:5777 – 84.
 39. Lah JJ, Frishman WH. Adrenomedullin: a vasoactive and natriuretic peptide with therapeutic potential. *Heart Dis* 2000;2:259 – 65.
 40. Bevilacqua MP, Nelson RM, Mannori G, Cecconi O. Endothelial-leukocyte adhesion molecules in human disease. *Annu Rev Med* 1994;45:361 – 78.
 41. Noutsias M, Seeberg B, Schultheiss H-P, Kuhl U. Expression of cell adhesion molecules in dilated cardiomyopathy. Evidence for endothelial activation in inflammatory cardiomyopathy. *Circulation* 1999;99:2124 – 31.
 42. Parissis J, Adamopoulos S, Venetsanou K et al. Clinical and neurohormonal correlates of circulating monocyte – endothelial cell adhesive interaction markers in advanced heart failure (Abstract). *Eur Heart J* 2000;21(Suppl):1280.
 43. Carmeliet P. Mechanisms of angiogenesis and arteriogenesis. *Nat Med* 2000; 6: 389-395.
 44. Risau W. Mechanisms of angiogenesis. *Nature* 1997; 386: 671-674.
 45. Risau W, Flamme I. Vasculogenesis. *Annu Rev Cell Dev Biol* 1995; 11: 73-91.

46. Schächinger V, Britten MB, Zeiher AM. Prognostic impact of coronary vasodilator dysfunction on adverse long-term outcome of coronary heart disease. *Circulation* 2000; 101: 1899-1906.
47. Zhang Y, Ingram DA, Murphy MP, Saadatzadeh MR, Mead LE, Prater DN, Rehman J. Release of proinflammatory mediators and expression of proinflammatory adhesion molecules by endothelial progenitor cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009; 296: H1675-H1682.
48. Takahashi T, Kalka C, Masuda H, Chen D, Silver M, Kearney M, Magner M, Isner JM, Asahara T. Ischemia- and cytokine-induced mobilization of bone marrow-derived endothelial progenitor cells for neovascularization. *Nat Med* 1999; 5: 434-438.
49. Rosenzweig A. Endothelial progenitor cells. *N Engl J Med* 2003; 348: 581-582.
50. Werner N, Junk S, Laufs U, Link A, Walenta K, Bohm M, Nickenig G. Intravenous transfusion of endothelial progenitor cells reduces neointima formation after vascular injury. *Circ Res* 2003; 93: e17-e24.
51. Tepper OM, Capla JM, Galiano RD, Ceradini DJ, Callaghan MJ, Kleinman ME, Gurtner GC. Adult vasculogenesis occurs through in situ recruitment, proliferation, and tubulization of circulating bone marrow-derived cells. *Blood* 2005; 105: 1068-1077.
52. Lerman A, Zeiher AM. Endothelial function: cardiac events. *Circulation* 2005; 111: 363-368.

53. Urbich C, Dimmeler S. Endothelial progenitor cells: characterization and role in vascular biology. *Circ Res* 2004; 95: 343-353.
54. Hill JM, Zalos G, Halcox JP, Schenke WH, Waclawiw MA, Quyyumi AA, Finkel T. Circulating endothelial progenitor cells, vascular function, and cardiovascular risk. *N Engl J Med* 2003; 348: 593-600.
55. Schmidt-Lucke C, Rössig L, Fichtlscherer S, Vasa M, Britten M, Kämper U, Dimmeler S, Zeiher AM. Reduced number of circulating endothelial progenitor cells predicts future cardiovascular events: proof of concept for the clinical importance of endogenous vascular repair. *Circulation* 2005; 111: 2981-2987.
56. Moreno PR, Sanz J, Fuster V. Promoting mechanisms of vascular health: circulating progenitor cells, angiogenesis, and reverse cholesterol transport. *J Am Coll Cardiol* 2009; 53: 2315-2323.
57. Pacilli A, Faggioli G, Stella A, Pasquinelli G. An update on therapeutic angiogenesis for peripheral vascular disease. *Ann Vasc Surg* 2010; 24: 258-268.
58. Tongers J, Roncalli JG, Losordo DW. Role of endothelial progenitor cells during ischemia-induced vasculogenesis and collateral formation. *Microvasc Res* 2010; 79: 200-206.
59. Crosby JR, Kaminski WE, Schattman G, Martin PJ, Raines EW, Seifert RA, Bowen-Pope DF. Endothelial cells of hematopoietic origin make a significant contribution to adult blood vessel formation. *Circ Res* 2000; 87: 728-730.

60. Vasa M, Fichtlscherer S, Aicher A, Adler K, Urbich C, Martin H, Zeiher AM, Dimmeler S. Number and migratory activity of circulating endothelial progenitor cells inversely correlate with risk factors for coronary artery disease. *Circ Res* 2001; 89: E1-E7.
61. Asahara T, Murohara T, Sullivan A, Silver M, van der Zee R, Li T, Witzenbichler B, Schatteman G, Isner JM. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science* 1997; 275: 964-967.
62. Civin CI, Strauss LC, Brovall C, Fackler MJ, Schwartz JF, Shaper JH. Antigenic analysis of hematopoiesis. III. A hematopoietic progenitor cell surface antigen defined by a monoclonal antibody raised against KG-1a cells. *J Immunol* 1984; 133(1):157-65.
63. Tindle RW, Nichols RA, Chan L, Campana D, Catovsky D, Birnie GD. A novel monoclonal antibody BI-3C5 recognises myeloblasts and non-B non-T lymphoblasts in acute leukaemias and CGL blast crises, and reacts with immature cells in normal bone marrow. *Leuk Res* 1985;9(1):1-9.
64. Andrews RG, Singer JW, Bernstein ID. Precursors of colony-forming cells in humans can be distinguished from colony-forming cells by expression of the CD33 and CD34 antigens and light scatter properties. *J Exp Med* 1989;169(5):1721-31.
65. Baumhueter S, Dybdal N, Kyle C, Lasky LA. Global vascular expression of murine CD34, a sialomucin-like endothelial ligand for L-selectin. *Blood* 1994;84(8):2554-65.
66. Berenson RJ, Andrews RG, Bensinger WI, Kalamasz D, Knitter G, Buck-

- ner CD, Bernstein ID. Antigen CD34+ mar- row cells engraft lethally irradiated baboons. *J Clin Invest* 1988;81(3):951-5.
67. Ema H, Suda T, Miura Y, Nakauchi H. Colony formation of clone-sorted human hematopoietic progenitors. *Blood* 1990; 75(10):1941-6.
68. Fina L, Molgaard HV, Robertson D, Bradley NJ, Monaghan P, Delia D, et al. Expression of the CD34 gene in vascular endothelial cells. *Blood* 1990;75(12):2417-26.
69. Nielsen JS, McNagny KM. Novel functions of the CD34 family. *J Cell Sci* 2008;121(Pt 22):3683-92.
70. Furness SG, McNagny K. Beyond mere markers: functions for CD34 family of sialomucins in hematopoiesis. *Immunol Res* 2006;34(1):13-32.
71. Cheng J, Baumhueter S, Cacalano G, Carver-Moore K, Thibodeaux H, Thomas R, et al. Hematopoietic defects in mice lacking the sialomucin CD34. *Blood* 1996;87(2):479-90.
72. Doyonnas R, Nielsen JS, Chelliah S, Drew E, Hara T, Miyajima A, McNagny KM. Podocalyxin is a CD34-related marker of murine hematopoietic stem cells and embryonic erythroid cells. *Blood* 2005;105(11):4170-8.
73. Suzuki A, Andrew DP, Gonzalo JA, Fukumoto M, Spellberg J, Hashiyama M, et al. CD34-deficient mice have reduced eosinophil accumulation after allergen exposure and show a novel crossreactive 90-kD protein. *Blood* 1996;87(9):3550-62.

74. Oostendorp RA, Harvey KN, Kusadasi N, de Bruijn MF, Saris C, Ploemacher RE, et al. Stromal cell lines from mouse aorta-gonadomesonephros subregions are potent supporters of hematopoietic stem cell activity. *Blood* 2002;99(4):1183-9.
75. Ohneda O, Fennie C, Zheng Z, Donahue C, La H, Villacorta R, et al. Hematopoietic stem cell maintenance and differentiation are supported by embryonic aorta-gonad-mesonephros region-derived endothelium. *Blood* 1998;92(3):908-19.
76. Wood HB, May G, Healy L, Enver T, Morriss-Kay GM. CD34 expression patterns during early mouse development are related to modes of blood vessel formation and reveal additional sites of hematopoiesis. *Blood* 1997;90(6):2300-11.
77. Tavian M, Coulombel L, Luton D, Clemente HS, Dieterlen-Lievre F, Peault B. Aorta-associated CD34⁺ hematopoietic cells in the early human embryo. *Blood* 1996;87(1):67-72.
78. Fennie C, Cheng J, Dowbenko D, Young P, Lasky LA. CD34⁺ endothelial cell lines derived from murine yolk sac induce the proliferation and differentiation of yolk sac CD34⁺ hematopoietic progenitors. *Blood* 1995;86(12):4454-67.
79. Lin G, Finger E, Gutierrez-Ramos JC. Expression of CD34 in endothelial cells, hematopoietic progenitors and nervous cells in fetal and adult mouse tissues. *Eur J Immunol* 1995;25 (6):1508-16.
80. Young PE, Baumhueter S, Lasky LA. The sialomucin CD34 is expressed

- on hematopoietic cells and blood vessels during murine development. *Blood* 1995;85(1):96-105.
81. Kalaria RN, Kroon SN. Expression of leukocyte antigen CD34 by brain capillaries in Alzheimer's disease and neurologically normal subjects. *Acta Neuropathol* 1992;84(6):606-12.
 82. Nakayama H, Enzan H, Miyazaki E, Kuroda N, Naruse K, Hiroi M. Differential expression of CD34 in normal colorectal tissue, peritumoral inflammatory tissue, and tumour stroma. *J Clin Pathol* 2000;53(8):626-9.
 83. Delia D, Lampugnani MG, Resnati M, Dejana E, Aiello A, Fontanella E, et al. CD34 expression is regulated reciprocally with adhesion molecules in vascular endothelial cells in vitro. *Blood* 1993;81(4):1001-8.
 84. Valgimigli M, Rigolin GM, Fucili A, Porta MD, Soukhomovskaia O, Malagutti P, Bugli AM, Bragotti LZ, Francolini G, Mauro E, Castoldi G, Ferrari R. CD34+ and endothelial progenitor cells in patients with various degrees of congestive heart failure. *Circulation*. 2004;110(10): 1209-12. Epub 2004 Jul 12.
 85. Theiss HD, David R, Engelmann MG, Barth A, Schotten K, Naebauer M, Reichart B, Steinbeck G, Franz WM. Circulation of CD34+ progenitor cell populations in patients with idiopathic dilated and ischaemic cardiomyopathy (DCM and ICM). *Eur Heart J*. 2007;28(10):1258-64. Epub 2007 Mar 29.
 86. Fritzenwanger M, Lorenz F, Jung C, Fabris M, Thude H, Barz D, Figulla H.R. Differential number of CD34+/CD133+ cells in peripheral blood of pa-

- tients with congestive heart failure. *Eur J Med Res* (2009) 14: 113-117.
87. Shaffer RG, Greene S, Arshi A, Supple G, Bantly A, Moore JS, Mohler ER 3rd. Flow cytometric measurement of circulating endothelial cells: the effect of age and peripheral arterial disease on baseline levels of mature and progenitor populations. *Cytometry B Clin Cytom.* 2006 70:56-62.
 88. Scheubel RJ, Zorn H, Silber RE, Kuss O, Morawietz H, Holtz J, Simm A. Age-dependent depression in circulating endothelial progenitor cells in patients undergoing coronary artery bypass grafting. *J Am Coll Cardiol.* 2003; 42(12):2073-80.
 89. Heeschen C, Lehmann R, Honold J, Assmus B, Aicher A, Walter DH, Martin H, Zeiher AM, Dimmeler S. Profoundly reduced neovascularization capacity of bone marrow mononuclear cells derived from patients with chronic ischemic heart disease. *Circulation.* 2004;109(13):1615-22. Epub 2004 Mar 22.
 90. Iversen PO, Woldbaek PR, Tønnessen T, Christensen G. Decreased hematopoiesis in bone marrow of mice with congestive heart failure. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2002;282(1):R166-72.
 91. Geft D, Schwartzberg S, Rogowsky O, Finkelstein A, Ablin J, Maysel-Auslender S, Wexler D, Keren G, George J. Circulating apoptotic progenitor cells in patients with congestive heart failure. *PLoS ONE.* 2008 Sep 18;3(9): e3238.
 92. Nonaka-Sarukawa M, Yamamoto K, Aoki H, Nishimura Y, Tomizawa H, Ichida M, Eizawa T, Muroi K, Ikeda U, Shimada K. Circulating endothelial

- progenitor cells in congestive heart failure. *Int J Cardiol* 2007; 119: 344-348.
93. Carvalho VO, Ruiz MA, Bocchi EA, Carvalho VO, Guimarães GV. Correlation between CD34+ and exercise capacity, functional class, quality of life and norepinephrine in heart failure patients. *Cardiol J* 2009; 16: 426-431.
94. Bry M, Kivela R, Leppanen V-M, Alitalo K. Vascular endothelial growth factor-B in physiology and disease. *Physiol Rev* 94:779-794,2014. doi: 10.1152/physrev.00028.2013.
95. Leung DW, Cachianes G, Kuang WJ, Goeddel DV, and Ferrara N. Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen. *Science* 244: 1306–1309, 1989.
96. D'Amore PA and Thompson RW. Mechanisms of angiogenesis. *Annu Rev Physiol* 49: 453–464, 1987.
97. Baumgartner I, Pieczek A, Manor O, Blair R, Kearney M, Walsh K, and Isner JM. Constitutive expression of phVEGF165 following intramuscular gene transfer promotes collateral vessel development in patients with critical limb ischemia. *Circulation* 97: 1114–1123, 1998.
98. Takeshita S, Tsurumi Y, Couffinahl T, Asahara T, Bauters C, Symes JF, Ferrara N, and Isner JM. Gene transfer of naked DNA encoding for three isoforms of vascular endothelial growth factor stimulates collateral development in vivo. *Lab Invest* 75: 487–502, 1996.

99. Losordo DW, Vale PR, Symes JF, Dunnington CH, Eskof DD, Maysky M, Ashare AB, Lathi K, and Isner JM. Gene therapy for myocardial angiogenesis: initial clinical results with direct myocardial injection of phVEGF165 as sole therapy for myocardial ischemia. *Circulation* 98: 2800 – 2804, 1998.
100. Yang Y, Min J-Y, Rana J, Ke Q, Cai J, Chen Y, Morgan J, Xiao Y-F. VEGF enhances functional improvement of postinfarcted hearts by transplantation of ESC-differentiated cells. *J Appl Physiol* 93: 1140–1151, 2002.
101. Ylä-Herttuala S, Rissanen TT, Vajanto I, Hartikainen J. Vascular endothelial growth factors: biology and current status of clinical applications in cardiovascular medicine. *J Am Coll Cardiol.*49,1015-1026, 2007.
102. Poltorak Z, Cohen T, Neufeld G. The VEGF splice variants: properties, receptors, and usage for the treatment of ischaemic diseases. *Herz.* 25, 126-129, 2000.
103. Houck KA et al. The vascular endothelial growth factor family: identification of a fourth molecular species and characterization of alternative splicing of RNA. *Mol. Endocrinol.* 5, 1806-1814, 1991.
104. Houck KA, Leung DW, Rowland AM, Winer J, Ferrara N. Dual regulation of vascular endothelial growth factor bioavailability by genetic and proteolytic mechanisms. *J Biol. Chem.* 267, 26031-26037, 1992.
105. Park JE, Keller GA, Ferrara N. The vascular endothelial growth factor (VEGF) isoforms: differential deposition into the subepithelial extracellular matrix and bioactivity of extracellular matrix-bound VEGF. *Mol. Biol. Cell.*

- 4, 1317-1326, 1993.
106. Fong GH, Rossant J, Gertsenstein M, Breitman ML. Role of the Flt-1 receptor tyrosine kinase in regulating the assembly of vascular endothelium. *Nature*. 376, 66-70, 1995.
 107. Huang K, Andersson C, Roomans GM, Ito N, Claesson –Welsh L. Signaling properties of VEGF receptor-1 and -2 homo- and heterodimers. *Int. J. Biochem. Cell. Boil.* 33, 315-324, 2001.
 108. Taimeh Z, Loughran J, Birks EJ, Bolli R. Vascular endothelial growth factor in heart failure. *Nat. Rev. Cardiol.* 10, 519-530, 2013.
 109. Coats AJ, Adamopoulos S, Meyer TE, Conway J, Sleight P. Effects of physical training in chronic heart failure. *Lancet*. 1990;335(8681):63-6.
 110. Francis DP, Shamin W, Davies LC et al. Cardiopulmonary exercise testing for prognosis in chronic heart failure: continuous and independent prognostic value from VE/VCO₂ slope and peak VO₂. *Eur Heart J*. 2000;21(2):154-61.
 111. Mancini DM, Eisen H, Kussmaul W, Mull R, Edmunds LH Jr, Wilson JR. Value of peak exercise oxygen consumption for optimal timing of cardiac transplantation in ambulatory patients with heart failure. *Circulation*. 1991;83(3):778-86.
 112. McMurray JJ, Adamopoulos S, Anker SD et al. ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure

- 2012 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur J Heart Fail.* 2012 Aug;14(8):803-69.
113. Lindenfeld J, Albert NM, Boehmer JP, Collins SP, Ezekowitz JA, Givertz MM, Klapholz M, Moser DK, Rogers JG, Starling RC, Stevenson WG, Tang WHW, Teerlink JR, Walsh MN. Executive Summary: HFSA 2010 Comprehensive Heart Failure Practice Guideline. *J Card Fail.* 2010;16:475-539.
114. Kitzman DW, Little WC, Brubaker PH, Anderson RT, Hundley WG, Marburger CT, Brosnihan B, Morgan TM, Stewart KP. Pathophysiological characterization of isolated diastolic heart failure in comparison to systolic heart failure. *JAMA.* 2002;288:2144-2150.
115. Downing J, Balady GJ. The role of exercise training in heart failure. *J Am Coll Cardiol.* 2011;58:561-569.
116. Ades PA, Keteyian SJ, Balady GJ, Houston-Miller N, Kitzman DW, Mancini DM, Ritch MW. Cardiac rehabilitation exercise and self-care for chronic heart failure. *JACC Heart Fail.* 2013;1:540-547.
117. Sullivan MJ, Knight JD, Higginbotham MB, Cobb FR. Relation between central and peripheral hemodynamics during exercise in patients with chronic heart failure. Muscle blood flow is reduced with maintenance of arterial perfusion pressure. *Circulation.* 1989;80:769-781.
118. Kitzman DW, Higginbotham MB, Cobb FR, Sheikh KH, Sullivan MJ. Exercise intolerance in patients with heart failure and preserved left ventricular

- systolic function: failure of the Frank-Starling mechanism. *J Am Coll Cardiol.* 1991;17:1065-1072.
119. Borlaug BA, Olson TP, Lam CS, Flood KS, Lerman A, Johnson BD, Redfield MM. Global cardiovascular reserve dysfunction in heart failure with preserved ejection fraction. *J Am Coll Cardiol.* 2010;56:845-854.
 120. Sullivan MJ, Higginbotham MB, Cobb FR. Exercise training in patients with severe left ventricular dysfunction. Hemodynamic and metabolic effects. *Circulation.* 1988;78:506-515.
 121. Coats AJ, Adamopoulos S, Radaelli A, McCance A, Meyer TE, Bernardi L, Solda PL, Davey P, Ornerod O, Forfar C. Controlled trial of physical training in chronic heart failure. Exercise performance, hemodynamics, ventilation, and autonomic function. *Circulation.* 1992;85:2119-2131.
 122. Haykowsky MJ, Brubaker PH, Stewart KP, Morgan TM, Eggebeen J, Kitzman DW. Effect of endurance training on the determinants of peak exercise oxygen consumption in elderly patients with stable compensated heart failure and preserved ejection fraction. *J Am Coll Cardiol.* 2012;60:120-128.
 123. Fujimoto N, Prasad A, Hastings JL, Bhella PS, Shibata S, Palmer D, Levine BD. Cardiovascular effects of 1 year of progressive endurance exercise training in patients with heart failure with preserved ejection fraction. *Am Heart J.* 2012;164:869-877.
 124. Wiener DH, Fink LI, Maris J, Jones RA, Chance B, Wilson JR. Abnormal skeletal muscle bioenergetics during exercise in patients with heart failure:

- role of reduced muscle blood flow. *Circulation*.1986;73:1127-1136.
125. Massie BM, Conway M, Rajagopalan B, Yonge R, Frostick S, Ledingham J, Sleight P, Radda G. Skeletal muscle metabolism during exercise under ischemic conditions in congestive heart failure. Evidence for abnormalities unrelated to blood flow. *Circulation*, 1988;78:320-326.
 126. Maskin CS, Forman R, Sonnenbick EH, Frishman WH, JeJemtel TH. Failure of dobutamine to increase exercise capacity despite hemodynamic improvement in severe chronic heart failure. *Am J Cardiol*. 1983;51:177-182.
 127. Wilson JR, Martin JL, Ferraro N, Weber KT. Effect of hydralazine on perfusion and metabolism in the leg during upright bicycle exercise in patients with heart failure. *Circulation*. 1983;68:425-432.
 128. Esposito F, Reese V, Shabetai R, Wagner PD, Richardson RS. Isolated quadriceps training increases maximal exercise capacity in chronic heart failure: the role of skeletal muscle convective and diffusive oxygen transport. *J Am Coll Cardiol*. 2011;58:1353-1362.
 129. Poole DC, Hirai DM, Copp SW, Musch TI. Muscle oxygen transport and utilization in heart failure: implications for exercise (in)tolerance. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2012;302:H1050-H1063.
 130. Keteyian SJ, Levine AB, Brawner CA, et al. Exercise training in patients with heart failure. A randomized, controlled trial. *Annals Internal Med*. 1996;124(12):1051-7.
 131. Papathanasiou G, Tsamis N, Georgiadou P, Adamopoulos S. Beneficial

- effects of physical training and methodology of exercise prescription in patients with heart failure. *Hellenic J Cardiol.* 2008;49(4):267-77.
132. Belardinelli R, Georgiou D, Cianci G, Pucaro A. Randomized, controlled trial of long-term moderate exercise training in chronic heart failure: effects on functional capacity, quality of life, and clinical outcome. *Circulation.* 1999;99(9):1173-82.
 133. Horning B, Maier V, Drexler H. Physical training improves endothelial function in patients with chronic heart failure. *Circulation.* 1996;93(2):210-4.
 134. Hambrecht R, Gielen S, Linke A, et al. Effects of exercise training on left ventricular function and peripheral resistance in patients with chronic heart failure: a randomized trial. *JAMA.*2000;283(23):3095-101.
 135. Piepoli MF, Davos C, Francis DP, Coats AJ. Exercise training meta-analysis of trials in patients with chronic heart failure (ExTraMATCH). *BMJ.* 2004;328(7433):189.
 136. O'Connor CM, Whellan DJ, Lee KL, Keteyian SJ, Cooper LS, Ellis SJ, Leifer ES, Kraus WE, Kitzman DW, Blumenthal JA, Rendall DS, Miller NH, Fleg JL, Schulman KA, McKelvie RS, Zannad F, Piñ a IL; HF-ACTION Investigators. Efficacy and safety of exercise training in patients with chronic heart failure: HF-ACTION randomized controlled trial. *JAMA* 2009;301:1439–1450.
 137. Mammi C, Ia Sala A, Volterrani M, Gatta L, Antelmi A, Feraco A, Caminiti G, Marazzi G, Vitale C, Caprio M, Rosanzo GM. Exercise training reduces serum capacity to induce endothelial cell death in patients with chronic

- heart failure. *Eur J Heart Fail.* 2011 Jun;13(6): 642-50.
138. Gary RA, Sueta CA, Doughetty M, Rosenberg B, Cheek D, Preisser J, Neelon V, McMurray R. Home-based exercise improves functional performance and quality of life in women with diastolic heart failure. *Heart Lung.* 2004 Jul-Aug;33(4):210-8.
139. Leosco D, Rengo G, Iaccarino G, Golino L, Marchese M, Fortunato F, Zin-carelli C, Sanzari E, Ciccarelli M, Galasso G, Altobelli GG, Conti V, Ma-trone G, Cimini V, Ferrara N, Filippelli A, Koch WJ, Rengo F. Exercise promotes angiogenesis and improves beta-adrenergic receptor signalling in the post-ischaemic failing rat heart. *Cardiovasc Res.* 2008 May 1;78(2):385-94.
140. Leone AM, Valgimigli M, Giannico MB, Zaccone V, Perfetti M, D’Amario D, Rebuzzi AG, Crea F. From bone marrow to the arterial wall: the ongoing tale of endothelial progenitor cells. *Eur Heart J.* 2009 Apr;30(8):890-9.
141. Ribeiro F, Ribeiro IP, Alves AJ, do Céu Monteiro M, Oliveira NL, Oliveira J, Amado F, Remião F, Duarte JA. Effects of exercise training on endothelial progenitor cells in cardiovascular disease: a systematic review. *Am J Phys Med Rehabil.* 2013 Nov;92(11):1020-30.
142. Laufs U, Werner N, Link A, Endres M, Wassmann S, Jürgens K, Miche E, Böhm M, Nickenig G. Physical training increases endothelial progenitor cells, inhibits neointima formation, and enhances angiogenesis. *Circulation.* 2004 Jan 20;109(2):220-6.
143. Hoetzer GL, Van Guilder GP, Imiger HM, Keith RS, Stauffer BL, DeSouza

- CA. Aging, exercise, and endothelial progenitor cell clonogenic and migratory capacity in men. *J Appl Physiol* (1985). 2007 Mar;102(3):847-52.
144. Van Craenenbroeck EM, Vrints CJ, Haine SE, Vermeulen K, Goovaerts I, Van Tendeloo VF, Hoymans VY, Conraads VM. A maximal exercise bout increases the number of circulating CD34+/KDR+ endothelial progenitor cells in healthy subjects. Relation with lipid profile. *J Appl Physiol* (1985). 2008 Apr;104(4):1006-13.
145. Jenkins NT, Witkowski S, Spangenburg EE, Hagberg JM. Effects of acute and chronic endurance exercise on intracellular nitric oxide in putative endothelial progenitor cells: role of NADPH oxidase. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2009 Nov;297(5):H1798-805.
146. Koller A, Huang A, Sun D, Kaley G. Exercise training augments flow-dependent dilation in rat skeletal muscle arterioles. Role of endothelial nitric oxide and prostaglandins. *Circ Res*. 1995 Apr;76(4):544-50.
147. Cooke JP, Dzau VJ. Nitric oxide synthase: role in the genesis of vascular disease. *Annu Rev Med*. 1997;48:489-509.
148. Kojda G, Cheng YC, Burchfield J, Harrison DG. Dysfunctional regulation of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) expression in response to exercise in mice lacking one eNOS gene. *Circulation*. 2001 Jun 12;103(23):2839-44.
149. Aicher A, Heeschen C, Mildner-Rihm C, Urbich C, Ihling C, Technau-Ihling K, Zeiher AM, Dimmeler S. Essential role of endothelial nitric oxide synthase for mobilization of stem and progenitor cells. *Nat Med*. 2003

Nov;9(11):1370-6.

150. Rehman J, Li J, Parvathaneni L, Karlsson G, Panchal VR, Temm CJ, Mahenthiran J, March KL. Exercise acutely increases circulating endothelial progenitor cells and monocyte-/macrophage-derived angiogenic cells. *J Am Coll Cardiol*. 2004 Jun 16;43(12):2314-8.
151. Szmitko PE, Fedak PW, Weisel RD, Stewart DJ, Kutryk MJ, Verma S. Endothelial progenitor cells: new hope for a broken heart. *Circulation*. 2003 Jun 24;107(24):3093-100.
152. Angoletti L, Curello S, Bachetti T, Malacarne F, Gaia G, Comini L, et al. Serum from patients with severe heart failure downregulates eNOS and is proapoptotic: role of tumor necrosis factor-alpha. *Circulation*. 100, 1983-1991.
153. Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med*. 1999 Jan 14;340(2):115-26.
154. Brevetti G, Piscione F, Cirillo P, Galasso G, Schiano V, Barbato E, Scopacasa F, Chiariello M. In concomitant coronary and peripheral arterial disease, inflammation of the affected limbs predicts coronary artery endothelial dysfunction. *Atherosclerosis*. 2008 Dec;201(2):440-6.
155. Galasso G, Schiekofer S, Sato K, Shibata R, Handy DE, Ouchi N, Leopold JA, Loscalzo J, Walsh K. Impaired angiogenesis in glutathione peroxidase-1-deficient mice is associated with endothelial progenitor cell dysfunction. *Circ Res*. 2006 Feb 3;98(2):254-61.

156. Raes M, Michiels C, Remacle J. Comparative study of the enzymatic defense systems against oxygen-derived free radicals: the key role of glutathione peroxidase. *Free Radic. Biol. Med.* 3, 3-7.
157. Fukai T, Siegfried MR, Ushio-Fukai M, Cheng Y, Kojda G, Harrison DG. Regulation of the vascular extracellular superoxide dismutase by nitric oxide and exercise training. *J. Clin. Invest.* 105, 1631-39.
158. Sarto P, Balducci E, Balconi G, Fiordaliso F, Merlo L, Tuzzato G, Pappagallo GL, Frigato N, Zanocco A, Forestieri C, Azzarello G, Mazzucco A, Valenti MT, Alborino F, Noventa D, Vinante O, Pascotto P, Sartore S, Dejana E, Latini R. Effects of exercise training on endothelial progenitor cells in patients with chronic heart failure. *J Card Fail.* 2007; 13:701-708.
159. Van Craenenbroeck EM, Hoymans VY, Beckers PJ, Possemiers NM, Wuyts K, Paelinck BP, Vrints CJ, Conraads VM. Exercise training improves function of circulating angiogenic cells in patients with chronic heart failure. *Basic Res Cardiol.* 2010;105:665-676.
160. Gatta L, Armani A, Iellamo F, Consoli C, Molinari F, Caminiti G, Volterrani M, Rosano GM. Effects of a short-term exercise training on serum factors involved in ventricular remodelling in chronic heart failure patients. *Int J Cardiol* 2012; 155: 409-413.
161. Mezzani A, Grassi B, Jones AM, Giordano A, Corrà U, Porcellini S, Della Bella S, Taddeo A, Giannuzzi P. Speeding of pulmonary VO₂ on-kinetics by light-to-moderate-intensity aerobic exercise training in chronic heart failure: Clinical and pathophysiological correlates. *Int J Cardiol* 2012 Jun

15; Epub ahead of print.

162. Sandri M, Viehmann M, Adams V, Rabald K, Mangner N, Höllriegel R, Lurz P, Erbs S, Linke A, Kirsch K, Möbius-Winkler S, Thiery J, Teupser D, Hambrecht R, Schuler G, Gielen S. Chronic heart failure and aging - effects of exercise training on endothelial function and mechanisms of endothelial regeneration: Results from the Leipzig Exercise Intervention in Chronic heart failure and Aging (LEICA) study. *Eur J Prev Cardiol.* 2016 Mar;23(4):349-58.
163. Ikeda N, Yasu T, Kubo N, Nakamura T, Sugawara Y, Ueda S, Ishikawa SE, Saito M, Kawakami M, Momomura S. Daily exercise and bone marrow-derived CD34+/133+ cells after myocardial infarction treated by bare metal stent implantation. *Circ J.* 2008 Jun;72(6):897-901.
164. Manfredini F, Rigolin GM, Malagoni AM, Catizone L, Mandini S, Soffritti O, Mauro E, Soffritti S, Boari B, Cuneo A, Zamboni P, Manfredini R. Exercise training and endothelial progenitor cells in haemodialysis patients. *J Int Med Res* 2009; 37: 534-540
165. Erbs S, Höllriegel R, Linke A, Beck EB, Adams V, Gielen S, Möbius-Winkler S, Sandri M, Kränkel N, Hambrecht R, Schuler G. Exercise training in patients with advanced chronic heart failure (NYHA IIIb) promotes restoration of peripheral vasomotor function, induction of endogenous regeneration, and improvement of left ventricular function. *Circ Heart Fail* 2010; 3: 486-494.
166. Gustafsson T, Bodin K, Sylvén C, Gordon A, Tyni-Lenné R, Jansson E.

- Increased expression of VEGF following exercise training in patients with heart failure. *Eur J Clin Invest.* 2001 Apr;31(4):362-6.
167. Esposito F, Mathieu-Costello O, Entin PL, Wagner PD, Richardson RS. The skeletal muscle VEGF mRNA response to acute exercise in patients with chronic heart failure. *Growth Factors.* 2010 Apr;28(2):139-47.
168. Ceccato RB, Maximimo JR, Chadi G. Motor recovery and cortical plasticity after functional electrical stimulation in a rat model of focal stroke. *Am J Phys Med Rehabil.* 2014;93:791-800.
169. Becker D, Gary DS, Rosenzweig ES, Grill WM, McDonald JW. Functional electrical stimulation helps replenish progenitor cells in the injured spinal cord of adult rats. *Exp Neurol.* 2010;222:211-8.
170. Maillefert JF, Eicher JC, Walker P, Dulieu V, Rouhier-Marcet I, Branly F, Cohen M, Brunotte F, Wolf JE, Casillas JM, Didier JP. Effects of low-frequency electrical stimulation of quadriceps and calf muscles in patients with chronic heart failure. *J Cardiopulm Rehabil.* 1998 Jul-Aug;18(4):277-82.
171. Quittan M, Sochor A, Wiesinger GF, Kollmitzer J, Sturm B, Pacher R, Mayr W. Strength improvement of knee extensor muscles in patients with chronic heart failure by neuromuscular electrical stimulation. *Artif Organs.* 1999 May;23(5):432-5.
172. Nurh M, Crevenna R, Gohlsch B, Bittner C, Pleiner J, Wiesinger G, Fiala-Moser V, Quittan M, Pette D. Functional and biochemical properties of chronically stimulated human skeletal muscle. *Eur J Appl Physiol.* 2003

Apr;89(2):202-8.

173. Harris S, LeMaitre JP, Mackenzie G, Fox KA, Denvir MA. A randomized study of home-based electrical stimulation of the legs and conventional bicycle exercise training for patients with chronic heart failure. *Eur Heart J*. 2003 May;24(9):871-8.
174. Deley G, Kervio G, Verges B, Hannequin A, Petitdant MF, Salmi-Belmihoub S, Grassi B, Casillas JM. Comparison of low-frequency electrical myostimulation and conventional aerobic exercise training in patients with chronic heart failure. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*. 2005 Jun;12(3):226-33.
175. Nuhr MJ, Pette D, Berger R, Quittan M, Crevenna R, Huelsman M, Wiesinger GF, Moser P, Fialka-Moser V, Pacher R. Beneficial effects of chronic low-frequency stimulation of thigh muscles in patients with advanced chronic heart failure. *Eur Heart J*. 2004 Jan;25(2):136-43.
176. Karavidas A, Parissis J, Arapi S, Farmakis D, Korres D, Nikolaou M, Fotiadis J, Potamitis N, Driva X, Paraskevoidis I, Matsakas E, Filippatos G, Kremastinos DT. Effects of functional electrical stimulation on quality of life and emotional stress in patients with chronic heart failure secondary to ischaemic or idiopathic dilated cardiomyopathy: a randomized placebo-controlled trial. *Eur J Heart Fail*. 2008 Jul;(7):709-13.
177. Deftereos S, Giannopoulos G, Raisakis K, Kossyvakis C, Kaoukis A, Driva M, Pappas L, Panagopoulou V, Ntzouvara O, Karavidas A, Pyrgakis V, Rentoukas I, Aggeli C, Stefanadis C. *Am J Cardiol*. 2010 Dec

1;106(11):1621-5.

178. Karavidas A, Driva M, Parissis JT, Farmakis D, Mantzaraki V, Varounis C, Paraskevaïdis I, Ikonomidis I, Prgakis V, Anastasiou-Nana M, Filippatos G. Functional electrical stimulation of peripheral muscles improves endothelial function and clinical and emotional status in heart failure patients with preserved left ventricular ejection fraction. *Am Heart J.* 2013 Oct;166(4):760-7.
179. Smart NA, Dieberg G, Giallauria F. Functional electrical stimulation for chronic heart failure: a meta-analysis. *Int J Cardiol.* 2013 Jul 15;167(1) 80-6.
180. Ingle L, Shelton RJ, Rigby AS, Nabb S, Clark AL, Cleland JG. The reproducibility and sensitivity of the 6-min walk test in elderly patients with chronic heart failure. *Eur Heart J.* 2005 Sep;26(17):1742-51.
181. Ingle L, Wilkinson M, Carroll S, Boyes C, Butterly, King R, Cooke C, Cleland J, Clark A. Cardiorespiratory requirements of the 6-min walk test in older patients with left ventricular systolic dysfunction and no major structural heart disease. *Int J Sports Med.* 2007 Aug 28(8):678-84.
182. Haass M, Zugck C, Kübler W. The 6 minute walking test: a cost-effective alternative to spiro-ergometry in patients with chronic heart failure? *Z Kardiol.* 2000 Feb;89(2):72-80.
183. Ingle L, Cleland JG, Clark AL. The relation between repeated 6-minute walk test performance and outcome in patients with chronic heart failure. *Ann Phys Rehabil Med.* 2014 Jyn;57(4):244-53.

184. Ingle L, Rigby AS, Carroll S, Butterly R, King RF, Cooke CB, Cleland JG, Clark AL. Prognostic value of the 6 min walk test and self-perceived symptom severity in older patients with chronic heart failure. *Eur Heart J*. 2007 Mar;28(5):560-8.
185. Mangla A, Kane J, Beaty E, Richardson D, Powell LH, Calvin JE Jr. Comparison of predictors of heart failure-related hospitalization or death in patients with versus without preserved left ventricular ejection fraction. *Am J Cardiol*. 2013 Dec 15;112(12):1907-12.
186. Sullivan MJ, Higginbotham MB, Cobb FR. Exercise training in patients with severe left ventricular dysfunction. Hemodynamic and metabolic effects. *Circulation*. 1988 Sep;78(3):506-15.
187. Hanson P. Exercise testing and training in patients with chronic heart failure. *Med Sci Sports Exerc*. 1994 May;26(5):527-37. Review.
188. Hirata K, Hyoto E, Hozumi T, Kita R, Hirose M, Akanoue Y, Nishida Y, Kawarabayashi T, Yoshiyama M, Yoshikawa J, Akasaka T. Usefulness of a combination of systolic function by left ventricular ejection fraction and diastolic function by E/E' to predict prognosis in patients with heart failure. *Am J Cardiol*. 2009 May 1;103(9):1275-9.
189. Podolec P, Rubis P, Tomkiewicz-Pajak L, Kopeć G, Tracz W. Usefulness of the evaluation of left ventricular diastolic function changes during stress echocardiography in predicting exercise capacity in patients with ischemic heart failure. *J Am Soc Echocardiogr*. 2008 Jul;21(7):834-40.
190. Barnett D, Granger V, Kraan J, Whitby L, Reilly JT, Papa S, Gratama JW.

Reduction of intra- and interlaboratory variation in CD34+ stem cell enumeration using stable test material, standard protocols and targeted training. DK34 Task Force of the European Working of Clinical Cell Analysis (EWGCCA). *Br J Haematol.*2000;108:784-792.

191. Peichev M, Naiyer AJ, Pereira D, Zhu Z, Lane WJ, Williams M, Oz MC, Hicklin DJ, Witte L, Moore MA, Rafii S. Expression of VEGFR-2 and ACC133 by circulating human CD34(+) cells identifies a population of functional endothelial precursors. *Blood.*2000;95:952-958.
192. Hojo Y, Ikeda U, Zhu Y, Okada M, Ueno S, Arakawa H, Fujikawa H, Katsuki T, Shimada K. Expression of vascular endothelial growth factor in patients with acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.*2000;35:968-973.
193. Dobsak P, Novakova M et al. Electrical stimulation of skeletal muscles. An alternative to aerobic exercise in patients with chronic heart failure. *Int Heart J.*2005 May; 47(3):441-453.
194. Dobsak P, Novakova M et al. Low-frequency electrical stimulation increases muscle strength and improves blood supply in patients with chronic heart failure. *Circ J.* 2006;70: 75-82.
195. Holloway CJ, Dass S, Suttie JJ, Rider OJ, Cox P, Cochlin LE, Jackson H, Fast AM, Johnson AW, Karamitsos TD, Neubauer S, Clarke K. Exercise training in dilated cardiomyopathy improves rest and stress cardiac function without changes in cardiac high energy phosphate metabolism. *Heart.* 2012 Jul;98(14):1083-90. doi: 10.1136/heartjnl-2012-302145.

196. Koukoui F, Desmoulin F, Lairy G, Bleinc D, Boursiquot L, Galinier M, Smih F, Rouet P. Benefits of cardiac rehabilitation in heart failure patients according to etiology: INCARD French study. *Medicine (Baltimore)*. 2015 Feb;94(7):e544.
197. Smart NA, Steele M. A comparison of 16 weeks of continuous vs intermittent exercise training in chronic heart failure patients. *Congest Heart Fail*. 2012 Jul-Aug;18(4):205-11.
198. Haykowsky MJ, Timmons MP, Kruger C, McNeely M, Taylor DA, Clark AM. Meta-analysis of aerobic interval training on exercise capacity and systolic function in patients with heart failure and reduced ejection fractions. *Am J Cardiol*. 2013 May 15;111(10):1466-9.
199. Gardin JM, Leifer ES, Fleg JL, Whellan D, Kokkinos P, Leblanc MH, Wolfel E, Kitzman DW; HF-ACTION Investigators. Relationship of Doppler-Echocardiographic left ventricular diastolic function to exercise performance in systolic heart failure: the HF-ACTION study. *Am Heart J*. 2009 Oct;158(4 Suppl):S45-52.
200. Dieberg G, Ismail H, Giallauria F, Smart NA. Clinical outcomes and cardiovascular responses to exercise training in heart failure patients with preserved ejection fraction: a systematic review and meta-analysis. *J Appl Physiol (1985)*. 2015 Sep 15;119(6):726-33.
201. Fu TC, Yang NI, Wang CH, Cherng WJ, Chou SL, Pan TL, Wang JS. Aerobic Interval Training Elicits Different Hemodynamic Adaptations Between Heart Failure Patients with Preserved and Reduced Ejection Fraction. *Am*

- J Phys Med Rehabil. 2016 Jan;95(1):15-27.
202. Davis M, Espiner E, Richards G, Billings J, Town I, Neill A, Drennan C, Richards M, Turner J, Yandle T. Plasma brain natriuretic peptide in assessment of acute dyspnoea. *Lancet*. 1994 Feb 19;343(8895):440-4.
 203. Korenstein D, Wisnivesky JP, Wyer P, Adler R, Ponieman D, McGinn T. The utility of B-type natriuretic peptide in the diagnosis of heart failure in the emergency department: a systematic review. *BMC Emerg Med*. 2007 Jun 26;7:6.
 204. Ledwidge MT, O'Connell E, Gallagher J, Tilson L, James S, Voon V, Bermingham M, Tallon E, Watson C, O'Hanlon R, Barry M, McDonald K. Cost-effectiveness of natriuretic peptide-based screening and collaborative care: a report from the STOP-HF (St Vincent's Screening TO Prevent Heart Failure) study. *Eur J Heart Fail*. 2015 Jul;17(7):672-9.
 205. Ahmad T, Fiuzat M, Mark DB, Neely B, Neely M, Kraus WE, Kitzman DW, Whellan DJ, Donahue M, Zannad F, Piña IL, Adams K, O'Connor CM, Felker GM. The effects of exercise on cardiovascular biomarkers in patients with chronic heart failure. *Am Heart J*. 2014 Feb;167(2):193-202.e1.
 206. Smart NA, Meyer T, Butterfield JA, Faddy SC, Passino C, Malfatto G, Jonsdottir S, Sarullo F, Wisloff U, Vigorito C, Giallauria F. Individual patient meta-analysis of exercise training effects on systemic brain natriuretic peptide expression in heart failure. *Eur J Prev Cardiol*. 2012 Jun;19(3):428-35.
 207. Karavidas A, Parissis JT, Matzaraki V, Arapi S, Varounis C, Ikonomidis I, Grillias P, Paraskevaidis I, Pirgakis V, Filippatos G, Kremastinos DT. Func-

tional electrical stimulation is more effective in severe symptomatic heart failure patients and improves their adherence to rehabilitation programs. *J Card Fail.* 2010 Mar;16(3):244-9.

208. Don-Wauchope AC, Santaguida PL, Oremus M, McKelvie R, Ali U, Brown JA, Bustamam A, Soheli N, Hill SA, Booth RA, Balion C, Raina P. Incremental predictive value of natriuretic peptides for prognosis in the chronic stable heart failure population: a systematic review. *Heart Fail Rev.* 2014 Aug;19(4):521-40.