

Zewnętrzna kontrapulsacja w leczeniu choroby niedokrwiennej serca. Mechanizmy działania

Enhanced external counterpulsation in the treatment of ischemic heart disease. The mechanisms of action

Agata Milewska i Henryk Wysocki

Katedra i Klinika Intensywnej Terapii Kardiologicznej i Chorób Wewnętrznych
Akademii Medycznej im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Abstract

Enhanced external counterpulsation (EECP) is a new therapeutic method applied principally in patients with refractory angina.

The hemodynamic effects of the EECP consist of increased diastolic pressure, augmentation of the coronary perfusion, decreased peripheral resistance and intensified venous return. The changes result in left ventricle function improvement, lowering of natriuretic peptides production and recruitment of collateral vessels. Endothelial reactivity recovery is a result of enhanced shear stress, caused by augmented blood flow. The shear stress influenced outcomes involve enzyme activity and gene expression modifications.

The published data concerning influence of EECP on cardiovascular system seem to confirm the safety and efficiency of this method, and suggest that it represents a specific physiological therapeutic approach. (Folia Cardiol. 2004; 11: 483–488)

enhanced external counterpulsation, angiogenesis, endothelial functions

Wstęp

Kliniczne zastosowanie zewnętrznej kontrapulsacji (EECP, *enhanced external counterpulsation*) przede wszystkim dotyczy dławicy piersiowej odpornej na tradycyjną terapię. Wskazania do EECP oraz jej miejsce wśród innych metod leczenia choroby niedokrwiennej serca nie są jednak w pełni sprecyzowane. Wątpliwości dotyczące bezpieczeństwa oraz skuteczności jej stosowania można wyjaśnić, analizując mechanizm działania tej metody leczenia.

Korzystne rezultaty terapii przy zastosowaniu zewnętrznej kontrapulsacji wiążą się zarówno z poprawą hemodynamicznej czynności serca, wynikającej m.in. ze wzrostu ukrwienia mięśnia sercowego, jak i ze zmianami w obrębie krążenia obwodowego. Do końca nie poznano jeszcze mechanizmów powstania i utrzymywania się efektów leczenia. Dotychczasowe wyniki badań sugerują istnienie związku między poprawą stanu klinicznego a zmodyfikowaną czynnością lewej komory, wzrostem ciśnienia perfuzji naczyń wieńcowych, tworzeniem lub otwieraniem się naczyń krążenia obocznego, zmianami czynności wydzielniczej komórek śródbłonna oraz stężenia czynników natriuretycznych.

Naczynia wieńcowe i rozwój krążenia obocznego

Jednym z najlepiej zbadanych mechanizmów korzystnie wpływających na efekt terapii EECP jest

Adres do korespondencji: Prof. dr hab. med. Henryk Wysocki
Katedra i Klinika Intensywnej Terapii Kardiologicznej
i Chorób Wewnętrznych AM w Poznaniu
ul. Przybyszewskiego 49, 60–355 Poznań
tel. (0 61) 867 19 16, 869 13 91, faks (0 61) 869 16 89
e-mail: hwysocki@ptkardio.pl
Nadesłano: 19.02.2004 r. Przyjęto do druku: 26.03.2004 r.

poprawa perfuzji mięśnia sercowego, wynikająca ze wzrostu wartości rozkurczowego ciśnienia tętniczego krwi. Na podstawie pomiarów przeprowadzanych przy cewnikowaniu tętnic wieńcowych podczas zabiegu zewnętrznej kontrapulsacji stwierdzono wzrost ciśnienia rozkurczowego w tętnicach wieńcowych o 93% oraz zmniejszenie ciśnienia skurczowego o 12%. Porównywalne zmiany ciśnienia zaobserwowano jednocześnie w obrębie aorty. Na podstawie wewnątrznaczyniowej ultrasonografii połączonej z ultrasonografią dopplerowską wykazano również 150-procentowy wzrost szybkości przepływu krwi podczas rozkurczu serca, bez istotnej zmiany w czasie skurczu [1]. Znaczna poprawa ciśnienia perfuzji tętnic wieńcowych może powodować otwieranie światła naczyń krążenia obocznego lub powstawanie nowych naczyń. Ocena ukrwienia obszarów mięśnia sercowego zaopatrywanych przez zwężoną tętnicę wieńcową (stenoza > 90%), przeprowadzona po cyklu zabiegów zewnętrznej kontrapulsacji, potwierdza wystąpienie zjawiska angiogenezy [2]. Stosując pozytronową tomografię emisyjną (PET, *positron emission tomography*), po zakończeniu terapii EECF obserwowano istotny wzrost perfuzji mięśnia sercowego. Po podaniu dipirydamolu wzrosło ukrwienie obszarów zaopatrywanych przez zwężoną tętnicę wieńcową. Również średnia wartość perfuzji całego serca uległa znacznej poprawie, ale nastąpiło to tylko w spoczynku. Zmianom tym nie towarzyszył wzrost rezerwy wieńcowej. Poprawa ukrwienia następowała przede wszystkim w obszarach zaopatrywanych przez zwężone naczynia, co wskazywało na powstawanie nowych naczyń lub otwieranie się już istniejących. Wzrost odpowiedzi na działanie dipirydamolu, który zależy od prawidłowej czynności śródbłonna, może potwierdzać hipotezę o otwieraniu lub tworzeniu się nowych naczyń wyścielonych nieuszkodzonymi komórkami. Czas trwania standardowego cyklu zabiegów EECF wydaje się być wystarczający do uzyskania zauważalnego efektu procesu angiogenezy, zwykle trwającego kilka tygodni [3]. Czynnikiem wyzwalającym proces tworzenia się nowych naczyń jest prawdopodobnie wzrost siły oddziałującej na ściany naczyń (*shear stress*), wywołany zwiększeniem ciśnienia i szybkości przepływu krwi w tętnicach wieńcowych. *Shear stress* definiuje się jako siłę wywieraną na jednostkę powierzchni naczynia krwionośnego. Zależy on od lepkości krwi, szybkości przepływu oraz średnicy naczynia [4]. Pod wpływem *shear stress* następuje zwiększone przyleganie monocytów do ściany naczyniowej i ich stymulacja do wydzielania czynników wzrostu oraz cytokin (m.in. VEGF, *vascular endothelial growth factor*; TNF,

tumor necrosis factor). Aktywacji ulegają komórki śródbłonna produkujące bFGF (*fibroblast growth factor*) oraz TGF- β (*transforming growth factor*). Zwiększone wydzielanie czynników wzrostu prowadzi do przebudowy już istniejących naczyń z poszerzeniem ich światła lub do tworzenia nowych poprzez rozrost komórek śródbłonna i mięśni gładkich naczyń krwionośnych. Jednocześnie *shear stress* stymuluje ekspresję syntazy tlenu azotu. Tlenek azotu hamuje aktywację monocytów, płytek krwi, wytwarzanie czynników wzrostu i cytokin, przeciwdziałając rozrostowi komórek mięśni gładkich oraz śródbłonna naczyniowego [5]. Ostateczny wynik oddziaływania *shear stress* jest więc wypadkową działania poszczególnych aktywowanych mechanizmów. Udział określonych czynników w tym zjawisku może zależeć od czasu działania bodźca wywołującego, na co wskazuje istotny wzrost stężenia tlenu azotu występujący dopiero po miesiącu od zakończenia terapii EECF [2]. Zakres angiogenezy wywołanej działaniem *shear stress* zależy od liczby tętnic wieńcowych objętych istotną stenozą oraz od stopnia wywołanego wzrostu ciśnienia rozkurczowego krwi. Najwyraźniejszą poprawę ukrwienia mięśnia sercowego uzyskiwano u pacjentów ze zwężeniem tylko jednego naczynia (poprawa nastąpiła w 74% przypadków). Najgorsze wyniki obserwowano u osób z rozpoznaną chorobą trzech naczyń — wzrost perfuzji uzyskano tylko u 33% pacjentów [6]. Istotna różnica wyników leczenia może wiązać się z redukcją liczby drożnych odcinków proksymalnych tętnic wieńcowych i w rezultacie z mniejszą intensywnością *shear stress* w segmentach dystalnych.

Najlepsze efekty leczenia odnotowano także u pacjentów, u których zarówno przed terapią, jak i po niej przy zastosowaniu EECF stwierdzano wysokie wartości ciśnienia rozkurczowego [7]. Znacznie mniejszą poprawę uzyskiwano, gdy ciśnienie rozkurczowe przed leczeniem i po nim było niskie. Niniejsza zależność potwierdza związek między nasileniem *shear stress* przy wysokich wartościach ciśnienia rozkurczowego a efektami klinicznymi zewnętrznej kontrapulsacji.

Pomimo obserwowanej w tomografii emisyjnej pojedynczego fotonu (SPECT, *single photon emission computed tomography*) istotnej poprawy perfuzji mięśnia sercowego po zakończeniu EECF, w przeprowadzanej równocześnie angiografii naczyń wieńcowych nie wykazano otwierania lub powstawania nowych tętnic krążenia obocznego [8]. Rozwijające się kolaterale są więc prawdopodobnie naczyniami o bardzo małej średnicy, niewywołującymi dostrzegalnych zmian w obrazowaniu angiograficznym.

Czynność lewej komory

Wzrost obciążenia wstępnego, obniżenie oporu obwodowego oraz poprawa perfuzji naczyń krwionośnych podczas EECP nie pozostają bez wpływu na czynność lewej komory po zakończeniu leczenia. Istotne jest ustalenie, który z wymienionych czynników odgrywa główną rolę oraz na którą z faz pracy lewej komory oddziałuje w największym stopniu. Urano i wsp. [8] za pomocą angiografii radioizotopowej metodą bramkową oceniali szczytową szybkość napełniania lewej komory (PFR, *peak filling rate*), czas do jej osiągnięcia, objętość wyrzutową, częstość pracy serca, szczytową szybkość wyrzutu krwi (PER, *peak ejection rate*) oraz czas do wystąpienia PER. Po przeprowadzeniu EECP istotnie statystycznie wzrosła PFR oraz czas do jej osiągnięcia, nie wystąpiły zmiany w zakresie pozostałych mierzonych wartości. Urano i wsp. [8] zanotowali również znaczący spadek ciśnienia późnorozkurczowego lewej komory. Analiza parametrów czynności hemodynamicznej przed leczeniem i po jego zakończeniu wskazuje na poprawę relaksacji lewej komory, bez wpływu na jej kurczliwość [8]. Niewyjaśniona pozostaje kolejność zmian. Nie stwierdzono, czy poprawa perfuzji mięśnia sercowego wpływa na zmniejszenie ciśnienia późnorozkurczowego, czy też redukcja obciążeń hemodynamicznych warunkuje obniżenie napięcia ścian lewej komory, ułatwiając napływ krwi do naczyń wieńcowych.

Istotne są również zmiany kurczliwości lewej komory w czasie stosowania zewnętrznej kontrapulsacji. W przeprowadzonych badaniach objętość wyrzutowa oraz wskaźnik sercowy (objętość krwi przepompowanej w ciągu minuty w przeliczeniu na jednostkę powierzchni ciała) wzrastały podczas badania, natomiast wkrótce po jego zakończeniu wracały do wartości wyjściowych [9, 10]. Rosnące obciążenie wstępne w czasie zabiegu było czynnikiem wywołującym wzrost siły skurczu mięśnia sercowego. Efekt wzmożonej kurczliwości lewej komory bez zwiększenia zapotrzebowania na tlen (wskaźnik podwójny nie zmieniał się) możliwy był dzięki obniżeniu obciążenia następczego. Lepsza kurczliwość serca uwarunkowana jest zachowaniem poprawy perfuzji po leczeniu, a jej efekt zostaje zwielokrotniony poprzez utrzymywanie się obniżonego oporu obwodowego.

Rola czynników natriuretycznych

W następstwie zmniejszenia napięcia ścian mięśnia sercowego wywołanych terapią EECP zmieniają się stężenia czynników natriuretycznych

w osoczu. W badaniach Masudy i wsp. [2] osoczowe stężenia przedsionkowego czynnika natriuretycznego (ANP, *atrial natriuretic peptide*) oraz mózgowego czynnika natriuretycznego (BNP, *brain natriuretic peptide*) po miesiącu od zakończenia leczenia za pomocą EECP były niższe od wartości wyjściowych. Przed terapią stężenie ANP wynosiło 20 pg/ml, zaś BNP 38 pg/ml. Po tygodniu od ostatniego zabiegu EECP stężenie ANP zmniejszyło się do 11 pg/ml, a BNP do 10 pg/ml. Po miesiącu od zakończenia leczenia stężenia czynników natriuretycznych wynosiły odpowiednio 15 pg/ml i 18 pg/ml [2]. Zmniejszenie wydzielania BNP korelowało ze spadkiem późnorozkurczowego ciśnienia lewej komory, obserwowanym po zastosowaniu EECP. Jego niskie stężenie, utrzymujące się w ciągu kolejnych tygodni po zabiegu, świadczy o trwałej poprawie czynności lewej komory. W przeciwieństwie do BNP osoczowe stężenie ANP nie obniżało się bezpośrednio po zakończeniu cyklu EECP [8]. Spadek stężenia ANP w osoczu krwi obserwowano dopiero po upływie doby od ostatniego zabiegu i wiąże się on ze wzrostem obciążenia wstępnego i ciśnienia w prawym przedsionku podczas zabiegu zewnętrznej kontrapulsacji. Po zakończeniu cyklu EECP powrót żylny i napięcie ścian prawego przedsionka zmniejszają się.

Czynniki natriuretyczne wydzielane w odpowiedzi na narastające napięcie ścian serca odciążają niewydolne serce poprzez natriurezę, regulację napięcia i oporu naczyń krwionośnych, hamowanie wydzielania reniny oraz hamowanie proliferacji komórek śródbłonka [11–13]. Poprawa hemodynamiki, a przede wszystkim zmniejszenie ciśnienia wewnątrz jam serca po zastosowaniu EECP prowadzi do obniżenia stężeń ANP i BNP w osoczu.

Zmiany czynności śródbłonka naczyń krwionośnych

Po zabiegach EECP dochodzi do spadku oporu obwodowego oraz poprawy przepływu wieńcowego. W celu oceny udziału tlenu azotu w tych procesach oznaczano jego stężenie przed leczeniem oraz po cyklu zabiegów [2]. W trakcie EECP zanotowano stopniowy wzrost stężenia tlenu azotu, z maksymalnymi wartościami po upływie miesiąca od zakończenia terapii. Rozkurcz naczyń z towarzyszącym nasilonym przepływem krwi przez naczynia krwionośne podczas EECP dokonuje się najprawdopodobniej poprzez działanie tlenu azotu. Potwierdzenie tej zależności uzyskano także, badając wpływ zwiększonego przepływu krwi na reaktywną dylatację tętniczek oporowych. Reaktywne

przekrwienie tętniczek palców po zwolnieniu ucisku tętnicy ramiennej mierzono na podstawie analizy fali tętna po 1., 17. i 35. zabiegu EECP oraz po miesiącu od zakończenia terapii. W trakcie EECP oraz miesiąc po cyklu zabiegów znacznie wzrastało reaktywne przekrwienie tętniczek palców. Nasilenie odpowiedzi na zwolnienie ucisku tętnicy ramiennej następowało również u tych pacjentów, u których przed leczeniem rozkurcz naczyń w wyniku nagłego, zwiększonego przepływu krwi był upośledzony [14]. W tej grupie chorych po podaniu nitrogliceryny przed rozpoczęciem cyklu zabiegów EECP nie następował wzrost obwodowego przepływu krwi. Reakcja na działanie nitrogliceryny pojawiała się po leczeniu. Zmiana reaktywności śródbłonna może świadczyć o polepszeniu jego czynności pod wpływem terapii zewnętrzną kontrapulsacją.

W zależności od rodzaju patomechanizmu wywołującego dysfunkcję śródbłonna notuje się różnice w odpowiedzi na wzmożony przepływ krwi, na przykład pomiędzy pacjentami z nadciśnieniem tętniczym a osobami z hipercholesterolemią [15]. Reakcją wyizolowanych tętniczek zdrowych osób na rosnący *shear stress* było maksymalne poszerzenie światła naczynia, sięgające 53%. W przypadku usunięcia śródbłonna lub zastosowania N-nitro-L-argininy efekt ten zanikał. W naczyniach poddanych długotrwałemu działaniu nadciśnienia tętniczego wazodylatacja w odpowiedzi na działający bodziec wynosiła maksymalnie 27% i nie zmieniała się po podaniu N-nitro-L-argininy. W tętniczkach pacjentów z hipercholesterolemią poszerzenie światła było porównywalne z reakcją naczyń u osób zdrowych i wynosiło ok. 40%, jednak po zastosowaniu N-nitro-L-argininy odpowiedź nie zmieniała się. We wszystkich przypadkach wyizolowane naczynia krwionośne podobnie reagowały na nitroprusydek sodu, powiększając średnicę o ok. 30% [15]. Zniesienie oddziaływania *shear stress* w zdrowych naczyniach po usunięciu śródbłonna i zastosowaniu inhibitora syntezy tlenu azotu potwierdza wpływ zwiększonego przepływu krwi na wzrost produkcji tlenu azotu przez komórki endotelium. Brak reakcji naczyń pacjentów z nadciśnieniem tętniczym na rosnący *shear stress*, związany z zaburzonym uwalnianiem tlenu azotu wskazuje na niewielki udział tego czynnika w wywoływaniu korzystnego efektu leczenia zewnętrzną kontrapulsacją. U pacjentów z nadciśnieniem tętniczym poddawanych EECP można się więc spodziewać mniejszego obniżenia oporu obwodowego. Obserwowana odpowiedź naczyniowa tętniczek pacjentów z hiper-

cholesterolemią różni się od wyników prezentowanych w innych doniesieniach [16] — prawdopodobnie ze względu na odmienny charakter bodźca stymulującego wazodylatację. Czynnikiem prowokującym reakcję naczyniową nie były środki farmakologiczne, lecz siła hemodynamiczna. Opisywane zjawisko może tłumaczyć poprawę kliniczną po zabiegach EECP u osób z chorobą niedokrwienną serca oporną na leczenie farmakologiczne.

Wpływ *shear stress* na produkcję tlenu azotu zależy od rodzaju i szybkości przepływu. Korzystny efekt wywołuje jedynie laminarny, szybki przepływ, natomiast wolny przepływ turbulentny nie stymuluje czynności śródbłonna, przyczyniając się do jego dysfunkcji i zapoczątkowania procesów miażdżycowych [17, 18]. Przepływ laminarny wywołuje ekspresję innych genów niż przepływ turbulentny, ponadto zmniejsza proliferację komórek, zwiększając populację znajdującą się w fazach G₀-G₁ mitozy [19].

Shear stress, będący jednym z głównych mechanizmów działania EECP, w istotny sposób modyfikuje czynność śródbłonna w zależności od charakteru przepływu oraz czynnika zaburzającego reaktywność komórek śródbłonna. Efekty te mogą być porównywalne z wynikami ćwiczeń fizycznych, które również, zwiększając przepływ krwi, prowadzą do wzrostu fosforylacji i aktywacji syntazy tlenu azotu oraz jej ekspresji w drobnych naczyniach tętniczych [20].

Podsumowanie

Wiele aspektów stosowania i mechanizmu działania EECP nadal wymaga wyjaśnienia. Analizując dotychczasowe doniesienia, można wiązać skuteczność terapii zarówno ze zmianami w obrębie mięśnia sercowego, jak i stanu obwodowych naczyń krwionośnych. Rozwój naczyń krążenia obocznego oraz zmiany czynności śródbłonna obserwowane po terapii za pomocą EECP są następstwem wzmożonego *shear stress*. Poprawa pracy lewej komory oraz zmiany stężeń czynników natriuretycznych wynikają z korzystnego zmniejszenia oporu obwodowego oraz poprawy perfuzji mięśnia sercowego. Stopień rozwoju zmian w układzie sercowo-naczyniowym wywołanych, cyklem zabiegów EECP, różni się w poszczególnych grupach chorych. Określenie czynników warunkujących dobre efekty leczenia za pomocą EECP może prowadzić do modyfikacji kryteriów przystąpienia do procedury zewnętrznej kontrapulsacji.

Streszczenie

Zewnętrzna kontrapulsacja (EECP) jest nową metodą terapii, stosowaną przede wszystkim w przypadkach dławicy piersiowej odpornej na tradycyjne leczenie.

Mechanizm działania EECP polega na podwyższaniu rozkurczowego ciśnienia tętniczego i perfuzji naczyń wieńcowych, obniżeniu oporu obwodowego oraz zwiększeniu obciążenia wstępnego serca. W następstwie dochodzi do poprawy czynności lewej komory, obniżenia produkcji czynników natriuretycznych, udrażniania lub tworzenia nowych naczyń krążenia obocznego oraz wzrostu reaktywności śródbłonka naczyniowego. Jednym z podstawowych czynników wywołujących niniejsze zmiany na poziomie naczyń wieńcowych i obwodowych tętniczek oporowych jest zwiększone naprężenie ścinające (shear stress), wynikające z nasilenia przepływu krwi. Jego wpływ zaznacza się poprzez aktywność enzymatyczną oraz ekspresję genów.

Dotychczas opisany wpływ EECP na układ sercowo-naczyniowy pozwala stwierdzić, że może to być bezpieczna i skuteczna metoda leczenia, a jej mechanizm działania wydaje się być jednym z bardziej fizjologicznych. (Folia Cardiol. 2004; 11: 483–488)

zewnętrzna kontrapulsacja, angiogeneza, funkcje śródbłonka

Piśmiennictwo

1. Michaels A.D., Accad M., Ports T.A., Grossman W. Left ventricular systolic unloading and augmentation of intracoronary pressure and Doppler flow during enhanced external counterpulsation. *Circulation* 2002; 106: 1237–1242.
2. Masuda D., Nohara R., Hirai T. i wsp. Enhanced external counterpulsation improved myocardial perfusion and coronary flow reserve in patients with chronic stable angina. Evaluation by ¹³N-ammonia positron emission tomography. *Eur. Heart J.* 2001; 22: 1451–1458.
3. Schaper W., DeBrabander M., Lewi P. DNA-synthesis and mitoses in coronary collateral vessels of the dog. *Circ. Res.* 1971; 28: 671–679.
4. Braddock M., Schwachtgen J.C., Houston P., Dickson M.C., Lee M.J., Campbell C.J. Fluid shear stress modulation of gene expression in endothelial cells. *News Physiol. Sci.* 1998; 13: 241–246.
5. Schaper W. Molecular mechanism of coronary collateral vessel growth. *Circ. Res.* 1996; 79: 911–919.
6. Lawson W.E., Hui J.C.K., Zheng Z.S. i wsp. Can angiographic findings predict which coronary patients will benefit from enhanced external counterpulsation? *Am. J. Cardiol.* 1996; 77: 1107–1109.
7. Lakshmi M.V., Kennard E.D., Kelsey S.F. i wsp. Relation of the pattern of diastolic augmentation during a course of enhanced external counterpulsation (EECP) to clinical benefit (from the International EECP Patient Registry (IEPR)). *Am. J. Cardiol.* 2002; 89: 1303–1305.
8. Urano H., Ikeda H., Ueno T., Matsumoto T., Murohara T., Imaizumi T. Enhanced external counterpulsation improves exercise tolerance, reduces exercise-induced myocardial ischemia and improves left ventricular diastolic filling in patients with coronary artery disease. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2001; 37: 93–99.
9. Taguchi I., Ogawa K., Oida A., Shichirou A., Noboru K., Hideaki S. Comparison of hemodynamic effects of enhanced external counterpulsation and intra-aortic balloon pumping in patients with acute myocardial infarction. *Am. J. Cardiol.* 2000; 86: 1139–1141.
10. Werner D., Schneider M., Weise M., Nonnast-Daniel B., Daniel W.G. Pneumatic external counterpulsation: a new noninvasive method to improve organ perfusion. *Am. J. Cardiol.* 1999; 84: 950–952.
11. Dhingra H., Roongsritong C., Kurtzman N.A. Brain natriuretic peptide: role in cardiovascular and volume homeostasis. *Semin. Nephrol.* 2002; 22: 423–437.
12. Lainchbury J.G., Burnett J.C. Jr., Meyer D., Redfield M.M. Effects of natriuretic peptides on load and myocardial function in normal and heart failure dogs. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2000; 278: H33–H40.
13. Schmitt M., Broadley A.J., Nightngale A.K. i wsp. Atrial natriuretic peptide regulates regional vascular volume and venous tone in humans. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2003; 23: 342–349.
14. Verma S., Anderson T.J. Podstawowe wiadomości o czynności śródbłonka dla kardiologa klinicysty. *Circulation (wyd. pol.)* 2002; 3: 18–21.
15. Egashira K. Clinical importance of endothelial function in arteriosclerosis and ischemic heart disease. *Circ. J.* 2002; 66: 529–533.

16. Giannattasio C., Mangoni A.A., Failla M. i wsp. Impaired radial artery compliance in normotensive subjects with familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 1996; 124: 249–260.
17. Vapaatalo H., Mervaala E. Clinically important factors influencing endothelial function. *Med. Sci. Monit.* 2001; 7: 1075–1085.
18. Bonetti P.O., Barsness G.W., Keelan P.C. i wsp. Enhanced external counterpulsation improves endothelial function in patients with symptomatic coronary artery disease. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2003; 41: 1761–1768.
19. Paniagua O.A., Bryant M.B., Panza J.A. Role of endothelial nitric oxide shear stress-induced vasodilation of human microvasculature. *Circulation* 2001; 103: 1752–1756.
20. Noris M., Morigi M., Donadelli R. i wsp. Nitric oxide synthesis by cultured endothelial cells is modulated by flow conditions. *Circ. Res.* 1995; 76: 536–543.
21. Barakat A., Lieu D. Differential responsiveness of vascular endothelial cells to different types of fluid mechanical shear stress. *Cell Biochem. Biophys.* 2003; 38: 323–343.
22. Garcia-Cardena G., Comander J., Anderson K.R., Blackman B.R., Gimbrone M.A. Biochemical activation of vascular endothelium as a determinant of its functional phenotype. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2001; 98: 4478–4485.
23. Hambrecht R., Adams V., Erbs S. i wsp. Regular physical activity improves endothelial function in patients with coronary artery disease by increasing phosphorylation of endothelial nitric oxide synthase. *Circulation* 2003; 107: 3152–3158.