

UNIVERZITET U BEOGRADU

MEDICINSKI FAKULTET

Marija T. Petrović

ZNAČAJ PRIMENE KOMBINOVANE TERAPIJE
HEPARINA I VEŽBANJA KOD BOLESNIKA SA
REFRAKTORNOM ANGINOM PEKTORIS

Doktorska disertacija

Beograd, 2020

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF MEDICINE

Marija T. Petrović

**SIGNIFICANCE OF COMBINED THERAPY OF
HEPARINE AND EXERCISE IN PATIENTS WITH
REFRACTORY ANGINA PECTORIS**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2020

MENTOR:

Prof. dr Ana Đorđević-Dikić, vanredni profesor, Klinika za kardiologiju, Kliničkog centra Srbije, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

ČLANOVI KOMISIJE:

1. Prof. dr Branko Beleslin, redovni profesor, Klinika za kardiologiju, Kliničkog centra Srbije, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

2. Prof. dr Milica Dekleva, vanredni profesor, Kliničko odeljenje za kardiovaskularne bolesti, KBC Zvezdara, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

3. Prof. dr Miloje Tomašević, vanredni profesor, Klinika za kardiologiju, Kliničkog centra Srbije, Medicinski fakultet Univerziteta u Kragujevcu

Zahvaljujem se:

*Profesorki **Ani Đorđević-Dikić**, mom mentoru na dragocenim savetima, velikoj pomoći i podršci pri izradi ove teze.*

*Veliku zahvalnost dugujem učitelju i prijatelju, pokojnoj Profesorki **Jeleni Stepanović** za njen veliki entuzijazam, zainteresovanost i pomoć oko započinjanja celog projekta i moje doktorske teze.*

*Profesorima **Branku Beleslinu** i **Eudženiju Pikanu**, bez čije prijateljske podrške, vizije, sugestija i komentara ovaj rad i projekat ne bi postojao niti izgledao ovako.*

*Kolegi i prijatelju **Nikoli Boškoviću** na nesebičnoj tehničkoj pomoći pri izradi teze.*

*Sestrama iz Kabineta za ergometriju: **Marici Pivljanin**, **Jeleni Đurović**, **Oliveri Krstić**, **Slavici Marković** i **Zorici Grujičić** sa kojima je zadovoljstvo bilo raditi.*

Svim kolegama sa Klinike za kardiologiju i članovima komisije za dugogodišnju saradnju.

Mojim roditeljima Tomislavu i Neveni i sestri Ani na bezgraničnom poverenju i podršci.

Značaj primene kombinovane terapije heparina i vežbanja kod bolesnika sa refraktornom anginom pectoris

Rezime

Uvod: Terapijska arteriogeneza predstavlja novu terapijsku opciju za ove bolesnike sa refraktornom ishemijskom koronarnom bolesti. Cilj terapijske arteriogeneze je da indukuje stvaranje novih krvnih sudova koji mogu da poboljšaju protok krvi u regionima koji nemaju adekvatno snabdevanje krvlju. Našim istraživanjem očekujemo da tokom perioda praćenja bolesnici koji budu dobijali heparin (H) zajedno sa fizičkim opterećenjem imaju više izraženu koronarnu arteriogenezu i kolateralnu cirkulaciju, manje tegoba po tipu stabilne srčane angine i manju ishemijsku srčanog mišića na stresnoj ehokardiografiji.

Ciljevi: ove studije, koja je uključivala bolesnike sa refraktornom srčanom anginom koji nisu kandidati za revaskularizaciju, su da se:

1. Proceni težina stabilne srčane angine pre i nakon fizičkog treninga.
2. Izračuna indeks pokretljivosti zidova leve komore pri maksimalnom opterećenju tokom stres egokardiografskog testa opterećenjem pre i nakon fizičkog treninga.
3. Proceni kolateralna cirkulacija na MSCT koronarnoj angiografiji pre i nakon fizičkog treninga.

Materijal i metode: Naša studija je obuhvatila 32 bolesnika sa hroničnom stabilnom anginom pectoris refraktornom na optimalnu medikamentnu terapiju, koji nisu kandidati za perkutanu i/ili hiruršku revaskularizaciju (tzv. "no-option" bolesnici). Kao drugi kriterijum za uključjenje u studiju bolesnici su morali biti sposobni da vežbaju. Ovi pacijenti su se u periodu od 2013. do 2019. godine lečili na Klinici za kardiologiju Kliničkog Centra Srbije. Bolesnici su bili randomizovani u 2 grupe (po 16 bolesnika u svakoj grupi). Grupa 1 (placebo+vežbanje, P+E), bolesnici koji su podvrgnuti standardnoj fizikalnoj rehabilitaciji (iv. Placebo 10 minuta pre svake od 2 dnevne sesije fizičkog treninga koji se održava 5 dana nedeljno tokom 2 nedelje). Kao placebo injekciju koristili smo intravensku injekciju od 2 ml sa fiziološkim rastvorem (0,9% NaCl). Grupa 2 (heparin+vežbanje, H+E), bolesnici koji su bili podvrgnuti standardnoj fizikalnoj rehabilitaciji sa prethodnom primenom leka (isto kao prethodna grupa ali sa heparinom 100 ij/kg do maksimalne doze od 5000 ij iv. 10 minuta pre fizičkog treninga).

Kod svih bolesnika rađen je ehokardiografski pregled u miru pre početka fizičkog treninga, stresna ehokardiografija sa fizičkim opterećenjem po standardnim Bruce protokolu pre započinjanja treninga i po zvrešetku 2-nedeljnog treniinga. MSCT koronarna angiografija za procenu kolateralne cirkulacije je takodje radjena pre započinjanja treninga i nakon 2 nedelje. Indeks pokretljivosti zidova leve komore (wall motion score index, WMSI), dobijen tokom stresne ehokardiografije, je svaki segment miokarda ocenjivao od 1-normokinezija do 4-diskinezija i bio je računat u miru i pri maksimalnom opterećenju. Kod svih pacijenata, tokom stresne ehokardiografije, je mereno i vreme do pojave miokardne ishemije definisano pojavom ST depresija (najmanje 1mm) na EKG-u u najmanje 2 odvoda. Takodje svim bolesnicima je procenjivana ejskciona frakcija (EF) leve komore (LK) u miru i nakon opterećenja, kao i veličina globalnog longitudinalnog (GLS) strejna.

Koristili smo klasifikaciju Kanadskog Udruženja Kardiologa (Canadian Cardiovascular Society, CCS) za procenu težine angine od klase 1 (blaga) do klase 4 (teška). Takodje, pacijenti su dobijali da popune i upitnik ostabilnoj angina (Seattle Angina Questionnaire, SAQ) od 19 pitanja koji meri 5 klinički važnih dimenzija zdravlja kod bolesnika sa koronarnom bolesti: učetalost angine, stabilnost angine, fizička ograničenja, zadovoljstvo lečenjem i percepciju bolesti/kvalitet života.

Rezultati: Između maja 2013. i januara 2019. godine, svih 32 “no-option” bolesnika (27 muškaraca, 5 žena; prosečne starosti 61 ± 8 godina) je završilo dvonedeljni ciklus E.

Anametsički podaci o prehodnim bolestima i faktorima rizika su bili slični kod obe grupe ispitanika, osim po pitanju pušenja cigareta (preovlađujuće u H + E grupi) i povišenog krvnog pritiska (češće u P + E grupi). Prisustvo hronične totalne okluzije (CTO) arterije prednje leve descendentne koronarne arterije (LAD) je bilo češće u P + E grupi. Ispitanici su imali uglavnom dvosudovnu ili trosudovnu koronarnu bolest (16 pacijenata u H + E grupi i 14 u P + E grupi). Svi pacijenti su završili istraživanje bez neželjenih efekata.

U odnosu na placebo grupu, grupa H + E je značajno produžila vreme do pojave depresije ST-segmenta od 1 mm (vreme do ishemije) tokom testa fizičkim opterećenjem (pre 270, 228-327 s vs. posle 339, 280-360 s, $p=0.012$), dok su se Duke skor i klasa angine klase poboljšali u obe studijske grupe.

Klinički važna promena od više od 10 poena u upitniku o stabilnoj srčanoj angini (SAQ) primećena je u pogledu stabilnosti angine i percepcije bolesti/QoL kod H + E pacijenata i po pitanju učestalosti angine u P + E grupi. Broj predjenih koraka (ukupna fizička aktivnost) u toku 2 nedelje istraživanja nije se razlikovala između grupa (66091 ± 56789 u H + E u poređenju sa 112021 ± 77065 u grupi P + E, $p = 0,165$).

Varijabilnost podataka kod istog istraživača (prilagođeni koeficijent varijacije /CV) je bila 3,9% za WMSI, 4,7% za EFLK i 8,1% za GLS. Stopa tehničkog uspeha u setu od 128 pojedinačnih studija (2 pre i 2 posle terapije, za svakog od 32 ispitanika) bila je 128/128 za WMSI (100%), 124/128 za EF (97%) i 122/128 za GLS (95%). Analize GLS radene su pri frekvenci otkucaja srca ≤ 120 otkucaja u minuti (prosečno 100 otkucaja u minuti).

Pacijenti u H + E grupi su pokazali veće poboljšanje funkcije LK nakon terapije, na šta ukazuju niže vrednosti maksimalnog WMSI (1.38 ± 0.25 pre vs. 1.28 ± 0.18 posle, $p=0.005$), veće vrednosti EFLK (60.9 ± 9.3 % pre vs. 64.8 ± 7.1 % posle, $p=0.016$), i niži maksimalni GLS u regiji CTO ($-16,33 \pm 6,83$ % pre, do $-19,04 \pm 7,39$ % posle, $p = 0,014$).

Varijabilnost podataka kod istog istraživača (prilagođeni CV) za Rentrop klasu je bila 3,9%. Kod jednog bolesnika iz grupe H + E, MSCT snimanje nakon dvonedeljnog ciklusa nije bilo obavljeno iz tehničkih razloga. Klasa Rentropa poboljšala se sa $0,73 \pm 0,88$ na $1,6 \pm 0,99$ ($p = 0,001$) kod pacijenata koji su dobijali H, dok je u E + P grupi bila nepromenjena ($1,06 \pm 1,06$ pre vežbanja na $1,19 \pm 1,05$ posle vežbanja, $p = 0,157$). Na nivou pojedinačnog pacijenta, koronarna kolateralna cirkulacija se poboljšala kod 2/16 (12,5%) pacijenata u P + E i kod 12/15 (80%) u H + E grupi ($p < 0,001$).

Zaključak: Dvonedeljni ciklus vežbanja sa heparinom povezan je sa poboljšanjem regionalne i globalne funkcije LK, na šta ukazuju konvencionalni (WMSI, EF) i napredni (GLS) ehokardiografski indeksi funkcije LK i sa smanjenjem simptoma srčane angine. Ove informacije integrišu i dopunjuju klasični, objektivni indeks zasnovan na depreresiji ST segmenta u EKG, koji je nemože da lokalizuje i kvantifikuje ishemiju miokarda.

Ključne reči: koronarna arteriogeneza, heparin + vežbanje, stres ehokardiografski test.

Naučna oblast: Medicina.

Uža naučna oblast: Kardiologija.

Significance of combined therapy of heparin and exercise in patients with refractory angina pectoris

Abstract

Introduction: Therapeutic arteriogenesis represents a new therapeutic option for patients with refractory cardiac angina. The goal of therapeutic arteriogenesis is to induce the formation of new blood vessels that can improve blood flow in regions that do not have adequate blood supply. In our study, we expect that during the follow-up period, patients receiving heparin (H), together with physical activity (exercise, E), have a more pronounced coronary arteriogenesis and collateral circulation, less severe type of stable cardiac angina, and less cardiac muscle ischemia on stress echocardiography.

The aims: of the present study, which included patients with refractory cardiac angina who were not candidates for revascularization, was to:

1. Assess the severity of stable cardiac angina before and after physical training.
2. Calculate the peak stress wall motion score index of the left ventricle during stress echocardiography testing before and after physical training.
3. Assess collateral circulation by MSCT coronary angiography before and after physical training.

Material and methods: Our study included 32 patients with chronic stable angina pectoris refractory to optimal medicament therapy, who are not candidates for percutaneous and/ or surgical revascularization (so-called 'no option' patients). As a second criterion for inclusion in the study, patients had to be able to exercise. From 2013 to 2019, these patients were treated at the Cardiology Clinic of the Clinical Center of Serbia. Patients were randomized into 2 groups (16 patients in each group). Group 1 (placebo, P + exercise, E), patients undergoing standard physical rehabilitation (iv. placebo 10 minutes before each 2-day physical training session, held 5 days per week for 2 weeks). We used intravenous injection of 2 ml saline (0.9% NaCl) as a placebo injection. Group 2 (heparin, H + exercise, E), patients undergoing standard physical rehabilitation with heparin pretraetment (same exercise as the previous group but with heparin 100 IU/ kg to maximum doses of 5000 IU iv. administration 10 minutes before physical training).

All patients underwent an echocardiographic examination and exercise stress echocardiography testing according to the standard Bruce protocol before starting the training and at the end of a 2-week training cycle. MSCT coronary angiography was done for the assessment of collateral

circulation as well before and after the 2-week therapeutic cycle. The left ventricular wall motion score index (WMSI) obtained during stress echocardiography testing evaluated each myocardial segment from 1-normokinesia to 4-dyskinesia and was calculated at rest and at maximum physical load. In all patients, during stress exercise testing, the time to onset of myocardial ischemia was defined by the onset of ST depression (at least 1mm) on the ECG in at least 2 leads. Also in all patients we evaluated the left ventricular ejection fraction (EF) at rest and after peak exercise, as well as the global longitudinal strain (GLS).

We used the classification of the Canadian Cardiovascular Society (CCS) to evaluate the severity of cardiac angina ranging from class 1 (mild angina) to class 4 (severe angina). Patients were also asked to complete a Seattle Angina Questionnaire (SAQ) of 19 questions measuring 5 clinically important dimensions of coronary artery disease: angina frequency, angina stability, physical limitations, treatment satisfaction, and disease perception/quality of life.

Results: Between May 2013 and January 2019, all 32 “no-option” patients (27 men, 5 women; mean age 61 ± 8 years) completed the two-week E cycle.

The past medical history and risk factors were similar for both groups of patients, except for cigarette smoking (prevalent in the H + E group) and elevated blood pressure (more frequently in the P + E group). The presence of chronic total occlusion (CTO) of the anterior left descending coronary artery (LAD) artery was more common in the P + E group. Subjects had mainly two or three vessels coronary artery disease (16 patients in the H + V group and 14 in the P + E group). All patients completed the study without side effects.

Compared to the placebo group, the H + E group significantly prolonged the time to onset of ST-segment 1 mm depression (time to ischemia) during the exercise test (before 270, 228–327 s vs. after 339, 280–360 s, respectively, $p = 0.012$), whereas the Duke score and the angina class improved in both study groups.

A clinically relevant change of more than 10 points in the stable cardiac angina (SAQ) questionnaire was observed with regard to angina stability and disease perception/QoL in H + E patients and with regard to the incidence of angina (angina frequency) in the P + E group. The number of steps taken (total physical activity) during the 2 weeks of the study did not differ between groups (66091 ± 56789 in H + E compared to 112021 ± 77065 in P + E group, $p = 0.165$).

Intraobserver variability (adjusted coefficient of variation/CV) was 3.9% for WMSI, 4.7% for left ventricular EF, and 8.1% for GLS. The rate of technical success in a set of 128 individual studies (2 before and 2 after therapy, for each of 32 subjects) was 128/128 for WMSI (100%), 124/128 for EF

(97%), and 122/128 for GLS (95%). GLS analyzes were performed at a heart rate of ≤ 120 beats per minute (average 100 beats per minute).

Patients in the H + E group showed greater improvement in left ventricular function after therapy, as indicated by lower WMSI values (1.38 ± 0.25 before vs. 1.28 ± 0.18 after, $p = 0.005$), higher EF values ($60.9 \pm 9.3\%$ before vs. $64.8 \pm 7.1\%$ after, $p = 0.016$), and lower peak GLS in the CTO region ($-16.33 \pm 6.83\%$ before, to $-19.04 \pm 7.39\%$ after, $p = 0.014$).

Intraobserver variability (adjusted CV) for the Rentrop class was 3.9%. In one patient in the H + E group, MSCT imaging after a two-week cycle was not performed for technical reasons. The Rentrop class improved from 0.73 ± 0.88 to 1.6 ± 0.99 ($p = 0.001$) in patients receiving H, while unchanged in the P + E group (1.06 ± 1.06 before of exercise at 1.19 ± 1.05 after exercise, $p = 0.157$). At the individual patient level, coronary collateral circulation improved in 2/16 (12.5%) patients in P + E and in 12/15 (80%) in the H + E group ($p < 0.001$).

Conclusion: A two-week exercise cycle with heparin is associated with improvements in regional and global left ventricular function, as indicated by conventional (WMSI, EF) and advanced (GLS) echocardiographic indices of left ventricular function and with improvement of symptomatic refractory angina. This information integrates and complements the classic, objective index based on ST segment depression in the ECG, which is unable to localize and quantify myocardial ischemia.

Key words: coronary arteriogenesis, heparin + exercise, stress echocardiographic test.

Scientific field: Medicine.

Specific scientific field: Cardiology.

Sadržaj

1. Uvod	
1.1 Epidemiologija hroničnog koronarnog sindroma i refraktorne srčane angine	1
1.2 Koronarna kolateralna cirkulacija	2
1.2.1 Kolateralna cirkulacija kod hronicne totalne okluzije	2
1.3 Koronarna arteriogeneza vs. angiogeneza	4
1.3.1 Koronarna angiogeneza	5
1.3.2 Koronarna arteriogeneza	5
1.4 Vežbanje i koronarna bolest	7
1.4.1 Vežbanje i koronarna kolateralna cirkulacija	7
1.5 Heparin, vežbanje i koronarna arterio/angiogeneza	8
2. Ciljevi rada	10
3. Metodologija	11
3.1 Ispitivana populacija bolesnika	11
3.2 Dvodimenzionalna ehokardiografija i stres ehokardiografija	13
3.3 MSCT koronarna angiografija	14
3.4 Procena simptoma srčane angine	15
3.5 Uloga CRP, hemtoloških i faktora rasta u arteriogenezi	17
3.6 Statistička analiza	18
4. Rezultati	19
4.1 Izvodljivost metode, sigurnost i karakteristike ispitivane populacije	19
4.2 Funkcionalne karakteristike bolesnika tokom testa opterećenja	21
4.3 Stres ehokardiografski test pre i nakon terapijskog ciklusa	24
4.4 Rezultati Sietel upitnika kod bolesnika pre i nakon terapijskog ciklusa	27
4.5 Rezultati MSCT koronarne angiografije pre i posle tearapijskog ciklusa	28
4.6 Hematološke i biohemijske karakteristike bolesnika	29

5.	Diskusija	30
6.	Zaključci	44
7.	Literatura	45

1. UVOD:

1.1 Epidemiologija hroničnog koronarnog sindroma i refraktorne srčane angine

Morbiditet i mortalitet udruženi sa ishemijskom bolešću srca značajno opterećuju zdravstveni sistem. Procenjuje se da je broj obolelih od stabilne angine pectoris 16, 500,000 (1). Imajući u vidu epidemiju gojaznosti, povećanu incidencu dijabetesa i starenje populacije za očekivati je da ovaj impresivni broj još raste. Sa boljim razumevanjem patofiziologije ishemijske bolesti srca tokom poslednjih nekoliko decenija, došlo je do izvanrednih napredaka u njenom lečenju. Novi lekovi, poboljšanje tehnika revaskularizacije i bolje metode za procenu rizika su omogućile efikasnije lečenje ishemijske bolesti srca. Uprkos ovim rezultatima, sve više je bolesnika koje stabilna srčana angina onemogućava u svakodnevnom funkcionisanju i životu.

Lekari imaju brojne terapijske opcije za smanjenje simptoma srčane angine kod ovih bolesnika. Trenutno važeće preporuke za hronični koronarni sindrom (HKS) preporučuju prestanak pušenja, kontrolu krvnog pritiska, intenzivnu terapiju za smanjenje lipida, adekvatnu fizičku aktivnost, postizanje idealne telesne mase i kontrolu dijabetesa. Lekovi koji se rutinski prepisuju uključuju anti-trombocitne lekove, lekove za smanjenje holesterola u krvi (statine, +/- ezetimib, PCSK9), blokatore angiotenzin konvertujućeg enzima, beta-blokatore, blokatore kalcijumskih kanala, nitrata (dugodelujuće i kratkodelujuće) i odnedavno ranolazin, trimetazidin, nikorandil i ivabradin (2). Revaskularizacija bilo perkutanom koronarnim intervencijama bilo hirurškim premošćavanjem je takođe deo lečenja.

Premda je epidemiologija refrakterne angine nejasna i postoji hitna potreba za deskriptivnim epidemiološkim studijama, skorašnji podaci ukazuju da je broj bolesnika sa refrakternom anginom uprkos optimalnoj terapiji, a kod kojih nije moguća revaskularizacija ("bez mogućnosti lečenja") najmanje 150 000 godišnje samo u SAD (3). Takođe se smatra da je prevalenca refraktorne angine u SAD 1,8 miliona bolesnika (4).

Evropsko udruženje kardiologa je definisalo refraktarnu anginu kao "hronično stanje (>3 meseca) koje se karakteriše prisustvom angine uzrokovane reverzibilnom koronarnom insuficijencijom u prisustvu koronarne arterijske bolesti koja se ne može kontrolisati kombinacijom medikamentne terapije, hirurške revaskularizacije ili stenovima, uključujući i perkutanu intervenciju (percutaneous coronary intervention, PCI) hronične totalne okluzije (chronic total occlusion, CTO). (2)

Kada su standardne mere neadekvante za kontrolu angine, potrebni su novi pristupi (koronarna arteriogeneza, transmuralna redistribucija protoka krvi, neuromodulacija sindroma srčanog bola, mehaničko suženje koronarnog sinusa). (2)

1.2 Koronarna kolateralna cirkulacija

Kolaterale su interarterijalne komunikacije, koje snabdevaju krvlju vaskularnu teritoriju kada je izvorni sud za snabdevanje okludiran. Na taj način se u potpunosti ili delimično može sačuvati integritet organa. Razvijaju se arteriogenezom, to jest putem regrutovanja unapred formiranih i već postojećih interarterijalnih veza pokrenutih silma smicanja (shear forces) tečnosti duž gradijenta pritiska kada je nativni sud zatvoren. Kolateralama je potrebno 2-12 nedelja da u potpunosti razviju svoj funkcionalni kapacitet. Veličina kolaterala varira između 40 i 200 μm , mada neke urođene kolaterale mogu imati veličinu koronarnih bočnih grana prečnika preko 1 mm. Međutim, veličina većine ovih komunikacija je ispod prostorne rezolucije savremenih angiografskih slika. (5).

U post-mortem studiji, William Fulton je pokazao da kolaterale postoje i u normalnom srcu. Površne i duboke intrakoronarne anastomoze su naročito izražene u interventrikularnom septumu i u subendokardijumu leve komore. Kolateralne arterije su više razvijene u levoj komori nego u desnoj, dok je njihovo prisustvo u subepikardijumu neuobičajeno. Prevalenca kolaterala je 9% u zdravom srcu, 63 % u veoma izraženoj koronarnoj bolesti i 95 % ako je prisutna hronična totalna okluzija. Kod ljudi, prisustvo koronarnih kolaterala u odustvu koronarne bolesti je uočeno kod osoba sa nižom srčanom frekvencom (nemedikamentno sniženom) i u odsustvu hipertenzije. (6)

U odnosu na pacijente koji nemaju dobro razvijene kolaterale, bolesnici sa kolateralama imaju manji dugoročni mortalitet, manju veličinu infarkta, veću post-infarktenu ejectionu frakciju leve komore i smanjeni rizik za rupturu papilarnog mišića, slobodnog zida srčanog mišića ili interventrikularnog septuma. Takođe, značajna i korisna veza je uočena između prisustva kolaterala i iznenadne srčane smrti. (7, 8)

1.2.1 Kolateralna cirkulacija kod hronične totalne okluzije

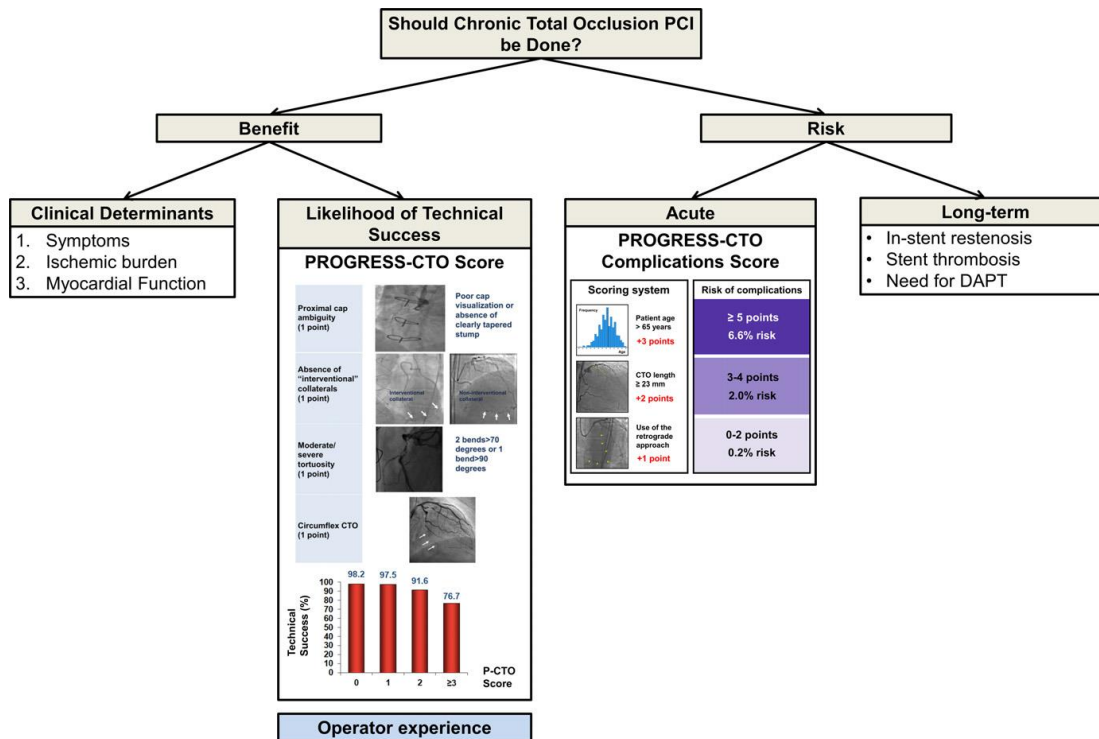
Hronična totalna okluzija se definiše kao 100% okluzija sa TIMI (Thrombolysis in Myocardial Infarction) protokom nula u trajanju od najmanje 3 meseca. Prevalenca CTO kod osoba sa koronarnom bolesti je 20-30%. Bolesnici sa CTO se uglavnom prezentuju kao stabilna srčana angina, izuzev ako koronarna bolest ne progredira ka nestabilnoj angini. Međutim, bolesnici sa CTO imaju visok rizik za neželjene događaje kada je arterija koja donira kolaterale zahvaćena akutnim infarktomiokarda ili u situacijama kada se radi PCI glavnog stabla a CTO je prisutan na desnoj koronarnoj arteriji (right coronary artery, RCA). (5)

Vijabilnost miokarda nije pred-uslov za razvoj kolaterala. Takođe, u prisustvu CTO, kolateralna perfuzija u region iza okluzije uglavnom dolazi kroz više puteva (i iz različitih koronarnih sudova). Najveći deo kolateralne perfuzije potiče iz većih koronarnih kolateralnih sudova jer imaju manji otpor. A ono što je interesantno je da ovi kolateralni koronarni sudovi izgleda nisu skloni aterosklerozi. (6)

Koronarne kolaterale regrediraju odmah po rekanalizaciji okludirane arterije. Ovaj proces počinje nakon uspostavljanja anterogradnog protoka i nastavlja se nekoliko meseci što nosi rizik za akutni koronarni sindrom u slučajevima kasne tromboze stenta.

Kolateralna koronarna cirkulacija se može proceniti i gradirati anatomske (Rentrop klasifikacija i/ili gradiranje kolateralnih veza – collateral connections, CC) ili funkcionalno, merenjem indeksa koronarnog protoka (coronary flow index, CFI). Pored ove dve metode za procenu koronarne kolateralne cirkulacije može se koristiti i intrakoronarni elektrokardiogram. Rentrop klasa je klasična, široko korišćena vizualizaciona metoda za procenu kolaterala. Ona stepenuje postojanje kolaterala na osnovu ispunjavanja okludiranog suda kontrastom tokom koronarne angiografije od stepena 0 (nema kolaterala) do stepena 3 (potpuno ispunjena glavna epikardijalna arterija koja je primalac krvi). Merenje CFI-a je trenutno najprecizniji način za procenu kolateralne cirkulacije. Ovaj metod koristi žicu vodič (guide wire) na čijem je vrhu Doppler senzor za kvantifikovanje brzine protoka u okludiranom krvnom sudu u poredjenju sa normalnim krvnim sudom. (7)

Terapijske opcije bolesnika sa koronarnom CTO obuhvataju promenu stila života, lekove i koronarnu revaskularizaciju bilo perkutanom intervencijom (percutaneous coronary intervention, PCI) bilo hirurški premošćavanjem okluzije graftovima (coronary artery bypass grafting, CABG). (9) Terapijska stimulacija kolateralne funkcije predstavlja takođe veoma važnu terapijsku opciju za bolesnike sa koronarnom bolešću koji nisu kandidati za revaskularizaciju.



Slika 1: Preuzeto od Tajti et al (9, 10): Algoritam potencijalnog rizika/koristi za PCI CTO.

DAPT= dvojna antiagregaciona terapija; PCI= perkutana koronarna intervencija; PROGRESS-CTO= Prospective Global Registry for the Study of Chronic Total Occlusion Intervention.

1.3 Koronarna arteriogeneza vs. angiogeneza

Nakon rođenja, stvaranje novih krvnih sudova se odvija preko angiogeneze ili arteriogeneze. Angiogeneza (kapilarno bujanje) rezultuje većom gustinom kapilara. Arteriogeneza (brzo stvaranje kolateralnih arterija) ima potencijal da značajno promeni ishod koronarne i periferne arterijske bolesti. Ovi procesi dele neke zajedničke faktore rasta ali se u mnogo čemu razlikuju. Arteriogeneza je daleko efikasniji adaptivni mehanizam za preživljavanje unutrašnjih organa kao što je srce, zbog njene sposobnosti da dopremi relativno velike zapremine krvi u jedinici vremena. Povećanje broja kapilara, kao rezultat stimulacije angiogeneze, nema takve mogućnosti (11).

Cilj terapijske arteriogeneze je da poboljša stvaranje novih krvnih sudova koji bi obezbedili arterijsku krv za delove miokarda koji su nedovoljno ishranjeni. Terapijska arteriogeneza se može ostvariti na tri načina: lokalnom genskom terapijom (FGF i VEGF); citokinima stimulisanom angiogeneza (MP1, PIGF, itd); hematopoetskim matičnim ćelijama. Mada su eksperimentalne studije sa stimulacijom arteriogeneze bile obećavajuće, nijedan lek se nije dokazao primenjivim u kliničkoj praksi, bilo zbog nedostatka efikasnosti bilo zbog neželjenih efekata (12).

Kod ljudi okluzije koronarnih krvnih sudova stimulišu oba procesa i arteriogenezu i angiogenezu, ali je arteriogeneza predominantan mehanizam. (13)

1.3.1 Koronarna angiogeneza

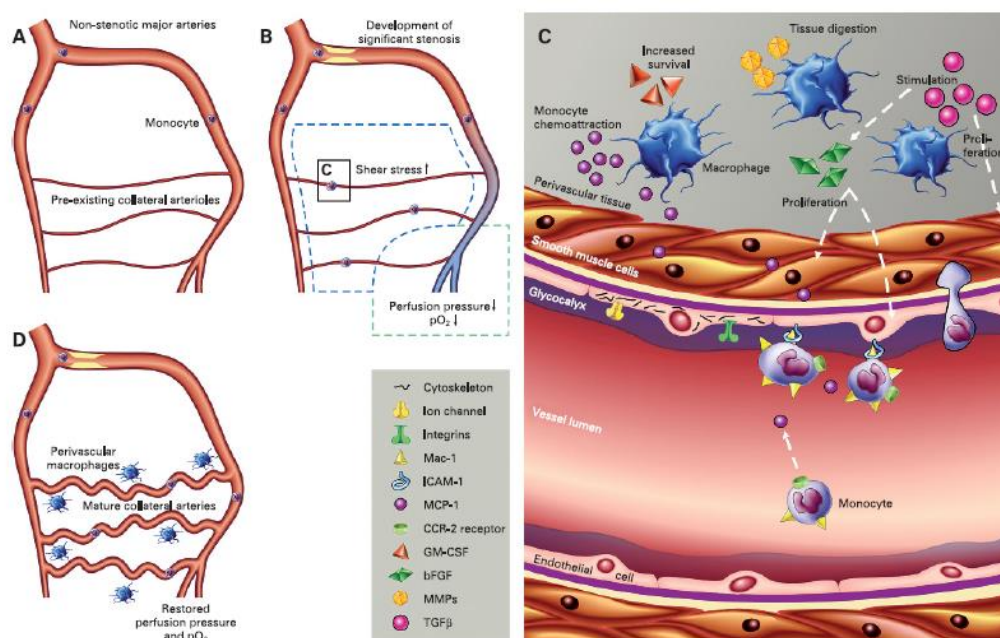
Ishemija i nedaekvatna oksigenacija ćelija su glavni inicijatori angiogeneze. Neadekvatna oksigenacija ćelija povećava ekspresiju i aktivaciju HIF-1 transkripcionog faktora, glavnog regulatora homeostaze kiseonika, koji povećava transkripciju nekoliko gena uključujući i NOS 1-3 i VEGF. Kao posledica toga nastupa jedan od prvih prepoznatih fenomena ishemije a to je vazodilatacija, usled povećanja NO i drugih još uvek nedovoljno poznatih transmitera. Nadalje, VEGF dovodi do povećane permeabilnosti krvnog suda i edema i u manjoj meri i do proliferacije ćelija endotelijuma. Prisustvo edema tkiva je glavni indikator da je prisutna angiogeneza. Ovi procesi zajedno dovode do kapilarnog bujanja i formiranja kapilarne mreže. (13)

1.3.2 Koronarna arteriogeneza

Arteriogeneza je proces transformacije postojećih kolateralnih arteriola u funkcionalne kolateralne arterije. Ove arteriole su prisutne i u perifernoj i u koronarnoj cirkulaciji. Postojanje koronarnih kolateralnih konekcija prvi put je opisao Richard Lower 1669. tokom istraživanja na Univerzitetu u Oksfordu. A Fulton je u svojim istraživanjima od 1956. do 1965. godine, potvrdio postojanje koronarnih kolaterala kod ljudi, nezavisno od postojanja koronarne bolesti. Prisustvo koronarne kolateralne cirkulacije u prisustvu koronarne bolesti nije nikada bilo sporno.

Glavni stimulator i pokretač arteriogeneze (slika 2) je povećanje sila smicanja (shear stress) tečnosti. Kolateralne arterije se regrutuju nakon nastajanja hemodinamski značajne stenozе krvog suda, koji je glavni snabdevač krvi i hranjivih materija. Zbog smanjenja arterijskog pritiska iza stenozе, protok krvi se redistribuira putem pre-postojećih arteriola, koje sada povezuju region sa visokim pritiskom sa regionom niskog pritiska. To dovodi do povećanja brzine protoka, a samim tim i do povećanja stresa smicanja (shear stress) u postojećim kolateralnim krvnim sudovima. Na dalje to izaziva izrazitu aktivaciju endotelijuma sa povećanjem ekspresije MCP-1 (proteina hemotakse monocita - 1) endotelnih površinskih receptora, koji su uključeni u vezivanje, kotrljanje i migraciju monocita. Povećana adhezija monocita i njihova transformacija u makrofage su obavezni u procesu transformacije arteriola u arterije, jer ove ćelije proizvode citokine i faktore rasta koji učestvuju u arteriogenezi. Među tim faktorima su i MCP-1 koji indukuje privlačenje monocita na mesta

proliferacije, TNF-a (factor nekroze tumora alfa), koji obezbeđuje inflamatorno okruženje u kome se razvijaju kolateralni sudovi, b-FGF (factor rasta fibroblasta b), koji je mitogen i za endotelne i za glatke mišićne ćelije i MMP (metaloproteinaze matriksa), koji remodeluje staru arterijsku strukturu i stvara prostor potreban za širenje kolateralnih arterija. (13). Na modelu životinja (pasa) uočen je porast dijametra arteriola do 20x uz prisustvo brojnih mitozna i deoba ćelija u glatkim mišićnim ćelijama i ćelijama endotelijuma krvnih sudova.



Slika 2: Mehanizam arteriogeneze: (A) Bez značajne stenozе, ne postoji značajan gradijent pritiska u odnosu na postojeći kolateralne anastomoze, koje su male. (B) Razvoj značajne arterijske opstrukcije dovodi do pada pritiska i kiseonika distalno u vaskularnom koritu (ljubičasto-plava boja), dok proksimalni pritisak i proksimalno zasićenje kiseonikom ostaju normalni (crvena boja). Gradijent pritiska preko kolateralne cirkulacije povećava stres smicanja (shear stress) krvi u ovim arteriolama. (C) Na ćelijskom nivou. Endotelijum registruje povećan stres smicanja krvi preko citoskeleta, transmembranskih proteina (integini, jonski kanali) i glikokaliksa. U aktiviranom stanju, endotel izražava adhezijske molekule (ICAM-1), na koje se vezuju cirkulirajući monociti putem svog Mac-1 receptora. Monociti se emigriraju u perivaskularno tkivo, diferenciraju se na makrofage i sekretuju faktore rasta i citokine koji privlače dalje monocite i podstiču proliferaciju ćelija glatkog mišića i endotelnih ćelija. (D) Adekvatno razvijene kolateralne arterije obnavljaju distalnu perfuziju i obezbeđuju dovoljno oksigenizovane krvi u udaljena tkiva. bFGF, bazični faktor rasta fibroblasta; GM-CSF, faktor koji stimuliše koloniju granulocita i makrofaga; ICAM, međućelijski adhezioni molekul; MCP, protein hemotakse monocita; MMP, metaloproteinaze matriksa; TGFb, transformirajući faktor rasta beta. (Preuzeto od Schrimmer i sar) (12)

1.4 Vežbanje i koronarna bolest

Pored klasičnih faktora rizika, kao što su hipertenzija, pušenje, dijabetes melitus i hiperholesterolemija, fizička neaktivnost je identifikovana kao nezavisni prediktor razvoja koronarne bolesti. Suprotno tome, pokazalo se da redovna fizička aktivnost smanjuje simptome srčane angine, poboljšava perfuziju miokarda i, što je najvažnije, smanjuje smrtnost kod pacijenata sa hroničnim koronarnim sindromom/infarktomiokarda. Meta-analiza 8940 pacijenata, koji su ili doživeli infarkt miokarda, bili podvrgnuti koronarnoj revaskularizaciji, imali simptome srčane angine ili su imali koronarnu bolest dokumentovanu angiografijom, iz 48 studija je ukazala na smanjenje ukupnog mortaliteta i kardiovaskularne smrtnosti za 20%, odnosno 26%, kao rezultat vežbanja. (14)

Studija ETICA (Exercise Training Intervention After Coronary Angioplasty) jasno je pokazala porast maksimalne potrošnje kiseonika za 26%, poboljšanje kvaliteta života za 27% i smanjenje srčanih događaja za 20%, uključujući smanjenje infarkta miokarda i manji broj prijema u bolnicu, kod pacijenata koji su prošli program fizičkog vežbanja nakon uspešne PCI-ja u poređenju sa onima koji su nastavili sa sedentarnim načinom života. (14)

Sledeći mehanizmi su predloženi da doprinesu boljoj perfuziji miokarda kao odgovor na vežbanje: delimična korekcija endotelne disfunkcije (pojačana bioraspoloživost NO), formiranje kolaterala, regresija koronarne stenozе, vaskulogeneza i smanjena aktivacija trombocita.

1.4.1 Vežbanje i koronarna kolateralna cirkulacija

U eksperimentima na životinjama razvoj kolaterala izazvan vežbanjem nije dokazan kod zdravih pasa bez koronarne stenozе. U prisustvu sužene koronarne arterije vežbanje se pokazalo kao efikasan induktor funkcionalno značajne kolateralne cirkulacije. Prisustvo tesne stenozе u arteriji koja prima krv preko kolaterala je neophodno za nastajanje gradijenta pritiska u kolateralnoj mreži, što je neophodan uslov za uspostavljanje kolateralnog protoka. Vežbanje kao stresor ne izaziva samo ishemiiju srčanog mišića, nego i povećanje kolateralnog protoka preko dva mehanizma. Krvni sudovi u teritoriji koju snabdeva arterija, koja prima kolaterale, maksimalno se šire kako bi se obezbedio maksimalan protok u potencijalno ishemijsko područje da bi se obezbedili metabolički prohtevi miokarda tokom vežbanja. Povišen krvni pritisak (perfuzioni pritisak) izazvan vežbanjem takođe povećava kolateralni protok krvi u prisustvu maksimalno proširenih kolateralnih i koronarnih

sudova koji primaju kolaterale. Na taj način vežbanje indukuje arteriogenezu, kao i angiogenezu izazvanu ishemijom; s time što je prvo važnije u pogledu kolateralne cirkulacije od drugog. (15)

Iako je Eckstein, mogao jasno dokumentovati formiranje koronarnih kolaterala kao odgovor na vežbanje u eksperimentima na životinjama davne 1957. godine, do danas još uvek nedostaju jasni podaci kod ljudi. Belardineli i saradnici bili su u mogućnosti da angiografski pokažu pojačano formiranje kolaterala u grupi blesnika sa ishemijskom kardiomiopatijom nakon 8 nedelja vežbanja. Uprkos smanjenoj ishemiji miokarda u scintigrafiji sa talijumom, Heidelbergova regresiona studija nije uspela da dokumentuje nijedno formiranje kolaterala pomoću angiografije kod pacijenata sa stenozom koronarnih krvnih sudova CAD čak i nakon 1 godine intenzivnog vežbanja. (14)

Angiografija može biti nedovoljno osetljiva metoda da vizuelizuje kolaterale (jer vizualizuje veće od 100 μm u dijametru) ili se kolaterale mogu regrutovati samo pri vrhuncu vežbanja. Takođe, razlike u populaciji pacijenata u gore spomenutim studijama mogu objasniti ove različite efekte.

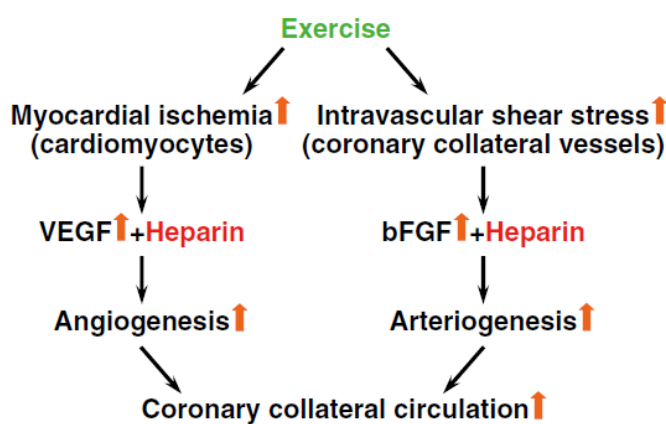
Nedavno su Mobius-Vinkler i sar. svojoj randomizovanoj pokazali da 4 nedelje treninga sa vežbanjem umerenog i visokog intenziteta kod pacijenata sa značajnom koronarnom stenozom (frakciona rezerva protoka, $\leq 0,75$) povećava CFI za 39% i 41% u poređenju sa kontrolama. Ovaj rezultat je praćen klinički relevantnim povećanjem kapaciteta za vežbanje i pragom srčane angine u obe interventne grupe. Međutim, koronarne kolateralne nisu vizualizovane na angiogramu. Štaviše, poboljšana endotelna funkcija, a samim tim i smanjena otpornost arterije koju snabdevaju kolaterale mogle su izazvati perfuziju postojećih kolateralnih kanala i promene u CFI nakon vežbanja nezavisno od formiranja kolaterala ili kolaterale nisu vidjenje na angiografiji zbog neosetljivosti metode. (14)

Zbog nedostatka patohistoloških uzoraka tkiva, uloga vežbanja u morfološkom formiranju kolaterala nezavisno od funkcionalnog koronarnog/ kolateralnog odgovora nije u potpunosti razrešena.

1.5 Heparin, vežbanje i koronarna arterio/angiogeneza

Uprkos intenzivnim istraživanjima kolateralne cirkulacije i arterio/angiogeneze, još uvek nije poznato šta inicira rast kolateralnih arterija kod prisustva koronarne stenozе visokog stepena. Koronarnu stenozu visokog stepena prati ishemija miokarda, transkolateralni gradijent pritiska povezan sa povećanim naprežanjem zida i silama smicanja na mestu pre-postojećih kolateralnih krvnih sudova, i povećao prisustvo pojedinih angiogenih faktora rasta, koji su svi važni stimulansi

za rast kolateralnih krvnih sudova (slika 3). Intenzivno vežbanje ubrzava razvoj kolaterala kada se ugrožena oblast snabdeva iz suda sa tesnom stenozom. Vežbanje je snažan stimulans za razvoj kolaterala kao rezultat isprovocirane ishemije miokarda i povećanja sila smicanja usled pojačanog kolateralnog protoka krvi. Heparin potencira aktivnost lokalno oslobođenih faktora rasta. Ovaj efekat izaziva proliferaciju endotelnih ćelija i ćelija glatkog mišića sa kasnijom stvaranjem dobro razvijenih kolaterala. Heparin sam po sebi nije angiogeni faktor, ali ubrzava razvoj kolateralnih kanala. (16-20)



Slika 3: Predloženi mehanizmi za razvoj koronarnih kolaterala pri terapiji sa heparinom - vežbanjem. Naporno vežbanje izaziva ishemiju miokarda i povećava stres smicanja tečnosti u postojećim koronarnim kolateralnim krvnim sudovima kao rezultat pojačanog kolateralnog protoka krvi. Heparin potencira funkciju faktora rasta vaskularnog endotela (VEGF) oslobođenog iz ishemijskog tkiva i indukuje angiogenezu. Heparin takođe potencira funkciju bazičnog faktora rasta fibroblasta (bFGF) koji se oslobađa na mestu pre-postojećih kolateralnih sudova i dovodi do arteriogeneze. Kao rezultat, rezerva koronarnog kolateralnog protoka je značajno poboljšana. (Preuzeto iz rada Fujita i sar) (15)

2 CILJEVI RADA:

Ciljevi ove studije, koja je po tipu eksperimentalna, a koja je uključivala bolesnike sa hroničnom stabilnom anginom pektoris refraktornom na optimalnu terapiju, koji nisu kandidati za perkutanu i/ili hiruršku revaskularizaciju (tzv. "no option" bolesnici), su da se:

1. Proceni težina stabilne srčane angine pre i nakon fizičkog treninga u obe grupe ispitanika.
2. Izračuna indeks pokretljivosti zidova leve komore pri maksimalnom opterećenju tokom stres egokardiografskog testa opterećenjem pre i nakon fizičkog treninga u obe grupe ispitanika.
3. Proceniti kolateralnu cirkulaciju na MSCT koronarnoj angiografiji pre i nakon fizičkog treninga u obe grupe ispitanika.

3. METODOLOGIJA

3.1 Ispitivana populacija bolesnika

U našem istraživanju bilo je uključeno 32 bolesnika sa hroničnom stabilnom anginom pectoris refraktornom na optimalnu terapiju, koji nisu kandidati za perkutanu i/ili hiruršku revaskularizaciju (tzv. "no-option" bolesnici). Drugi kriterijum za uključenje u studiju je bio sposobnost bolesnika da vežbaju. Studija je bila prospektivnog i eksperimentalnog tipa. Svi uključeni pacijenti su se u periodu od 2013. godine do 2019. godine lečili na Klinici za kardiologiju Kliničkog Centra Srbije i bili su pozvani da učestvuju u eksperimentu. Bolesnici su randomizovani u 2 grupe (po 16 bolesnika u svakoj grupi): Grupa 1, bolesnici koji su bili podvrgnuti standardnoj fizikalnoj rehabilitaciji, sprovedenoj po modifikovanom Bruce protkolu (sa davanjem 10 min iv. placebo injekciju od 2 ml fiziološkog rastvora (0,9% NaCl); Grupa 2, bolesnici koji su bili podvrgnuti standardnoj fizikalnoj rehabilitaciji sa prethodnom primenom leka (isto kao prethodna grupa ali sa heparinom 100 ij/kg do maksimalne doze od 5000 ij iv. 10 minuta pre fizičkog treninga).

Kako bi se postigla balansiranost broja ispitanika u obe ispitivane grupe, korišćena je metoda randomizacije u permutovanim blokovima. Generisani su svi mogući "blokovi" - permutacije od dva elementa (grupe ispitanika) veličine bloka od po 4 elementa. Na ovakav način generisana su: $4! / ((4/2)! (4/2)!) = 4! / (2)! \times (2)! = 4 \times 3 \times 2 \times 1 / ((2 \times 1) \times (2 \times 1)) = 24 / 4 = 6$ blokova. Iz ovako generisanog skupa različitih blokova sa po 4 elementa, slučajnim izborom je odabrano 8 blokova (neki blokovi su stoga nužno upotrebljeni više od jedanput) koji su poređani jedan za drugim tako da čine niz od 32 elementa, gde svaki član ovog niza označava pripadnost jednoj ili drugoj grupi ispitanika. Ovaj niz je ubačen u kompjuterski program i "sakriven" kako istraživači ne bi znali redosled narednog ispitanika. Alokacija ispitanika određuje se nakon uključivanja u studiju pomoću ovog računarskog programa, a prema redosledu koji definisan na prethodno opisan način, i koji je nepoznat istraživaču koji uključuje ispitanika u studiju

Kriterijumi za isključenje:

Bolesnici sa nestabilnom anginom, nemogućnošću fizičkog vežbanja, skorašnjim infarktom miokarda, nekontrolisanom hipertenzijom, hemodinamski značajnim valvularnim oboljenjem, bronhijalnom astmom i neurološkim i/ili ortopedskim oboljenjem koje ograničava funkcionalni

kapacitet. Bolesnici koji primaju antagoniste vitamina K su takodje bili isključeni. Bolesnici u trenutku uključenja nisu smeli aktivno učestvovati u programu rehabilitacije ili fizičkog treninga.

Pre započinjanja ispitivanja svakom ispitaniku je bio detaljno objašnjen način izvođenja studije i dobijen je informisani pristanak za učešće u ispitivanju u skladu sa Helsinškom Deklaracijom (revizija Edinburg 2000). Studija je sprovedena u skladu sa etičkim principima uz dozvolu nadležnog Etičkog Komiteta.

Kod svih bolesnika je rađen transtoraksni ehokardiografski pregled u miru pre početka fizičkog treninga, stresna ehokardiografija sa fizičkim opterećenjem po standardnim kliničkim protokolima pre započinjanja treninga i po zvrešetku 2-nedeljnog treniinga, i MSCT koronarna angiografija. Ehokardiografskim pregledom je procenjivana funkcija leve komore i segmentna kinetika miokarda. Na MSCT koronarnoj angiografiji procenjivana je kolateralna cirkulacija pre i nakon testiranja. Kod svih pacijenata, tokom stresne ehokardiografije je mereno i vreme do pojave miokardne ishemije, koja je definisana pojavom ST depresija (najmanje 1mm) na EKG-u u najmanje 2 odvoda.

Koristili smo klasifikaciju Kanadskog Udruženja Kardiologa (Canadian Cardiovascular Society, CCS) za procenu težine srčane angine od klase 1 (blaga) do klase 4 (teška). Ova klasifikacija se rutinski koristi kod bolesnika sa koronarnom bolešću i priznat je marker progresije oboljenja.

Takodje, pacijenti su dobijali da popune i upitnik o stabilnoj angina (Seattle Angina Questionnaire, SAQ) od 19 pitanja koji meri 5 klinički važnih dimenzija zdravlja kod bolesnika sa koronarnom bolesti: učestalost angine, stabilnost angine, fizikalna ograničenja, zadovoljstvo lečenjem i percepciju bolesti/kvalitet života. Svaki domen ima skor od 0 do 100, sa višim skorovima koji ukazuju na manju opterećenost bolešću. Pokazano je da kvalitet života procenjen SAQ upitnikom korelira sa dugoročnim preživljavanjem i hospitaliazcijama usled akutnog koronarnog sindroma kod bolesnika sa hroničnom koronarnom bolesti.

Intravenske injekcije je davala medicinska sestra, koja nije uključena u proces dobijanja podataka i analize.

Svim pacijentima su kontrolisani trombociti u krvnoj slici tokom perioda istraživanja.

3.2 Dvodimenzionalna ehokardiografija i stres ehokardiografija

Stresna ehokardiografija je utvrđena tehnika za dijagnozu i prognozu bolesti koronarnih arterija. (21). U našem istraživanju funkcija leve komore (LK) srca procenjena je konvencionalnim i naprednim vizualizacionim indeksima procene regionalne i globalne funkcije LK u mirovanju i pri maksimumu stresa (21-28). Indeks pokretljivosti LK (wall motion score index, WMSI), dobijen tokom stresne ehokardiografije, ocenjuje svaki segment miokarda od 1-normalna kinetija do 4-diskinezija i računat je u miru i pri maksimalnom fizičkom opterećenju, u 17-segmentnom modelu po standardnim protokolima Evropske asocijacije za (21, 22, 24, 27, 28). WMSI je dobijen deljenjem sume svih pojedinačnih segmenata sa ukupnim brojem vizuelizovanih segmenata. Indeks pokretljivosti zidova LK na polukvantitativni način procenjuje veličinu inducibilne ishemijske, koja je povezana sa anatomskom i prognostičkom težinom koronarne bolesti.

Ejekciona frakcija (EF) LK je računata korišćenjem modifikovane Simpsonove *biplane* metode. (21, 22, 24, 27, 28)

Kod svih pacijenata vršena je semikvantitativna procena longitudinalnog naprezanja/strejnja miokarda (globalnog i regionalnog) pomoću 2D *speckle tracking* metode. (29, 30)

Naprezanje (strejn ili deformacija) se definiše kao promena u dužini objekta unutar određenog pravca u odnosu na njegovu osnovnu dužinu:

$$\text{Naprezanje (\%)} = (L_t - L_0) / L_0,$$

gde je L_t dužina u vremenu t , a L_0 je početna dužina u vremenu 0.

Najčešća mera globalne sitolne funkcije LK je globalni longitudinalni strejn (GLS).

Na 2D ehokardiografiji, maksimalni GLS opisuje relativnu promenu miokarda LK između krajnje diastole i krajnje sistole:

$$\text{GLS (\%)} = (ML - ML_d) / ML_d,$$

gde je ML dužina miokarda na krajnjoj sistoli (ML) i krajnjoj diastoli (ML_d). (29)

Regionalni strejn je procenjen kao prosečni longitudinalni strejn u regiji snabdevanja leve prednje silazne koronarne arterije (*left anterior descending*, LAD), (regionalni strejn-*anterior*, RS-A), i kao zajednički regionalni longitudinalni strejn u zoni desne koronarne arterije (*right coronary artery*, RCA) i leve cirkumfleksne (*left circumflex*, LCx) kao regionalni strejn-*inferio-lateral & posterior* (RS-IP). Maksimalni longitudinalni strejn je određiva tokom prve 3 minute nakon završetka vežbanja (E). (29, 30)

Akvizicija konsektivnih slika je vršena u standardizovanim ravninama gledanja (apikalni prikaz duge ose, 4- i dvokomorski prozori) pri brzini kadrova/frejna od 50-90 u sekundi. Slike su digitalno čuvane off-line na radnoj stanici EchoPAC paket (Verzija 112). Softver je predstavljao rezultat globalnog longitudinalnog sistolnog strejna u vidu dijagrama „bikovo oko“. Sva snimanja i analize obavio je iskusni istražitelj pomoću komercijalno dostupne ultrazvučne mašine Vivid-E9 (General Electric Medical Siytems) i transdjusera M5S.

Tokom stres ehokardiografskog testa fizičkim opterećenjem na traci (Quinton 5500, Quinton Cardiology, Inc. Bothell WA, USA), korišćen je stadardni protokol po Bruce-u. Kod svih bolesnika registrovano je ukupno trajanje testa, vreme do ishemije miokarda (registrovano kao vreme do depresije ST segmenta od 1 mm) tokom testa, krvni pritisak i srčana frekvencija u miru i tokom opterećenja, proizvod srčane frekvence i krvnog pritiska (*rate pressure product*, RPP), funkcionalni kapacitet u MET-ima i Duke skor.

3.3 MSCT koronarna angiografija

Kolaterale se obično razvijaju u prisustvu hronične totalne okluzije da bi uravnotežile snabdevanje miokarda krvlju u predelu okludiranog segmenta CTO-a, a u literaturi je jasno pokazan njihova korist u protekciji miokarda i smanjenu glavnih ishemijskih srčanih neželjenih događaja. Distalni krvni sudovi, koje snabdevaju kolaterale se mogu videti na CT angiografiji, jer se njihov lumen puni kontrastom preko retrogradnih kolateralala ili anterogradnih kolateralnih mostova.

Svim našim bolesnicima je određivan skor kolateralne koronarne cirkulacije (*coronary collateral circulation*, CCC) pomoću multidetektor kompjuterizovane tomografije (MSCT) koronarne angiografije na početku i kraju studije. Uredjaj kojie je korišćen je Aquilion ONE VISION Edition; Tošiba medikal sistem (Otavara, Japan) sa detektorom 320. Beta blokator (metaprolol u dozi od 25-50mg) je davan bolesnicima sa srčanom frekvencom u miru većom od 75 otkucaja u minuti, 1 sat pre snimanja. Svi pacijenti su primili 0,3 mg sublingvalnog nitroglicerina za koronarnu vazodilataciju. Bolus kontrastnog medijuma (jodpamidol, 370 mg joda po mililitru, Ultravist; Schering, Berlin, Nemačka) ubrizgavan je u antekubitalnu venu brzinom od 4,5-5,0 ml /sek. Količina primenjenog kontrastnog sredstva određena je u skladu sa telesnom težinom pacijenta, kao što je standardizovano (31, 32). Prospektivna i retrospektivna akvizicija slika je bila trigerovana EKG-om, pri srčanoj frekveci manjoj 70 otkucaja/min. Dužina lezije na multiplanarnim rekonstruisanim slikama merena je u ravni lezije kako bi se izbeglo skraćivanje i podcenjivanje lezije. Odredjivana je dužina lezije sa kompletno odsutnom opacifikacijom lumena.

CCC je klasifikovana pomoću koronarne Rentrop klasifikacije na sledeći način: 0 = odsustvo distalnog punjenja; 1 = delimično distalno punjenje, dužine manje od jedne trećine segmenta; 2 = delimično distalno punjenje, dužine između jedne trećine i dve trećine segmenta; 3 = potpuno ili delimično distalno punjenje, dužine duže od dve trećine segmenta. CT angiografski skor 3 ukazuje na dobro razvijene kolaterale, a skorovi 0-2 na nedovoljno razvijene kolaterale.

Pokazana je dobra korelacija između koronarne CT angiografije i invazivne koronarne angiografije u proceni kolaterala kada se koristi CT angiografski skor kolaterala i Rentrop klasifikacija kod bolesnika sa hroničnom totalnom okluzijom. (31,32)

3.4 Procena simptoma srčane angine

Upitnik o stabilnoj angini (stable angina questionnaire, SAQ) je validan i pouzdan upitnik sa 19 pitanja koji u period od 4 nedelje meri 5 domena zdravlja kod pacijenata sa koronarnom bolesti: učestalost angine (angina frequency, AF), stabilnost angine (angina stability), kvalitet života (quality of life, QoL), fizičko ograničenje (physical limitation, PL) i zadovoljstvo lečenjem (treatment satisfaction, TS). Rezultati u svakom domenu se kreću od 0 do 100, a viši rezultati ukazuju na manje simptoma i bolji QoL. Učestalost angine iz perspektive pacijenata zabeležena je SAQ AF domenom, za koju se pokazalo da blisko koreliše sa svakodnevnim dnevnikom angine. Promena u skor ≥ 10 se može smatrati klinički značajnom. Iako je pokazano u literaturi da i promena od 5 u skor nije klinički u potpunosti zanemarljiva.

Rezultati SAQ upitnika dobro korelišu sa dugoročnim preživljavanjem, hospitalizacijom zbog akutnih koronarnih sindroma i upotrebom zdravstvene zaštite kod pacijenata sa koronarnom bolešću.

Iz upitnika SAQ se može izvesti i skor sumacije (SS), koji rezimira simptome, funkciju i kvalitet života angine pacijenata u jednom rezultatu i odražava prosek učestalosti angine, fizičkih ograničenja i QoL. (33, 34)

U našoj studiji mi smo procenjivali svih 5 domena SAQ, i poredili uticaj vežbanja sa heparinom sa samo vežbanjem na promenu simptoma refraktorne angine. Svi bolesnici su popunjavali upitnik pre započinjanja 2-nedeljnog treninga, i 2-4 nedelje kasnije. Poredjene su prosečne vrednosti svakog domena.

Temeljna anamneza je osnova dijagnoze i lečenja koronarne bolesti. U tom kontekstu, klasifikacija angine kardiovaskularnog društva (Canadian Cardiovascular Society angina class,

CCS) je priznata i korisna alatka za kvantifikaciju praga fizičke aktivnosti na kojima se javlja angina. Viša klasa CCSA takođe je povezana sa lošijim ishodom i većom smrtnosti, ilustrujući trajnu vrednost klasifikacije smišljene pre više od tri decenije. (35)

Class I	Ordinary physical activity does not cause angina, such as walking and climbing stairs. Angina with strenuous or rapid or prolonged exertion at work or recreation
Class II	Slight limitation of ordinary activity. Walking or climbing stairs rapidly, walking uphill, walking or stair climbing after meals, or in cold, or in wind, or under emotional stress or only during the few hours after awakening. Walking more than two blocks on level and climbing more than one flight of ordinary stairs at a normal pace and in normal conditions
Class III	Marked limitation of ordinary physical activity. Walking one or two blocks on the level and climbing one flight of stairs in normal conditions and at normal pace
Class IV	Inability to carry on a physical activity without discomfort – angina syndrome may be present at rest

Slika 4: CCS klasifikacija srčane angine (Prezeto od Kaula I sar) (35)

Svim našim bolesnicima je procenjivana klasa srčane angine po CCS klasifikaciji (slika 4), na početku studije i po završetku treninga.

Naša studija je registrovana na ClinicalTrials.gov, broj NCT03350737.

3.5 Uloga CRP, hemtoloških i faktora rasta u arteriogenezi

Poremećen razvoj kolateralnih sredstava usled porasta reaktanata u akutnoj fazi, npr. C-reaktivni protein (CRP), ukazuje na ulogu upale u ovom procesu (36, 37).

Mnogi faktori mogu uticati na razvoj CCC-a, kao što su ozbiljnost / stepen progresije koronarne stenoze, dijabetes, hipertenzija, pušenje cigareta, endotelna disfunkcija, vežbanje, endogeni medijatori, oksidativni stres i određeni lekovi.

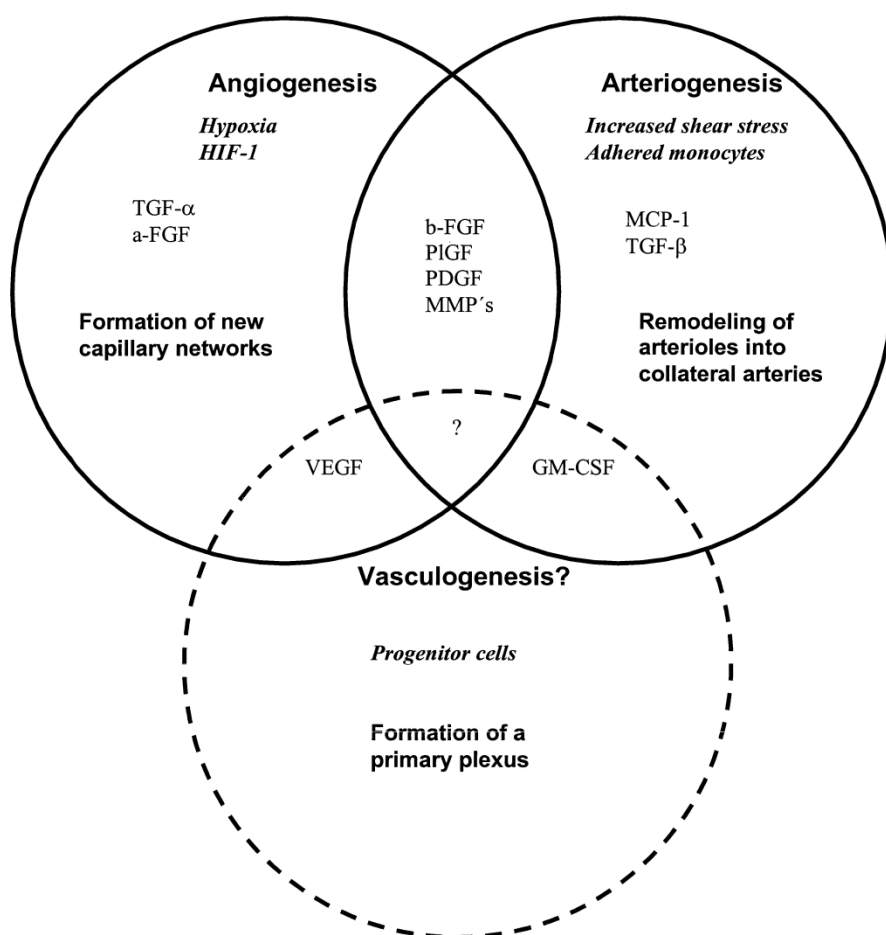
Tokom procesa razvoja CCC-a, uključeni su mnogi endogeni medijatori, poput faktora rasta, vaskularnog endotelnog faktora rasta, azotnog oksida i markera upale i neurohumoralni markeri, kao i endotelna disfunkcija. Pored toga, smatra se da proinflamatorni enzimi i citokini koji se izlučuju iz inflamatorih ćelija igraju ulogu u razvoju kolaterala. Pokazano je da CRP inhibira proizvodnju azotnog oksida i angiogenezu. (38) Takodje odnos neutrofila i limfocita (NLO) je prihvaćen kao marker upale kod kardiovaskularnih bolesti. (39)

Neutrofili su prvi elementi upale u povređenom miokardu i igraju veliku ulogu u trombotskim i upalnim procesima. Oni su uključeni u upalni odgovor (kada se zapaža značajno povećanje njihovog broja) dok limfociti igraju ulogu u specifičnom imunološkom odgovoru.

NLO se smatra efikasnijim od broja leukocita u predviđanju povećanog kardiovaskularnog rizika. (39)

Mnoga istraživanja su takodje pokazala da upala igra glavnu ulogu uloga i u početnoj fazi i u progresiji ateroskleroze (40-42). Zajedno sa endotelnom disfunkcijom, citokini TNF-a i IL-6 su prediktori lošeg kolateralnog razvoja. Štaviše, mnoga istraživanja pokazuju da su visoke koncentracije hs-CRP povezane sa nedovoljnim razvojem CCC-a. (43, 44)

Procesi arteriogeneze i angiogeneze podrazumevaju različite citokine i faktore rasta, od kojih se neki i preklapaju. Na slici 5 ptikazani su faktori rasta koji imaju značajnu ulogu u ovim procesima. (Preuzeto iz van Royen i sar.) (45)



Slika 5: Prikazana su tri oblika rasta i razvoja krvnih sudova, angiogeneza, arteriogeneza i vaskulogeneza. Posoje razlike u mehanizmim indukcije, kao i u uključivanju medijatora i faktora rasta. Na dalje, dolazi i do preklapanja procesa angiogeneze, arteriogeneze i vaskulogeneze.

3.6 Statistička analiza

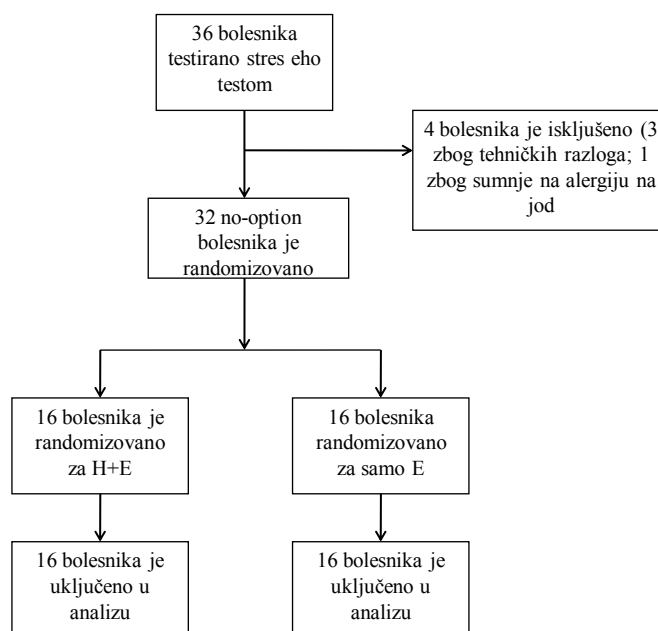
Veličina uzorka je napravljena da bi se detektovala klinički značajna razlika sa snagom od 80% za izabrane ishode uz alfa grešku $\alpha=0.05$, pri čemu se dobija uzorak od 16 bolesnika u svakoj grupi ispitanika. Za sekundarni ishod, WMSI pri maksimalnom opterećenju=1.4, sa 0.25 standardnom devijacijom, i sa očekivanim, klinički značajnim poboljšanjem od 0.225 dobija se uzorak od 16 bolesnika u svakoj grupi. Za vrednost CCC od 1.0 uz standardnu devijaciju od 0.5 i očekivano poboljšanje od 0.5, potreban broj bolesnika po studijskoj grupi je bio 14.

Svi kontinuirani podaci prikazani su kao srednja \pm standardna devijacija. Razlike u osnovnim karakteristikama između grupa analizirane su Studentovim t testom, koji je korišćen za kontinuirane varijable i hi-kvadrat odn. Fisher-ovim egzaktnim testom ako su podaci bili kategorije. Rezultati nakon i pre treninga analizirani su hi-kvadrat testom (npr. Klasa angine) i Studentovim t testom za vezane uzorke (za pretpostavljenu normalnu raspodelu podataka kao što je WMSI). U slučaju raspodele podataka koja nije normalna, korišćen je neparametarski test rangiranja Vitni. Razlike su smatrane statistički značajnim kada je dvostrana p vrednost < 0.05 . Sve statističke analize su radjene korišćenjem SPSS statističkog paketa za Vindows (Verzija 21.0).

4.REZULTATI

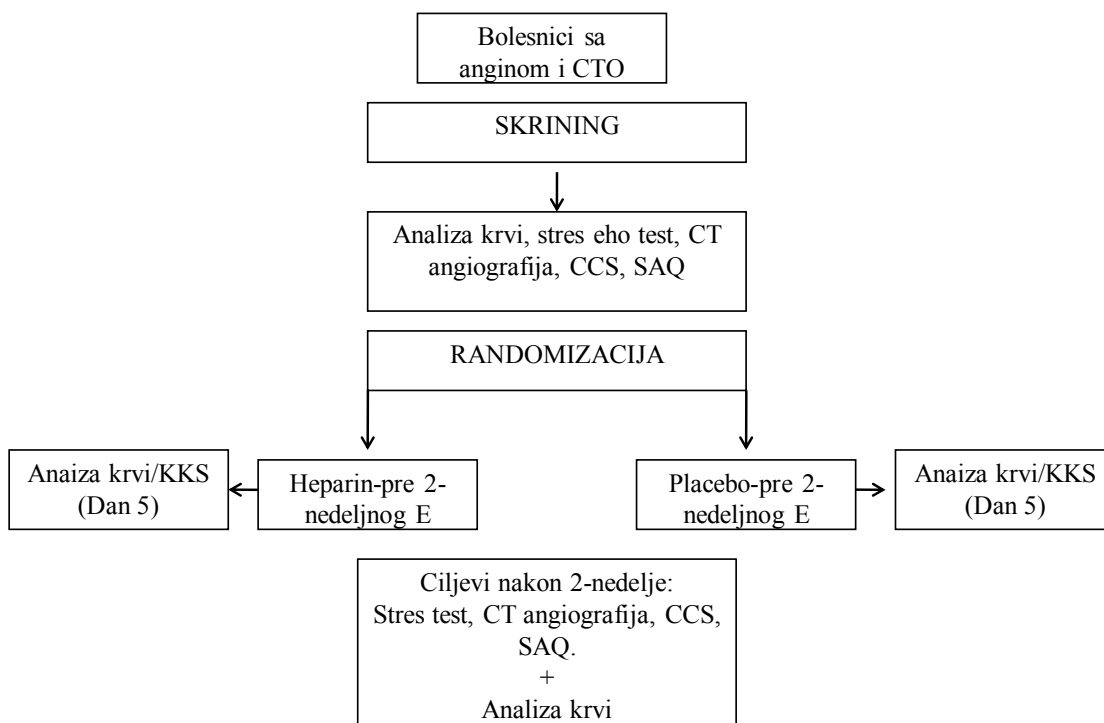
4.1 Izvodljivost metode, sigurnost i karakteristike ispitivane populacije

Između maja 2013. i januara 2019. godine, 32 “no-option” pacijenta (27 muškaraca, 5 žena; prosečne starosti 61 ± 8 godina) su završili dvonedeljni ciklus E (16 u svakoj grupi). Od 36 pacijenata, testiranih u inicijalnoj fazi, njih četvoro nije nastavilo istraživanje: jedan zbog alergije manifestovane na koži i tri zbog suboptimalnog tehničkog / CT snimanja (Slika 6).



Slika 6: CARHEXA profil studije. Svi uključeni bolesnici imali su simptome refraktarne srčane angine. Medikamentna terapija je bila optimizovana, a bolesnici su imali bar jednu koronarnu arteriju sa CTO. Svi pacijenti koji ispunjavaju uslove su dali pisani informisani pristanak i bili su podvrgnuti neinvazivnoj proceni ishemije miokarda sa SE i CCC sa MSCT. Pacijenti sa ishemijom miokarda tokom SE testa randomizovani su u dve grupe, u grupu H+E i u grupu koja vežba bez heparina (sa placebo). Pacijenti su imali pravo da se povuku i odustanu od učestvovanja u bilo kojem trenutku bez obrazloženja. OMT = optimalna medikamentna terapija; CTO = hronična totalna okluzija; SE = stresna ehokardiografija; CCC = koronarna kolateralna cirkulacija; CT = kompjuterizovana tomografija; H = heparin.

Dizajn studije prikazan je na slici 7. Svi pacijenti su neometano i bez neželjenih događaja završili istraživanje.



Slika 7: CARHEXA dizajn studije. KKS je kontrolisana 5. dana radi praćenja mogućih neželjenih efekata heparina (trombocitopenije izazvana heparinom, HIT), pre i posle ciklusa terapije. Takodje je praćen broj neutrofila i leukocita, kao i funkcija bubrega i C-reaktivni protein. CTO = hronična totalna okluzija; CCS = Kanadsko kardiovaskularno društvo; SAK = upitnik

Karakteristike pacijenata sumirane su u **Tabeli 1**. Obe grupe su bile sličnih karakteristika, osim u po pitanju pušenja cigareta (preovlađujuće u H + E grupi,) i prisustva povišenog krvnog pritiska (preovlađujuće u P + E grupi). Prisustvo CTO u LAD arteriji je bila češće u P + E grupi. Dvosudovna i trosudovna koronarna bolest su bile najzastupljeniji oblik koronarne bolesti u obe ispitivane grupe (16 pacijenata u H + E grupi i 14 u E grupi).

Tabela 1: Karakteristike bolesnika.

Variable	H+E (n=16)	E (n=16)	p
Starost (srednja vrednost, godine)	60 ± 9.6	62.5 ± 7.1	0.432
Pol (muški, %)	14 (87.5)	13 (81.3)	0.626
BMI (srednja vrednost, kg/m ²)	26.8 ± 2.7	28.9 ± 4.0	0.080
Pušenje cigareta (%)	15 (93.8)	9 (53.3)	0.014
Hipertenzija (%)	11 (68.8)	16 (100)	0.015
Hiperlipidemija (%)	14 (87.5)	16 (100)	0.144
Ukupan holesterol (srednja vrednost, mmol/l)	5.0 ± 1.9	4.8 ± 1.6	0.783
Šećerna bolest (%)	2 (12.5)	3 (18.8)	0.626
ACEi/ARB (%)	14 (87.5)	14 (87.5)	1.000
Beta blokatori (%)	14 (87.5)	16 (100)	0.144
Nitrati (%)	7 (43.8)	10 (62.5)	0.288
Statini (%)	14 (87.5)	15 (93.8)	0.544
Aspirin (%)	16 (100)	14 (87.5)	0.144
Klopidogrel/Tikagrelor (%)	5 (31.3)	5 (31.3)	1.000
Mitralna regurgitacija 1+ (%)	13 (81.3)	12 (75)	0.512
Trajanje koronarne bolesti (srednja vrednost, meseci)	101 ± 86	85 ± 66	0.553
Koronarni bajpas graft (%)	3 (18.8)	7 (43.8)	0.127
Prethodni infarct miokarda (%)	14 (87.5)	11 (68.8)	0.200
CTO LAD (%)	1 (6.3)	6 (37.5)	0.033
CTO RCA (%)	11 (68.8)	7 (43.8)	0.154
CTO LCx (%)	2 (12.5)	1 (6.3)	0.544
Multi CTO (%)	2 (12.5)	2 (12.5)	1.000
Pokušaj PCI-a (%)	5 (31.3)	5 (31.3)	1.000

BMI = indeks telesne mase, ACEi / ARB = inhibitori angiotenzin konvertujućeg enzima / blokatori receptora angiotenzina II tipa 1, CTO = hronična totalna okluzija, LAD = leva prednja silazna koronarna arterija, RCA = desna koronarna arterija, LCx = leva cirkumfleksna arterija, PCI = perkutana koronarna intervencija.

4.2 Funkcionalne karakteristike bolesnika tokom testa opterećenja

U **Tabeli 2** su prikazani funkcionalni rezultati stresokardiografskog testa, pre i nakon 2-nedeljnog ciklusa vežbanja.

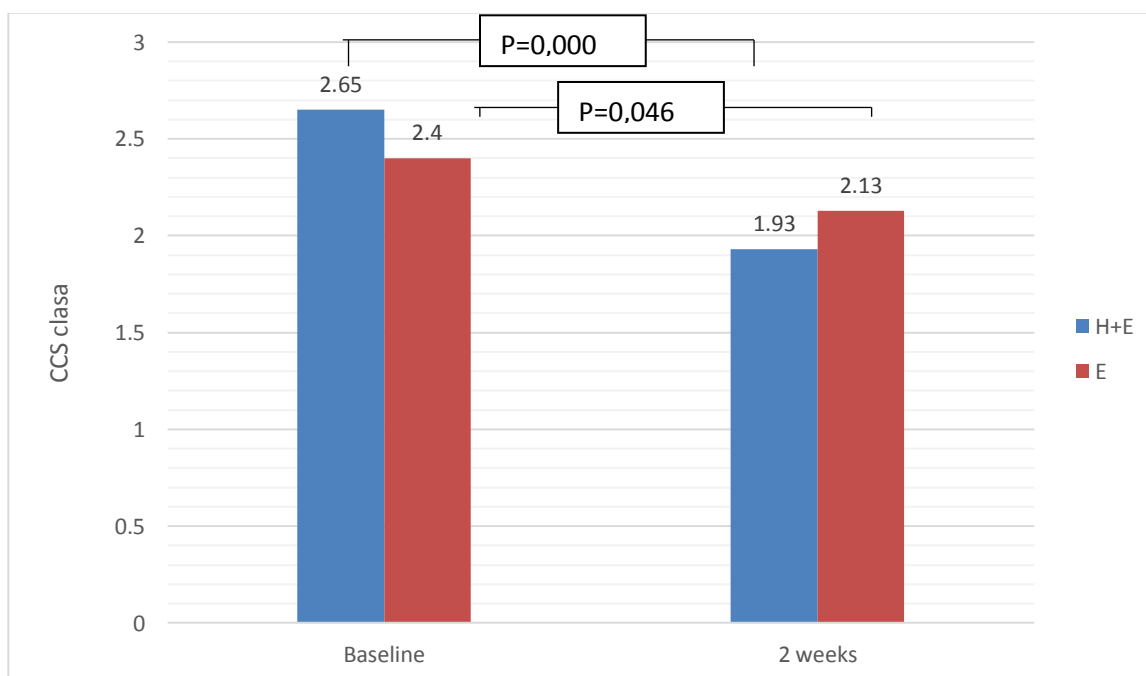
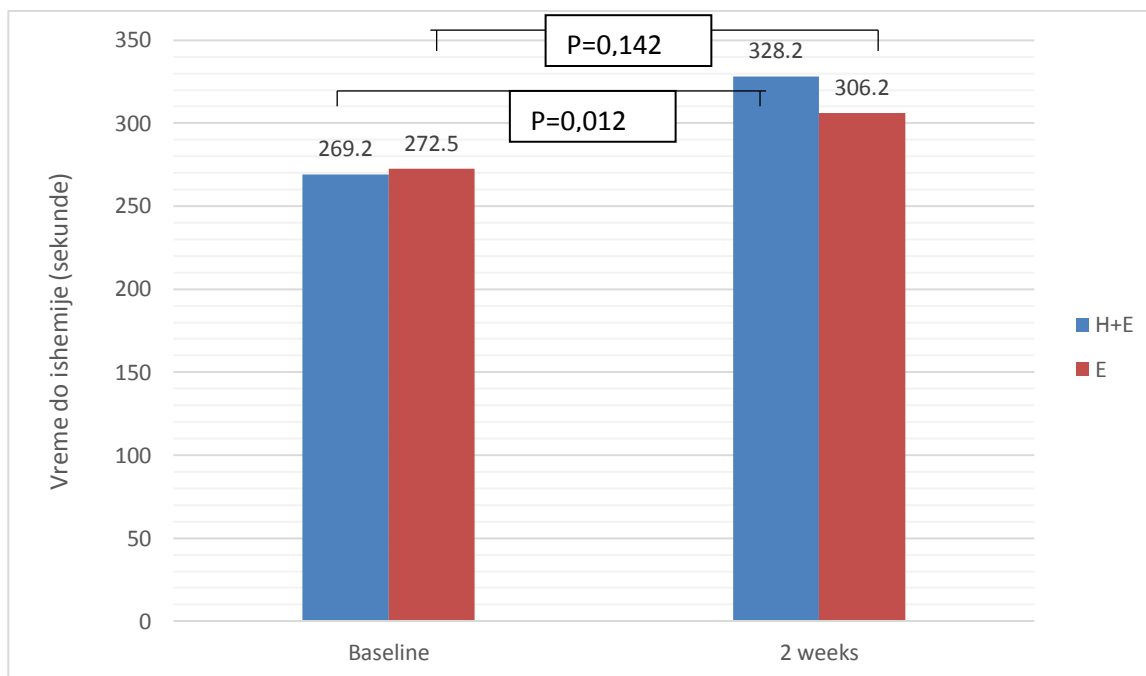
Tabela 2: Karakteristike bolesnika tokom stresokardiografskog testa opterećenjem

Variable	H+E (n=16)	E (n=16)	p
Mir SKP_B (srednja vrednost, mmHg)	126 ± 13	133 ± 15	0.168
Mir SKP_2W (srednja vrednost, mmHg)	122 ± 13	120 ± 11	0.607
P	0.540	0.003	
Mir DKP_B (srednja vrednost, mmHg)	80 ± 8	81 ± 9	0.834
Mir DKP_2W (srednja vrednost, mmHg)	74 ± 9	76 ± 9	0.475
P	0.135	0.114	
Mir SF_B (srednja vrednost, s)	67 ± 7	67 ± 9	0.931
Mir SF_2W (srednja vrednost, s)	67 ± 10	66 ± 9	0.863
P	0.768	0.848	
Mir RPP_B (srednja vrednost, mmHg/min)	8507 ± 1632	8956 ± 1713	0.454
Mir test RPP_2W (srednja vrednost, mmHg/min)	8203 ± 1608	7945 ± 1207	0.603
P	0.821	0.026	
Kraj testa SBP_B (srednja vrednost, mmHg)	153 ± 20	159 ± 27	0.462
Kraj testa SBP_2W (srednja vrednost, mmHg)	156 ± 16	149 ± 19	0.265
P	0.465	0.055	
Kraj testa DBP_B (srednja vrednost, mmHg)	86 ± 7.3	86 ± 8.4	0.911
Kraj testa DBP_2W (srednja vrednost, mmHg)	84 ± 7.2	81 ± 6.4	0.356
P	0.494	0.072	
Kraj testa HR_B	127 ± 17	129 ± 16	0.709
Kraj testa HR_2W	123 ± 13	130 ± 12	0.125
P	0.536	0.834	
Kraj testa RPP_B (srednja vrednost, mmHg/min)	19324 ± 4538	20941 ± 5424	0.503
Kraj testa RPP_2W (srednja vrednost, mmHg/min)	19292 ± 3113	19303 ± 3303	0.988
P	0.976	0.249	
Duke skor_B (srednja vrednost)	0.9 ± 4.7	3.2 ± 4.7	0.273
Duke skor_2W (srednja vrednost)	4.3 ± 4.4	5.6 ± 3.0	0.343
P	0.005	0.012	
Vreme-do-ishemije_B (mediana, IQ 25-75, s)	270 (228-327)	233 (163-322)	0.959
Vreme-do-ishemije_2W (mediana, IQ 25-75, s)	339 (280-360)	285 (191-415)	0.652
P	0.012	0.142	

CCS= Canadian Cardiovascular Society, SBP=sistolni krvni pritisak, DKP=dijastolni krvni pritisak, SF=srčana frekvenca, RPP=rate-pressure product (proizvod srčane frekvence i krvnog pritiska).

U grupi H + E primetili smo značajno povećanje vremena do ishemijske miokarda-depresije od 1 mm u ST-segmente, dok su se Duke-ov skor i klasa angine angine klase poboljšali u obe studijske grupe. (Slika 8)

Veličina efekta H+E na glavne ciljeve je bila veoma snažna za CCS (0.89, 95% CI 0.452-1.436) i CCC (0.87, 95% CI 0.481-1.363), a osrednja za WMSI (0.43, 95% CI 0.145-0.760).



Slika 8: Prosečno vreme do depresije ST segmenta od 1 mm (A-gornji panel), i prosečna promena u CCS klasi sa vežbanjem (B-donji panel) za dve grupe pre i nakon 2. nedelje. Plava traka: H + E; crvena traka: E. kod pacijenta sa H-om, vreme do depresije ST-segmenta od 1 mm statistički se povećalo u poređenju na pacijente sa samo E. Svi pacijenti su poboljšali CCS klasu vežbanjem.

4.3 Stres ehokardiografski test pre i nakon terapijskog ciklusa

U sledećoj **Tabeli 3** su prikazani rezultati stres ehokardiografskog testa pre i nakon 2 nedelje vežbanja.

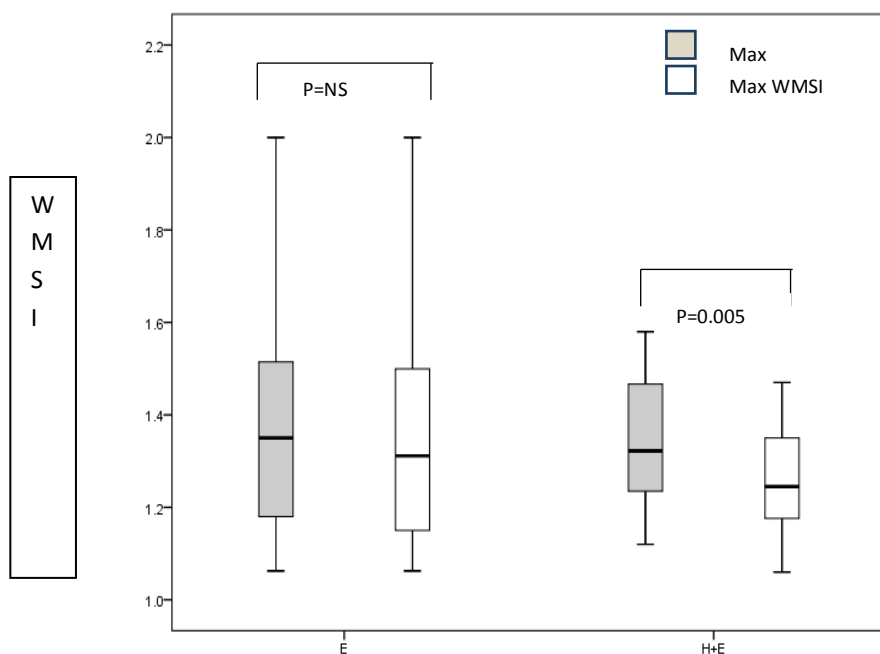
Tabela 3: SEHO test pre i posle terapijskog ciklusa.

Variable	H+E (n=16)	E (n=16)	p
Mir EF_B (srednja vrednost, %)	59.7 ± 7.5	55.3 ± 9.4	0.166
Mir EF_2W (srednja vrednost, %)	60.1 ± 7.9	54.9 ± 8.8	0.090
p	0.414	0.739	
Mir WMSI_B (srednja vrednost)	1.16 ± 0.13	1.16 ± 0.20	0.956
Mir WMSI_2W (srednja vrednost)	1.16 ± 0.13	1.16 ± 0.20	0.949
p	0.610	0.333	
Mir GLS_B (srednja vrednost, %)	-17.07 ± 3.56	-15.14 ± 2.24	0.087
Mir GLS_2W (srednja vrednost, %)	-16.67 ± 3.39	-15.31 ± 3.37	0.286
p	0.127	0.514	
Kraj testa EF_B (srednja vrednost, %)	60.9 ± 9.3	61.2 ± 11.4	0.943
Kraj testa EF_2W (srednja vrednost, %)	64.8 ± 7.1	57.8 ± 7.7	0.016
p	0.016	0.284	
Kraj testa WMSI_B (srednja vrednost)	1.38 ± 0.25	1.40 ± 0.27	0.626
Kraj testa WMSI_2W (srednja vrednost)	1.28 ± 0.18	1.38 ± 0.27	0.255
p	0.005	0.290	
Kraj testa GLS_B (srednja vrednost, %)	-16.96 ± 2.93	-15.79 ± 3.51	0.325
Kraj testa GLS_2W (srednja vrednost, %)	-18.80 ± 3.33	-15.50 ± 3.57	0.027
p	0.001	0.380	

EF=ejekciona frakcija, GLS=globalni longitudinal strjen, WMSI=wall motion score index (indeks pokretljivosti zidova miokarda leve komore).

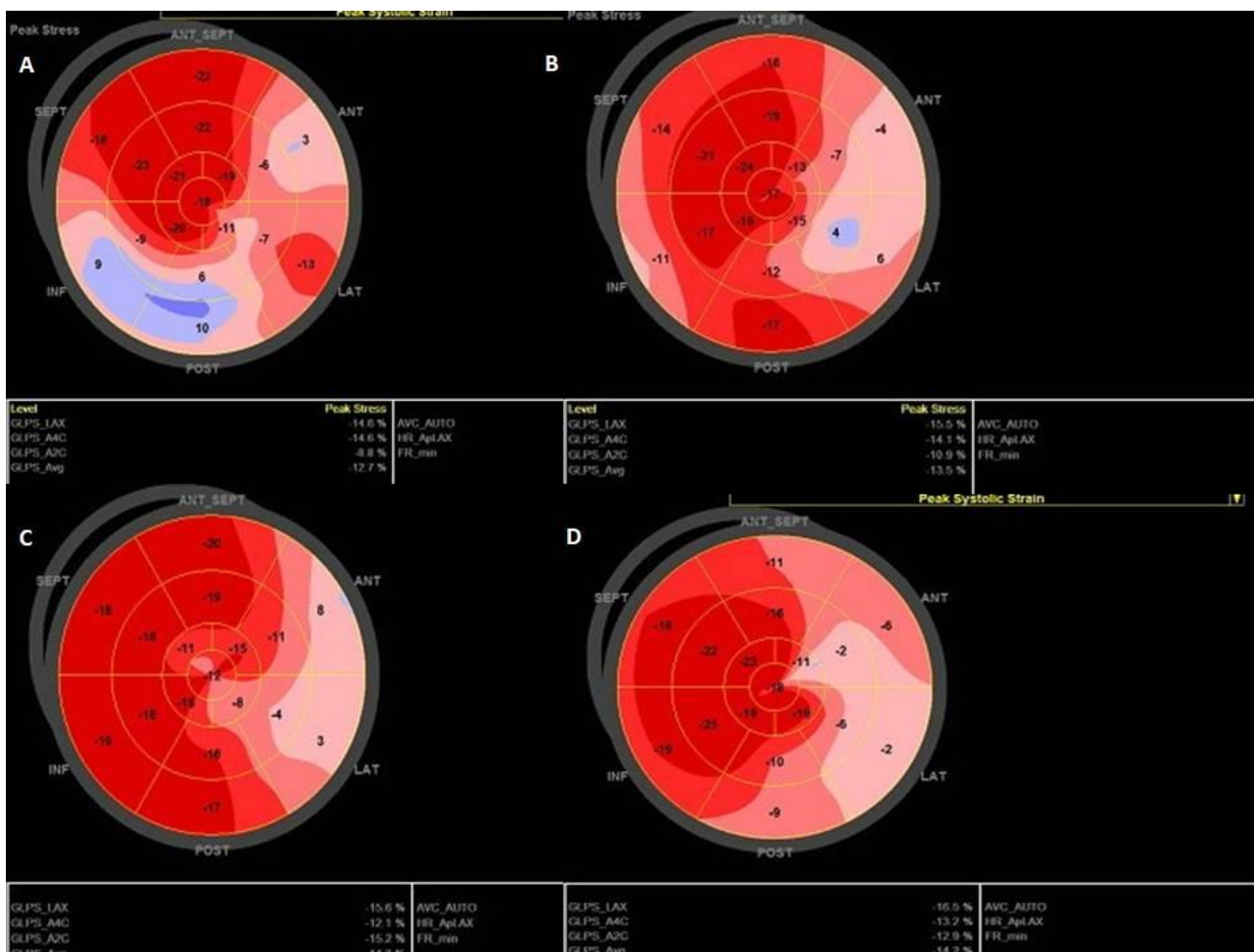
Pacijenti u H + E grupi imali su veće funkcionalno poboljšanje nakon terapije, što su pokazali niži WMSI, viša EF i niži GLS pri maksimalnom fizičkom opterećenju. Pored toga, GLS u regiji CTO statistički se poboljšao samo kod pacijenata sa H + E (od $-16,33 \pm 6,83\%$ pre, do $-19,04 \pm 7,39\%$, posle, $p = 0,014$).

Promena WMSI pri maksimalnom opterećenju pre i nakon 2-nedeljnog vežbanja prikazana je na **Slici 9**.



Slika 9: Promena WMSI pri maksimalnom fizičkom opterećenju (stress echo testu). WMSI=indeks pokretljivosti zidova leve komore.

Promena GLS pri maksimalnom fizičkom opterećenju u obe studijske grupe prikazana je na sledećoj **Slici 10**.



Slika 10: Prosečni maksimalni GLS pre (3A, GLS od -12,7%) i posle terapijskog dvonedeljnog ciklusa (3B, GLS od -13,5%) kod pacijenta sa Heparinskom premedikacijom (medijalna RCA CTO) i u placebo- grupi (medijalna RCA i proksimalna-Leva cirkumfleksna CTO) (3C-pre terapijskog ciklusa, GLS -14,3%; 3D-nakon 2-nedeljnog ciklusa, GLS -14,2%).

GLS = globalni longitudinalni strejg; H = heparin; CTO = hronična totalna okluzija; RCA = desna koronarna arterija, LCx = leva cirkumfleksna arterija.

Medjuposmatračka varijabilnost (prilagođeni koeficijenti varijacije / CV) je bila 3,9% za WMSI, 4,7% za LVEF i 8,1% za GLS. Stopa tehničkog uspeha u setu od 128 studija (2 pre i 2 posle terapije, za svakog od 32 pacijenta) bila je 128/128 za VMSI (100%), 124/128 za EF (97%) i 122/128 za GLS (95%). Analize GLS rađene su pri brzini otkucaja srca ≤ 120 otkucaja u minuti (prosečno 100 otkucaja u minuti).

4.4 Rezultati Sietel upitnika kod bolesnika pre i nakon terapijskog ciklusa

Klinički važna promena od više od 10 poena u SAQ primećena je u pogledu stabilnosti angine i percepcije bolesti / QOL kod pacijenata sa H + E i u učestalosti angine u E grupi. Nije bilo statistički značajne razlike u dvonedeljnom broju koraka (ukupna fizička aktivnost) između grupa (prosečna vrednost, 66091 ± 56789 u H + E naspram 112021 ± 77065 , $p = 0,165$). (Tabela 4)

Tabela 4: Rezultati Sietel upitnika o simptomima stabilne angine pre i posle vežbanja

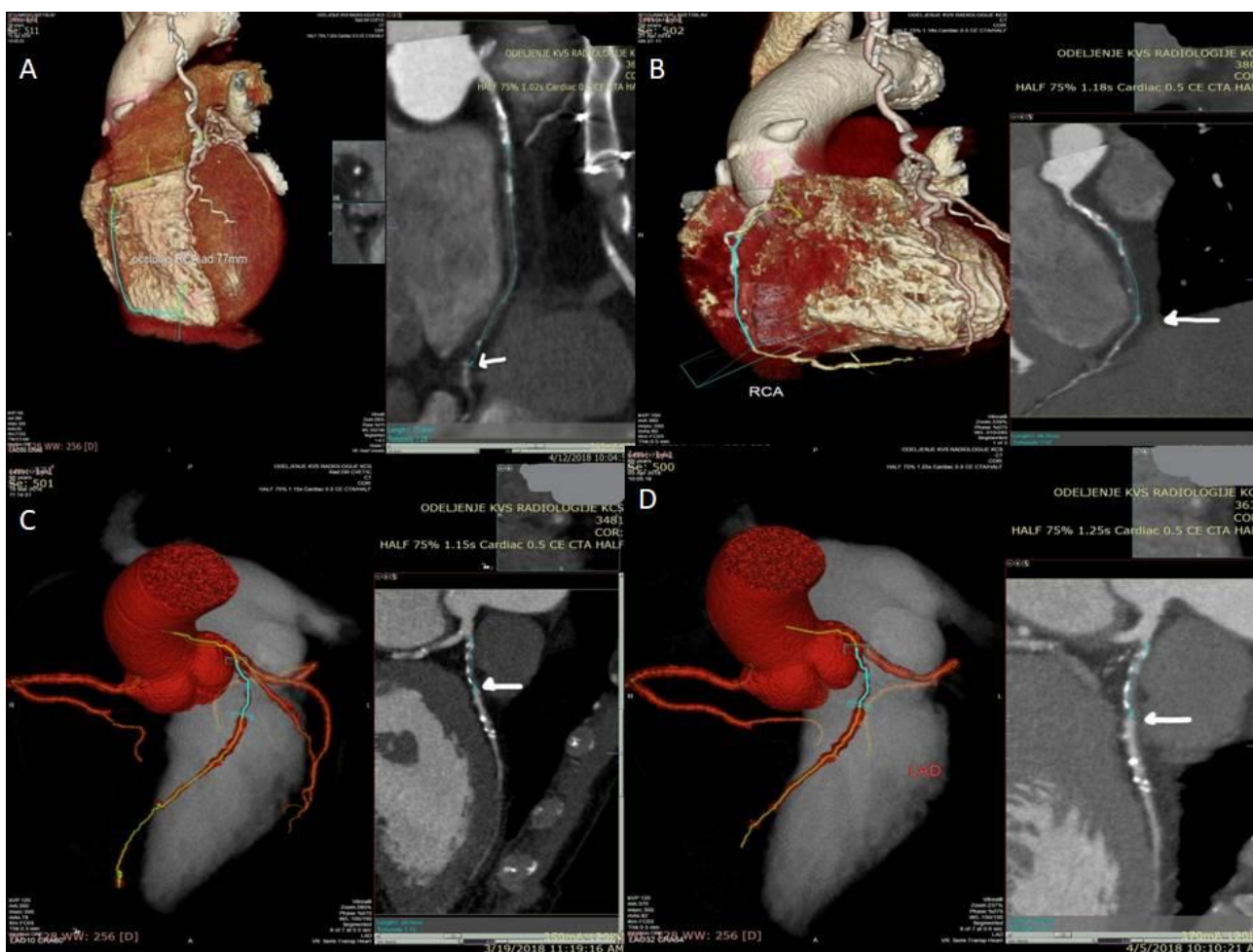
Variable	H+E (n=16)	E (n=16)
Fizička limitacija_B (mean)	64 ± 25	73 ± 22
Fizička limitacija_2W (mean)	65 ± 20	77 ± 19
Stabilnost angine_B (mean)	52 ± 22	60 ± 27
Stabilnost angine_2W (mean)	$62 \pm 13^*$	65 ± 25
Učestalost angine_B (mean)	77 ± 24	78 ± 29
Učestalost angine_2W (mean)	85 ± 19	$88 \pm 12^*$
Zadovoljstvo lečenjem_B (mean)	81 ± 17	83 ± 18
Zadovoljstvo lečenjem_2W (mean)	88 ± 13	90 ± 14
Percepcija bolesti_B (mean)	58 ± 25	63 ± 18
Percepcija bolesti_2W (mean)	$69 \pm 21^*$	72 ± 18

*Klinički značajna promena

4.5 Rezultati MSCT koronarne angiografije pre i posle terapijskog ciklusa

Podaci o koronarnoj kolateralnoj cirkulaciji. Medjuposmatračka varijabilnost (prilagođeni CV) za Rentrop skor je bila 3,9%. Kod jednog bolesnika sa H + E MSCT snimanje nakon dvonedeljnog ciklusa nije izvršeno iz tehničkih razloga.

Klasa Rentropa poboljšala se sa $0,73 \pm 0,88$ na $1,6 \pm 0,99$ ($p = 0,001$) kod pacijenata koji su primali H, dok je u E grupi nepromenjena ($1,06 \pm 1,06$ pre vežbanja na $1,19 \pm 1,05$ posle vežbanja, $p = 0,157$) (Slika 11). Na nivou pojedinačnog pacijenta, nivo CCC se poboljšao kod 2/16 (12,5%) pacijenata u E i 12/15 (80%) u H + E grupi ($p < 0,001$).



Slika 11: CT angiografija pre i posle dvonedeljnog lečenja kod jednog pacijenta u H + E grupi i jednog pacijenta u E grupi. Pacijent sa primenom H (sa proksimalnom RCA CTO) je poboljšao stepen Rentropa vežbanjem (A = pre, B = posle), dok pacijent sa samo vežbanjem (sa proksimalnom / medijlanom CTO-om LAD-a) nije poboljšao stepen Rentropa (C = pre, D = posle). Angiografsko poboljšanje kolaterala pokazano je belim strelicama na kraju kolateralizacije.

H = heparin; E = vežbanje; CTO = hronična totalna okluzija; RCA = desna koronarna arterija; LAD = levo prednja descendentna koronarna arterija.

4.6 Hematološke i biohemijske karakteristike bolesnika

Između grupa bolesnika koji su veđbali sa i bez H, nije postojala statistički značajan razlika u visoko senzitivnom C-reaktivnom proteinu pre i nakon završetka 2-nedeljnog vežbanja.

Takodje nije uočena statistički značajna razlika ni u broju leukocita, neutrofila, limfocita, odnosu neutrofila i limfocita (NLO) kao ni u broju trombocita. Jedino je uočeno statistički značajno povećanje broja trombocita nakon 2 nedeje u grupi E. (**Tabela 5**)

Tabela 6: Hematološke i biohemijske karakteristike bolesnika.

Varijable	H+E	H	p
CRP_B	2.46±1.31	3.20±2.08	0.494
CRP_2W	3.08±2.50	3.49±3.41	0.438
P	0.436	0.797	
Bela krvna zrnca_B	7.03±1.33	6.68±1.47	0.513
Bela krvna zrnca_2W	6.79±2.00	7.06±1.54	0.690
P	0.451	0.465	
Neutrofili_B	4.30±0.89	3.85±1.35	0.708
Neutrofili_2W	4.28±1.53	4.03±1.47	0.772
P	0.940	0.762	
Limfociti_B	2.03±0.67	2.09±0.74	0.953
Limfociti_2W	1.86±0.51	2.11±0.42	0.149
P	0.217	0.886	
NLO_B	2.29±0.72	2.22±1.55	0.991
NLO_2W	2.34±0.60	1.95±0.79	0.142
P	0.782	0.640	
Trombociti_B	209±43	189±39	0.244
Trombociti_2W	188±37	217±36	0.634
P	0.285	0.002	

CRP: C-reaktivni protein; NLO: neutrofili/limfociti odnos; 2W: 2 nedelje; B: bazalna vrednost (pre vežbanja).

5. DISKUSIJA

Refraktorna angina odnosi se na prisustvo dugotrajnih simptoma (> 3 meseca) usled potvrđene reverzibilne ishemije miokarda u prisustvu opstruktivne koronarne bolesti, koja se ne može kontrolisati optimizacijom medikamentne terapije (upotrebom farmakoloških lekova druge i treće linije), revaskularizacijom hirurgijom ili stavljanjem stentira, uključujući i PCI hronične totalne koronarne okluzije. Incidencija refraktorne angine raste sa napredovanjem koronarne bolesti, porastom komorbiditeta, i starenjem stanovništva. Kvalitet života pacijenata sa refraktornom anginom je loš, sa čestim hospitalizacijama i visokim nivoom korišćenja zdravstvenog resursa. Broj potencijalnih opcija za lečenje refraktorne srčane angine se povećava, ali nivo dokaza koji ih podržava, sigurnost i efikasnost varira od nepostojećih (u slučaju transmiodardne primene lasera) do obećavajućih. (2)

Kada su konvencionalni ciljevi za smanjenje ishemije miokarda iscrpljeni (kroz povećanje dovoda protoka krvi hranjivih materija i / ili smanjenje konzumiranja kiseonika), nove terapije se mogu rangirati po mehanizmu delovanja: promociji rasta kolaterala, transmuralnoj redistribuciji protoka krvi i neuromodulaciji sindroma srčanog bola (angine).

Značaj i STARTSTIM i RENEW studije (koja je procenjivala efikasnost i sigurnost ciljane intramiokardne isporuke auto CD34+ matičnih ćelija za poboljšanje sposobnosti vežbanja kod bolesnika sa refraktornom anginom) bio je mali zbog prevremenog prekida studije. Mada treba napomenuti da sub analiza na 304 pacijenata iz 3 dvostruko slepe, placebo-kontrolisane studije (među kojima je bila I RENEW) je pokazala da aktivno lečenje autologim hematopoetskim ćelijama utiče značajno na vreme vežbanja i učestalost angine. (2)

Na osnovu pozitivnih rezultata dve randomizovane kontrolisane studije u malim grupama pacijenata, i pojačana spoljna kontrapulacija i koronarni uređaj za redukciju sinusa predstavljaju alternativne mogućnosti kod pacijenata sa refraktornom angina, kada su se iscrpile sve mogućnosti za medicinsku terapiju i revaskularizaciju. Kontrolisano sužavanje koronarnog sinusa sa implantacijom uređaja od nerđajućeg čelika povećava pritisak koronarnog sinusa, što dovodi do poboljšanja perfuzije u teritoriji LAD-a.

Ukupno dosadašnje iskustvo sa svim novim terapijskim opcijama ostaje ograničeno, kako u pogledu broja lečenih pacijenata, tako i u trajanju praćenja. S toga su potrebne veće randomizovane studije za svaki od predloženih novih modaliteta lečenja kako bi se smanjila stopa lošeg odgovora i utvrdila korist izvan potencijalnog placebo efekta. (2)

Pacijenti s teškom koronarnom bolesti najčešće stvaraju kolateralne puteve (arterije) do ishemijski teritorija miokarda, koje poboljšavaju ili u nekim slučajevima eliminišu ishemiju miokarda. Bolesnici, koji imaju kolateralne puteve imaju mnogo koristi od njih, jer prisustvo kolaterala smanjuje dugoročni mortalitet i smanjenje veličinu infarkta miokarda. Prisustvo dobro razvijenih kolaterala za 36% smanjuje rizik od dugoročne smrtnosti u poređenju sa loše razvijenim kolateralima. (46). Takodje, bolesnici sa kolateralama imaju veću EF nakon infarkta i smanjeni rizik od mehaničkih komplikacija takodje nakon infarkta miokarda (47, 48).

Međutim, postoje i mnogi bolesnici kod kojih je ovaj patofiziološki odgovor neadekvatan za kontrolu simptoma srčane angine. Nakon rođenja, formiranje novih krvnih sudova obavlja se procesima se angiogeneze ili arteriogeneze. Angiogeneza (kapilarno bujanje) rezultuje većom gustinom kapilara. Arteriogeneza (razvoj arteriola u kolateralne arterije) potencijalno može značajno promeniti ishod bolesti koronarne i periferne arterije. Za razliku od arteriogeneze, koja uključuje proliferaciju endotelnih ćelija i ćelija glatkih mišića, angiogeneza se isključivo oslanja na proliferaciju endotelnih ćelija koje formiraju kapilare. Funkcija kapilara je distribucija kiseonika i metabolita lokalno, a u ishemijskom tkivu, kapilari uklanjaju ćelijske ostatke. Stoga samo kolateralne arterije, ali ne i kapilari mogu nadoknaditi gubitak arterije izazvane stenozom. (49, 50)

Ova dva biološka procesa dele neke faktore rasta, ali su suštinski različita. Arteriogeneza je daleko učinkovitiji adaptivni mehanizam za opstanak unutrašnjih organa, kao što je srce, zbog sposobnosti da, nakon adaptivnog rasta, sprovodi relativno velike količine krvi u jedinici vremena. Povećanje broja kapilara, rezultat stimulisane angiogeneze, to nije u stanju (11).

Angiogeneza (proliferacija, migracija i formiranje kapilara u centru ishemije) je aktivirana hipoksijom. Arteriogeneza se stimuliše mehaničkim i hemijskim faktorima gde je početni faktor povećani pritisak iznad okluzije koji povećava protok krvi (stres smicanja tečnosti) u kapilarima pre okluzije, što inicira promene u kapilarnom endotelijumu (prethodno postojećih kolaterala) i započinje (bio) hemijski odgovor (51). Kako se radijus kolateralnih krvnih sudova povećava, stres smicanja tečnosti (FSS) opada i dostiže 35-40% maksimalne provodljivosti koju poseduje stenozirana arterija, sprečavajući totalni oporavak arterije sa stenozom (52).

Nakon stresa smicanja (*sheer stress*) tečnosti, upalni proces poznat kao proces urođene imunosti pokreću trombociti. Posle prolazne interakcije sa endotelom, posredovane trombocitnim glikoproteinom Ib (GPIb), P-selektin se ispoljava na površini trombocita (53). Nakon toga, P-selektin se veže za P-selektin glikoprotein ligand 1 (PSGL-1) izazivajući stvaranje trombocitnog neutrofilnog agregata (PNA), koji je povezan sa aktiviranjem neutrofilne NADPH oksidaze 2 (Nok2) i proizvodnju visokih doza reaktivnih radikala kiseonika (ROS) (54). U perivaskularnom

prostoru, ovi ROS aktiviraju mastocite da oslobode granule, što zauzvrat stvara zapaljensko okruženje. Povećavanjem biorasploživosti faktora nekroze tumora (TNF) i monocitnog proteina hemotakse-1 (MCP-1), mastociti regrutuju neutrofile u pozitivnoj povratnoj spezi i doprinose regrutovanju T ćelija i makrofaga (54). Iako funkcionalna uloga T ćelija u arteriogenezi ostaje da se rasvetli, makrofazi igraju ključnu ulogu za rast kolateralne arterije snabdevanjem faktora rasta i citokina (49, 55).

Tako hemijski efektori (faktori rasta i citokini) nastavljaju proizvodnju koronarnih kolaterala proliferacijom endotelnih i glatkih mišićnih ćelija (56, 57). Kolateralama je potrebno između 2 i 12 nedelja da u potpunosti razviju svoju funkcionalnu sposobnost (58).

U procesu arteriogeneze je pokazano da se CXCL-1 (*chemokine C-X-C motif ligand 1*) reguliše u endotelnim ćelijama pod uslovima povećanog stresa smicanja in vivo (59) i in vitro (60). Štaviše, trombociti koji su se pokazali da igraju važnu ulogu u arteriogenezi i da učestvuju u aktiviranju neutrofila pomoću PNA formacija, su bogat izvor CXCL-1 (50, 61). U nedavnoj studiji pokazalo se da je dministracija CXCL-1 značajno promovise arteriogenezu, dok blokiranje njegovog receptoar hemokin (motiv C-Ks-C) receptora 2 (CXCLR2) veoma ometa rast kolateralne arterije (62). Iako je CXCL-1 relevantan za početno regrutovanje neutrofila i oslobađanje VEGF-A u ranim fazama arteriogeneze (50, 63), MCP-1 verovatno preuzima ove funkcije za makrofage (64, 65), koji se kasnije regrutuju u perivaskularnom tkivu rastućih kolaterala kao što je prethodno naznačeno.

VEGF-A je relevantan samo za proliferaciju endotelnih ćelija u rastućim kolateralima, ali ne i za ćelije glatkih mišića (50). Ovo je još više zapanjujuće ako se znada da aktiviranje kompleksa receptora VEGFR2 / Neuropilin (NRP) 1 pomoću VEGF-A (50, 66) indukuje oslobađanje fon Vilebrandovog faktora (vWF) iz endotelnih ćelija (67). vWF predstavlja glavni ligand trombocitnog receptora GPIb alfa, a ova interakcija može pokrenuti inflamatornu kaskadu, što je kritično za proces arteriogeneze. (49)

Podaci takodje jasno pokazuju da tokom arteriogeneze VEGF-A reguliše i nivoe ekspresije oba NOS-a koji su ključni za proliferaciju vaskularne endotelne ćelije. (49)

Midokin (MK) iz ćelija koštane srži, a ne endotelni MK smatra se kritičnim za arteriogenezu i može biti koncentrisan unutar glikokaliksa endotelne ćelije. Štaviše, MK je skladišten u leukocitma može takođe doprineti povećanoj biorasploživosti VEGF-A. MK podržava adheziju neutrofila promovisući konformacionu promenu visokog afiniteta u integrinima (68). Druga studija je pokazala da se aktiviranje integrina pomoću MCP-1 rezultuje pojačanom ekspresijom nivoa VEGF-A u

makrofazima. Niski nivoi MK u plazmi kod zdravih ispitanika brzo se povećavaju nakon primene heparina. Ovi visoki nivoi MK u plazmi nakon heparina ukazuju na skladištenje MK ili na njegovu povezanost sa vaskularnim ćelijama putem proteoglikana heparan sulfata.

Ovu karakteristiku MK dele i drugi proteini koji se oslobađaju nakon administracije heparina, kao što su hemokini, antitrombin ili lipoprotein lipaza, koji se preko svojih mesta za vezanje za heparin vežu na luminalnu fazu endotelijuma (69). Nakon primene heparina u cirkulaciji heparin se može nadmetati za ta heparin-vezujuća mesta na zidovima krvnih sudova što rezultira mobilizacijom proteina. (49)

Pleiotrofin pripada porodici faktora rasta koja uključuje još jednog člana, midkin (71), a pokazano je da i pleiotrofin učestvuje u procesima rasta i diferencijacije koji su tokom razvoja usko regulisani (72). Dalje, pleiotrofin je mitogen za fibroblaste (73), epitelne ćelije (73, 74) i endotelne ćelije (73–76). Stimuliše proizvodnju aktivatora plazminogena (77), može indukovati formiranje endotelne ćelije *in vitro* (76), a *in vivo* može služiti kao faktor angiogeneze tumora. (70) Kod osoba sa dobro razvijenim koronarnim kolateralama registruje se veća vrednost pleiotrofina u poređenju sa bolesnicima sa loše razvijenim koronarnim kolateralama. (78)

U literaturi je pokazano je da davanje heparina u kombinaciji sa vežbanjem ima potencijal za lečenje pacijenata sa anginom, koja se javlja u naporu kada nije moguće poboljšati koronarni protok reperfuzijom ili samo lekovima (79).

Heparin, koji su McLean i Hovell otkrili pre više od 100 godina je sulfatni linearni polisaharid proizveden u mastocitima sa molekulskom masom (MM) u rasponu od 3-30 kDa, sa prosečnom MM od 15 kDa (80, 81). Deluje kao kofaktor različitih proteaza uključenih u koagulaciju i klinički se koristi u profilaksi i lečenju venskog tromboembolizma od 1940-ih. Heparin se takođe koristi kao farmaceutsko sredstvo za lečenje pacijenata koji su podvrgnuti kardiopulmonalnom bajpasu. Pored toga što je antikoagulant, heparin se pokazao i angiogenim.

Većina serpina koji vezuju heparin a koji imaju direktnu angiogenu ulogu mogu ga takođe kontrolisati modulacijom u nivoima FXa i trombina. VEGF i FGF gube tu proangiogenu funkciju, ako je ugroženo vezivanje heparina. Derivati heparina mogu i sami po sebi funkcionisati kao moćan antikoagulant i anti-angiogeni molekul, u zavisnosti od njihove veličine (80,82), što celu interakciju između ova dva procesa čini još intrigantnijom.

Ovi podaci, zajedno, su u skladu sa izuzetno složenom interakcijom između endotelne ćelije, faktora koagulacije i angiogeneze, gde heparin i serpini imaju glavnu ulogu u ovom unakrsnom procesu. Serpin koji vezuje heparin može da kontroliše nivo heparina koji je dostupan za VEGF ili FGF u blizini endotelne ćelije radi regulisanja angiogeneze. (80)

U eksperimentu na životinjama pokazano je da heparin povećava brzinu kolateralnog razvoja indukovanu ponovljenom dvo-minutnom koronarnom okluzijom (83). Ista grupa istraživača je pokazala da heparin ubrzava koronarni kolateralni razvoj izazvan vežbanjem promovišući vaskulogenezu (84). Zaista, i u našem istraživanju Rentrop klasa kod naših pacijenata koji su primali i.v. heparin pre kontrolisanog vežbanja statistički je porasla u poredjenju sa grupom bolesnika koja nije dobijala premedikaciju heparinom. U našoj studiji, između ove dve grupe bolesnika nije bilo statističkih značajnih razlika u većini osnovnih kliničkih karakteristika pacijenata (prisustvo prethodnog infarkta miokarda, patentnost donor arterije arteriji sa CTO) i nije bilo razlike u ukupnoj fizičkoj aktivnosti tokom 2 nedelje programa vežbanja (mereno ukupnim brojem koraka).

Pa ipak precizna uloga heparina u stimulisanju arteriogeneze je još uvek nedovoljno jasna (85-87).

Heparin potencira aktivnost faktora rasta koji se oslobađaju usle vežbanja i ishemije kod pacijenata sa CAD (88, 89). Faktor rasta fibroblasta (FGF), vaskularni endotelni faktor rasta (VEGF), faktor rasta hepatocita (HGF) i adenozin, između ostalih, prepoznati su kao mitogeni za tri glavna vaskularna tipa ćelija (endotelne ćelije, ćelije glatkih mišića i fibroblasti). Svi se oslobađaju usled ishemije tokom vežbanja, a heparin ih stabilizuje ili potencira, što pokazuju eksperimentalna ispitivanja za FGF (90), VEGF (91), HGF (92) i adenozin (92). Konkretno, nivoi HGF u cirkulaciji se dramatično povećavaju nakon intravenske injekcije H (91). Jednom kada se ovi faktori aktiviraju, deluju lokalno kako bi inicirali i / ili održavali arteriogenezu. Stoga heparin sam po sebi nije u stanju da pokrene arteriogenezu, ali deluje kao pozitivan modulator arteriogenetskih procesa postaknutih ishemijom izazvanom vežbanjem (91).

VEGF deluje preko VEGF receptora-1 koji posreduje kolateralno remodeliranje (u procesu arteriogeneze) i VEGF receptora-2 (koji je više uključen u fiziološku i patološku angiogenezu) (93). Endotelijum, ćelije glatkog mišića, perikolateralni leukociti i fibroblasti i skeletni mišići potencijalni su izvori VEGF. Kod miševa, VEGF mRNA se alternativno prepisuje u tri glavne izoforme, VEGF120, 164, i 188. Izoforme velike molekularne težine, 164 i 188 sadrže motive koji vezuju heparin i koji uspostavljaju distribuciju faktora rasta. Ekspanzija izoformi VEGF164 i VEGF188, koji vežu heparin oko kolaterala mogu uspostaviti gradijente VEGF-a koji podstiču dijapedezu i proliferaciju leukocita, proliferaciju endotelnih ćelija i migraciju ćelija glatkih mišića (93). VEGF je takođe moćan vazodilatator zbog aktiviranja endotelne sinteze azot-oksida (eNOS).

Heparin smanjuje afinitet za VEGF receptor-1, ali održava aktivnost kinaze VEGF receptora-1 (još potentnije) bez net posledice gubitka funkcije VEGF / VEGF-receptor-1 u prisustvu heparina (94). Pokazano je da stress smicanja tečnosti i rastezanje povećavaju ekspresiju i aktivaciju VEGFR-2 u endotelnim ćelijama, pružajući tako lokalnu autokrinsku pozitivnu povratnu petlju (93). U procesu

zaceljenja rana, pronađeno je da domen vezivanja heparina (za faktore rasta) fon Villebrand faktora postiže angiogenezu (95). Međutim, kod nekih tumora heparin inhibira angiogenezu povezanu sa tumorom. (96)

Nedavno je prepoznata uloga mehano osetljivih mikro RNA (miRs) kao ključnih regulatora ekspresije gena kao odgovora na povredu sa jakim terapijskim potencijalom. U prisustvu bolesti periferne arterije (periphery artery disease, PAD) (životinjski model) inhibicija mehano osetljivih mikro RNA (miRs) 146a, 100 i 199a ili prekomerna ekspresija miR 93 povećava oporavak perfuzije posle okluzije putem pojačane arteriogeneze bez efekata na angiogenezu (98). Konačno, precizan mehanizam funkcije heparina u koronarnoj arteriogenezi kada je prisutan CTO tek treba da se razjasni u budućim ispitivanjima, ali kada je u kombinaciji sa vežbanjem njegovi efekti su vidljivi kao u našem ispitivanju.

Meier i saradnici su pokazali in vivo da G-CSF (factor stimulacije granulocitne kolonije) stimuliše koronarni kolateralni rast mereno preko CFI. (98).

Pored G-CSF-a, dobro su ispitivane supstance sa arteriogenom efikasnošću, kao što je monocitni protein hemotakse-1 (99); još jedan faktor koji stimuliše koloniju, granulocitni monocitni CSF (GM-CSF); transformirajući faktor rasta beta 1 (100, 101); faktori rasta fibroblasta (102); faktor nekroze tumora alfa (103) i matriks metaloproteinaze. (98, 104, 105)

Među njima za kliničku upotrebu su ispitivani samo faktori koji stimulišu koloniju kod koronarne ili periferne arterije, pri čemu se pokazalo da je GM-CSF efikasan u prvom, ali ne i u drugom slučaju. Iako je snažan arteriogeni faktor, pokazalo se da monocitni protein hemotakse-1 nije pogodan za kliničku upotrebu zbog svojih aterogenih nus pojava. (98)

Poznato je da faktor rasta fibroblasta (FGF) i faktor rasta trombovita (PDGF) izazivaju mitozu i u endotelijalnim ćelijama i u glatkim mišićnim ćelijama i takođe vrše druge mitogene efekte, poput promovisanja migracije ćelija i diferencijacije. Bazični FGF stimuliše ove mitogene efekte vezanjem na FGF receptore (FGFR) izraženim na površini ćelija. (7)

Ipak, nema mnogo istraživanja koja su pokušala razjasniti mehanizme rasta i rezultati su neskladni verovatno zbog nedosledne metode kojom se meri rast koronarnog kolaterala (7). Međutim, pokazalo se da sedam nedelja povremene spoljne kontra pulsacije može povećati stvaranje koronarnih kolaterala kod 23 pacijenta sa stabilnom srčanom anginom (106). Takođe, kolateralni protok krvi je povećan kod 40 pacijenata (sa prethodnim PCI-om bolesnih koronarnih krvnih sudova) nakon redovne fizičkog vežbanja (3 puta nedeljno tokom 3 meseca) (107). Ovo istraživanje kasnije je dovelo u pitanje povoljnu ulogu ishemije u vaskulogenezi, što je rezultiralo zaključkom da perkutane koronarne intervencije verovatno nisu u potpunosti razrešile kompletnu ishemiju

miokarda (odnosno da nije uvek moguća kompletna revaskularizacija). Dalje, pretpostavlja se da bi vežbanje moglo podmladiti oštećenu vaskularnu mrežu mobilizacijom i aktivacijom cirkulišućih progenitorskih ćelija (CPC) i tako poboljšati perfuziju miokarda (108).

Na nivou ćelija, vežbanje (produženo i visokog intenziteta) utiče na aktivnost telomeraza i dužinu telomeraze, smanjujući uticaj bolesti povezanih sa starenjem (109). U prisustvu CTO koronarne arterije, stres vežbanja povećava koronarni kolateralni protok pomoću vazodilatacije rezistentnih krvnih sudova u području koje inače snabdeva okludirana arterija, čime se pokreće arteriogeneza (85).

Odredjivanje indeksa koronarnog protoka (coronary flow index, CFI) predlaže se kao bolja metoda za verifikaciju rasta kolaterala od koronarne angiografije (8, 47). Povećani CFI vežbanjem može biti rezultat većeg regrutovanja postojećih krvnih sudova ili poboljšanja endotelne funkcije malih intra-miokardnih sudova stimulisanih redovnim fizičkim vežbanjem, koje angiografija ne može vizualizovati (intra-miokardni kolateralni sudovi <100 μm u luminalnom prečniku). Povećani CFI se takođe primećuje kod prisustva CTO (7, 56, 84).

Kompjuterizovana tomografija (CT) sa angiografijom se može koristiti za procenu CCC-a jer je pokazano da se slaže sa klasifikacijom Rentrop zasnovanoj na invazivnoj koronarnoj angiografiji (intracoronary angiography, ICA) (110, 111). Koronarna CT angiografija može se koristiti za pouzdanu procenu prisustva kolaterala na osnovu njenog semikvantitativnog sistema bodovanja. Takođe, koronarna CT angiografija može neinvazivno dati prognostičke informacije, jer je prisustvo relevantnih kolaterala (Rentrop 2 i 3) povezano sa manjom učestalošću q-zubaca, pozitivnih rezultata na testu vežbanjem, srčane slabosti, prethodnim infarktom miokarda, diskinezijom na ventrikulografiji i 10-godišnjom smrtnosti. (110, 111)

Nadalje, prepoznato je da koronarna CT angiografija može biti vredna neinvazivna metoda snimanja za procenu efikasnosti lečenja (procesa arteriogeneze) kod pacijenata sa CTO (110). Kako bismo izbegli veću izloženost zračenju sa dve ICA u kratkom vremenskom periodu i moguće vaskularne komplikacije, mi smo CCC procenjivali u našem istraživanju sa CT angiografijom. Stoga naši pacijenti nisu imali komplikacije u vezi sa izloženošću CT-u ili heparin-u i.v. osim kožne alergije (urtikarije) kod jednog pacijenta, tokom prve CT angiografije, najverovatnije zbog izloženosti kontrastu jodom, ali je to klinički nepotvrđeno (pacijent je prethodno imao ICA sa kontrastom bez alergijskih reakcija).

Inače, postoji više načina da se klasifikuje kolateralna cirkulacija. Jedan način je već opisan, a to je Rentrop klasifikacija, koja je i korišćena pri opisu MSCT kolateralnih krvnih sudova u našem

istraživanju. Drugi način je preko klasifikacije (stepena) kolateralnih konekcija. Takođe, osim određivanja CFI postoje drugi načini da se proceni adekvatnost kolateralne cirkulacije (preko intrakoronarnog EKG; na osnovu pojave angine tokom okluzije balonom; perfuzionom imidžing metodom sa ^{99m}Tc -Sestamibi; kontrastnom ehokardiografijom; i metodom ispiranja kontrasta prilikom njegovog ubrizgavanja u koronarnu arteriju pre okluzije balonom). (6)

Fizička neaktivnost je prepoznata kao dodatan i nezavistan faktor rizika za razvoj koronarne bolesti zajedno sa povišenim krvnim pritiskom, pušenjem cigareta, šećernom bolesti i povišenim holesterolom. Nasuprot tome pokazano je da redovna fizička aktivnost smanjuje simptome stabilne srčane angine, poboljšava perfuziju miokarda i što je najvažnije smanjuje smrtnost kod bolesnika sa koronarnom bolesti ili srčanim udarom. Meta-analiza kod 8940 pacijenata koji su imali infarkt miokarda, bili podvrgnuti koronarnoj revaskularizaciji, imali simptome angine pektoris ili imali koronarnu bolest dokumentovanu angiografijom, iz 48 studija pokazala je pad ukupne i kardiovaskularne smrtnosti za 20% i 26%, kao rezultat vežbanja. (14)

Studija ETICA (Exercise Training Intervention After Coronary Angioplasty) je pokazala jasno porast maksimalne potrošnje kiseonika za 26%, poboljšanje kvaliteta života za 27% i smanjenje neželjenih srčanih događaja za 20%, uključujući smanjenje infarkta miokarda i manji broj hospitalizacija kada se bolesnici bili podvrgnuti programu fizičkog vežbanja posle uspešnog PCI-ja u poređenju sa onima koji su ostali sedentarni. (14, 112)

Sledeći mehanizmi su pokazani da doprinose pojačanoj perfuziji miokarda kao odgovor na vežbanje: (1) delimična korekcija endotelne disfunkcije, (2) formiranje kolaterala, (3) regresija koronarne stenozе, (4) vaskulogeneza i (5) smanjenje aktivacije trombocita. (14)

Vežbanjem se uspostavlja ravnoteža između proizvodnje NO i njegove inaktivacije. Ova ravnoteža rezultuje sa povećanom bioraspoloživošću NO, što je povezano sa delimičnim obnavljanjem endotelne funkcije. (113-118)

Iako je Eckstein uspeo da dokumentuje formiranje koronarnih kolaterala kao odgovor na vežbanje u eksperimentima na životinjama 1957. godine, jasni podaci kod ljudi do danas nedostaju. (119) Belardineli i njegovi saradnici bili su u mogućnosti da angiografski pokažu pojačano formiranje kolaterala u grupi bolesnika sa ishemijskom kardiomiopatijom nakon 8 nedelja vežbanja. Iako je smanjena ishemija miokarda na scintigrafiji sa talijumom, Heidelbergova regresiona studija nije uspela da dokumentuje rast kolaterala uz pomoć angiografije čak i kod pacijenata sa koronarnom stenozom (120, 121). Nakon jedne godine intenzivnog vežbanja, povećano stvaranje kolaterala pokazano je samo kod pacijenata kod kojih je otkriveno napredovanje aterosklerotskih lezija, što je

bilo osnova hipoteze da je ishemija miokarda neophodna sila koja pokreće formiranje kolaterala. Takođe je moguće da razlike u populaciji pacijenata u gore spomenutim studijama uzrokuju ove različite efekte. (14, 120, 121)

Seiler i saradnici su razvili merenje funkcionalne kolateralne cirkulacije koronarnom kateterizacijom sa žicom pritiska tokom prekida anterogradnog protoka ciljanog krvnog suda okluzijom balona, kako bi se prevazišla slaba senzitivnost angiografije (122). Srednji koronarni pritisak (mereno preko okluzije i korigovan za centralni venski pritisak) predstavlja pritisak perfuzije povezan sa kolateralnim povratnim tokom i izražava se kao indeks kolateralnog protoka (CFI) prema aortnom pritisku. Ista grupa istraživača je otkrila porast kolateralnog protoka kod pacijenata sa koronarnom bolesti nakon 3 meseca vežbanja u malom nerandomizovanom istraživanju. (14, 122)

Nedavno, Mobius-Vinkler i saradnici su pokazali u svojoj randomizovanoj studiji da su 4 nedelje treninga sa vežbanjem umerenog i visokog intenziteta kod pacijenata sa značajnom koronarnom stenozom (frakciona rezerva protoka, $\leq 0,75$) povećali CFI za 39% i 41% u poređenju sa kontrolama (56). Ovaj rezultat je praćen klinički relevantnim povećanjem kapaciteta za vežbanje i pragom angine u obe interventne grupe (56). Međutim, koronarna kolateralizacija nije mogla da se vizualizuje na angiogramu. U ovom ispitivanju poboljšana endotelna funkcija, a samim tim, smanjena otpornost kolateralnih arterija može prouzrokovati poboljšanu perfuziju usled vežbanja i promene u CFI. Takodje i angiografija može biti suviše neosjetljiva da bi se vizuelno prikazale kolaterale ili se kolaterale mogu regrutovati samo pri maksimumu vežbanja (izazivajući hipoksiju miokarda). Zbog nedostatka patohistoloških uzoraka tkiva, uloga vežbanja i treninga u morfološkom formiranju kolaterala van funkcionalne koronarne / kolateralne reakcije nije u potpunosti dokazana. Više od šezdeset godina nakon važnog Ecksteinovog rada na psima, buduće studije sa velikim životinjama koje kombinuju detaljnu hemo-dinamičku procenu koronarnog protoka in vivo i dubinsku analizu tkiva, najverovatnije su od suštinskog značaja za rrazjašnjenje pitanja stvaranja kolaterala izazvane vežbanjem. (14)

Iako postoje suprotni podaci, stepen regresije koronarne stenozе izgleda da je skoro zanemarljiv i najverovatnije ne objašnjava masovno poboljšanje perfuzije miokarda kao odgovor na trening vežbanja kod pacijenata sa koronarnom bolesti. (14)

Trening bi mogao da podmladi oštećeno vaskularno drvo mobilizacijom i aktivacijom srčanih progenitorskih ćelija što dovodi do poboljšanja perfuzije miokarda. Vežbanje kod pacijenata sa uznapredovalim srčanim popuštanjem pokazalo je da povećava broj i funkcionalni kapacitet ovih progenitorskih ćelija, što je povezano sa poboljšanom endotelnom funkcijom i gustinom kapilara skeletnih mišića. Međutim, do danas, nema kliničke studije koje procenjuju uticaj vežbanja na

promene u vaskulogenezi i perfuziji miokarda putem progenitorskih ćelija, zbog etičkih problema oko uzimanja uzoraka tkiva miokarda. (14)

Scalone sa saradnicima je pokazao da je kratka epizoda ishemije miokarda kod simptomatskih bolesnika sa koronarnom bolesti (indukovana vežbanjem pri malom opterećenju i zaustavljena na depresiji ST-segmenta od 1 mm) štitila ove pacijente od povećane reaktivnosti trombocita pri maksimalno stres testu vežbanjem. Za razliku od kratkotrajnog vežbanja, redovna fizička aktivnost smanjuje reaktivnost trombocita i broj konjugata trombocita sa leukocitima kod zdravih ispitanika i kod osoba sa koronarnom bolesti, što je u skladu sa vazoprotektivnim i antiaterosklerotičkim efektom vežbanja. (14, 123-127)

Kontrolisano vežbanje se pokazalo klinički i funkcionalno korisnim za sve naše pacijente (što je podržano statističkim produženjem vremena vežbanja tokom stres testa, poboljšanom klasom CCS i Duke-ovim skorom), ali samo su H + E pacijenti poboljšali vreme do depresije segmenta ST-a sa vežbanjem (vreme do ishemije) i kvalitet života (prema Sietel upitniku o stabilnoj srčanoj angini).

Takodje što se tiče upitnika Sietel, klinički važno poboljšanje (od više od 10 bodova) primećeno je u percepciji bolesti i stabilnosti angine kod pacijenata sa H + E, a u samo učestalosti angine kod pacijenata koji su vežbali bez heparina.

Sietel upitnik o stabilnoj srčanoj angini kvantifikuje 5 domena koji mere uticaj srčane angine na zdravstveno stanje bolesnika: fizičko ograničenje (9 stavki), stabilnost angine (1 stavka), učestalost angine (2 stavke), zadovoljstvo lečenjem (4 stavke) i kvalitet života (3 stavke). Odgovori svakog pitanja se kodiraju uzastopno od najgoreg do najboljeg statusa i kreću se od 1 do 6 za fizičko ograničenje, stabilnost angine i učestalost srčane angine; 1 do 5/6 za stavke o zadovoljstvu tretmanom; i 1 do 5 za stavke o kvalitetu života. Rezultati su generisani za svaki domen i ukupno nose od 0 do 100, gde 0 označava najgori, a 100 najbolji mogući status. Pokazalo se da je ovaj upitnik validan, reproducibilan i osetljiv na kliničke promene. Štaviše, SAQ skorovi kod bolesnika sa stabilnom srčanom anginom su nezavisni prediktori mortaliteta, hospitalizacija i upotrebe zdravstvenih resursa. Ovaj upitnik se koristi više od 20 godina u kliničkim ispitivanjima i opservacionim istraživanjima i predstavlja osetljivu meru za opisivanje relativnih prednosti koronarne revaskularizacije, medikamentnog lečenja stabilne koronarne bolesti i razlika u pružanju zdravstvenih usluga.

Pokazalo se da PCI nije superiornije od OMT kod pacijenata sa stabilnom anginom u smanjenju smrtnosti od kardiovaskularnih bolesti i infarkta miokarda, ali je povezano sa poboljšanjem kvaliteta života (128, 129). Međutim, placebo uticaj PCI može se lako i potceniti (128) ali i preceniti (129).

Smanjenje srčane angine je bio glavni razlog za PCI kod stabilne bolesti koronarnih arterija.

Međutim, kliničko istraživanje upotrebe revaskularizacije i agresivnog medikamentnog lečenja (studija COURAGE) pokazalo je da nema razlike u infarktu miokarda i stopi umiranja između pacijenata sa stabilnom koronarnom bolešću koji su podvrgnuti PCI i u kontrolnoj grupi. (130)

U studiji ORBITA, prvom slepom placebo-kontrolisanom ispitivanju PCI-a u stabilnoj srčanoj angini, PCI takodje nije poboljšao vreme vežbanja izvan placebo efekta (nije objektivizirao smanjenje simptoma). (128)

Kod naših pacijenata sa koronarnom anatomijom gde nije moguće uraditi revaskularizaciju (PCI ili bajpas operacija), kratkotrajno vežbanje sa ili bez Heparina je poboljšao kvalitet života meren klasom angine CCS (placebo komponenta je takodje moguće prisutna), što bez obzira potvrđuje korisnu ulogu vežbanja u smanjenju anginoznih tegoba i simptoma kod bolesnika sa refrakternom srčanom anginom.

Konačno, vežbanje zasnovano na heparinu u trajanju od dve nedelje povezano je sa samnjenjem ishemije pri maksimalnom stresu vežbanjem što se ogleda u poboljšanju LVEF, WMSI, i strejna (globalnog i regionalnog longitudinalnog, LS-IP), pri maksimalnom fizičkom opterećenju. U našem istraživanju nije uočena statistička promena sa vežbanjem, kod obe grupe bolesnika, u dvostrukom proizvodu (niži srednji /srednji) tokom opterećenja. U literaturi je pokazano da longitudinalni 2 D strejn najbolje otkriva reverzibilnu ishemiju u teritoriji LAD-a a visoke srčane frekvence su glavna prepreku za analize strejna u inferiornim, zadnjim i lateralnim segmentima. (131).

U našoj grupi pacijenata sve analize pika deformacija (strejna) rađene su pri brzini otkucaja srca manjom ili jednakom 120 otkucaja u sekundi što je omogućilo procenu GLS u svim koronarnim teritorijama. Na izvodljivost softvera za merenje GLS (od 94%) uticao je uglavnom kvalitet slike i nesavršena konfiguracija grudnog koša u našoj specifičnoj grupi pacijenata. Analiza strejna kao napredne tehnike ehokardiografije pokazala se korisnom u pružanju kvantitativnije procene nepravilnosti pokreta zida, jer se standardna ehokardiografija smatra subjektivnijom i kvalitativnom. Uzimajući u obzir ograničenja obe ehokardiografske tehnike u proceni ishemije miokarda izazvanoj vežbanjem, ove tehnike bi trebalo biti komplementarne kako bi se postigla najbolja procena funkcionalno značajne koronarne bolesti.

Na kraju, u našem istraživanju zapaženo je značajno smanjenje sistolnog krvnog pritiska samo u E grupi. Ovaj nalaz može biti posledica trajnog (do 24 sata) smanjenja krvnog pritiska nakon

vežbanja, što je očiglednije kod pacijenata sa većim sistolnim pritiskom u mirovanju, sa prosečnim padom pritiska od 20 mmHg kod hipertenzivnih bolesnika u poređenju sa 10 mmHg koji se nalazi kod normotenzivnih osoba (132). U našoj populaciji arterijska hipertenzija bila je prisutna kod 100% pacijenata u E i 69% u H + E grupi (Tabela 1). E grupa je imala viši nivo sistolnog krvnog pritiska u mirovanju (srednji 133 u poređenju sa 126 mm Hg u H + E grupi), što verovatno određuje očigledniji pad sistolnog krvnog pritiska u mirovanju (-13 mm Hg u poređenju sa - 4 mm Hg u H + E grupa) (Tabela 2). H sam po sebi ima antihipertenzivno dejstvo, ali verovatno zanemarljivo kod primenjenih doza i načina primene, a takođe je inhibirano lekovima (ACEi) koji su prisutni u 87% naše populacije (133).

Mobius-Vinkler i sar. pokazali su da je 4-nedeljno vežbanje umerenog do visokog intenziteta dovelo do porasta kapaciteta za vežbanje i CCC-CFI kod pacijenata sa no-option koronarnom bolesti, što je u skladu sa smanjenjem klase srčane angine primećeno kod svih naših bolesnika sa vežbanjem (56). Mi smo u našem istraživanju primetili povećanje CCC u H+E grupi, ali anatomski indeks koji smo mi koristili je nešto manje fiziološki značajan od CFI.

Prethodne eksperimentalne (19) i kliničke studije (79, 84) pokazale su efikasnost E u kombinaciji sa nefrakcionisanim H u stimulaciji angiogeneze u perifernim arterijama (92) i u koronarnim arterijama (19). U svom fundamentalnom radu, Fujita i sar. 1988. godine proučavali su 10 pacijenata koji su vežbali dva puta dnevno tokom 10 dana lečenih ipročemu su dobijali intravenski H 5000 IU, 10 do 20 minuta pre sesije vežbanja. U poređenju sa 6 pacijenata koji su dobijalo samo E, pacijenti lečeni E i H pokazali su porast ukupnog trajanja E za 35% (180 sec), a poboljšanje indeksa koronarnog kolaterala procenjeno je invazivnom koronarnom angiografijom (84).

Slični podaci dobili su i drugi autori koji su koristili subkutani (20, 134) ili intravenski (135) nisko-molekularni H i imali samo E ili samo H u kontrolnoj grupi; iako je ukupan broj lečenih pacijenata koji su učestvovali u ovim studijama studije, bilo sa intravenskim ili potkožnim H, bio ukupno 93 pacijenta (86). Sličan pristup gde je pokazana korist pre-lečenjem H primećen je kod pacijenata sa Kavasakijevom bolešću (79) i kod bolesnika sa koronarnom bolesti koji nisu u mogućnosti da se primene E i koji su bili podvrgnuti terapiji ekstrakorporalnim šok talasima (136) ili infuzijom adenozinom (87). U svim slučajevima, anti-ishemijski efekat izolovanog lečenja (sa E ili ekstrakorporalnom terapijom šok talasa ili adenozinom) jasno je pojačan pre tretmanom sa H.

U kliničkim smernicama, svi lekovi koji se koriste za lečenje simptomatske hronične angine pektoris imaju sličnu efikasnost u smanjenju simptoma, ali ne pružaju dovoljno dokaza za poboljšanje preživljavanja (2). Poboljšanje CCC podrazumeva konceptualno drugačiji mehanizam, različit, a istovremeno sinergičan sa preporučenim lečenjem, uz potencijal za smanjenje smrtnosti (46). U stvari, porast vremena E postignut je kod pacijenata naše studije koronarnim arteriogenetskim tretmanom, pored optimalne medikamentne terapije koja nije bila u stanju da kontroliše simptome. Ova nova terapija može se predložiti kao dodatak standardnom tretmanu kod pacijenata koji su sposobni da vežbaju i može da reši veliku bezbednosnu opasnost koja je svojstvena angiogenoj terapiji istovremeno promovišući malignu angiogenezu kod okultnih karcinoma (137). U stvari, korišćene su niske doze starog leka, kao što je H, sa utvrđenim dosijeima o bezbednosti. Smatra se da je proces pokrenute koronarne arteriogeneze specifičan za lokaciju i specifičan za događaj, lokalizovan u vremenu i prostoru u miokardnom regionu koji zavisi od okludiranog koronarnog suda gde se razvija ishemija tokom stresa. Pored toga, postoji veliki broj pretkliničkih dokaza da H blokira, ne promoviše, angiogenezu tumora, koja se delimično razlikuje u ćelijskim i molekularnim mehanizmima od benigne koronarne arteriogeneze (137, 138).

E ciklus je trajao 2 nedelje (10 sesija, dva puta dnevno) zbog logističkih ograničenja. Duže vreme bi moglo biti još efikasnije u indukovanju strukturne promena CCC-a, bar kod onih pacijenata koji i dalje imaju inducibilnu ishemiju nakon lečenja.

Mi nemamo informacije o efektu trajanja, koji se sastoji u mogućnosti da efekat lečenja ostane nakon završenja terapijskog vežbanja. U principu, efekat H + E trebalo bi da traje tokom vremena, jer se korist postiže prirodnom revaskularizacijom, a ne očekuje se da će poboljšanje CCC-a prestati nakon prekida lečenja. Ovo je važna potencijalna razlika u odnosu na konvencionalni farmakološki tretman, koji efekat gubi u roku od nekoliko sati nakon prekida leka (139).

Ovim istraživanjem mi smo integrisali klasične ciljeve za procenu funkcije leve komore sa različitim parametarima, koji imaju komplementarnu jačinu i ograničenja (140). WMSI je semikvantitativan i zasnovan je na vizuelnoj proceni kretanja regionalnog zida. EF je indeks globalne funkcije LK u vremenu, ali zavisao od stepena opterećenja i zahteva kvantitativno volumetrijsko merenje LK što nije izvodljivo kod svih pacijenata (3% u našoj populaciji). GLS je napredna metoda u kvantitativnoj proceni longitudinalne (subendokardijalne) funkcije srca, ali odnos signala i šuma degradira u stanjima velikog broja otkućaja srca (141), a tehnički neadekvatna procena je bila prisutna kod 5% naših bolesnika u studiji. Ova tri indeksa (WMSI, EF i GLS) kod naših pacijenata menjala su se usaglašeno i koherentno, pokazujući veće funkcionalno poboljšanje u H + E grupi u poređenju sa placebo + E.

MSCT je korišćena za procenu CCC rezultata. Prednost ove metode je što je neinvazivna, ali joj nedostaje vremenska i prostorna raezolucija invazivne koronarne angiografije i to što ne omogućava funkcionalnu karakterizaciju koronarnog kolateralnog protoka pomoću CFI (56, 110, 111) ili regionalnu procenu rezerve koronarnog protoka, koja takođe može imati koristi od terapijskog razvoja CCC (142, 143). Ipak, MSCT pruža razumnu neinvazivnu alternativu, posebno pogodnu kada se svaki pacijent koristi kao sopstvena kontrola.

Vežbanje je neophodno kao bitan ko-faktor H, jer je potrebno povećati stres smicanja tečnosti i inducibilnu ishemiju (137), ali mnogi pacijenti ne mogu adekvatno vežbati. Kod ovih pacijenata indukcija ishemije i lokalni porast stresa smicanja tečnosti mogu se dobiti električnom stimulacijom u kombinaciji sa primenom H i adenzina (Picano E. Koronarni angiogenetski pejsmejker, američki patent 7751883, jun 2010).

6. ZAKLJUČCI

1. Dvonedeljno vežbanje sa heparinom kod naših bolesnika, koji su dobijali intravenski heparin statistički značajno je produžilo vreme do nastupanja ishemijske miokarda (mereno vremenom do pojave depresije ST segmenta u EKG od minimum 1 mm tokom testa fizičkim opterećenjem).
2. Dvonedeljno svakodnevno vežbanje je statistički značajno popravilo simptome stabilne srčane angine, merene promenom CCS klase, kod svih bolesnika bez obzira na primenu heparina. U grupi bolesnika, koji su dobijali heparin ova promena je bila uočljivija i značajnija.
3. Dvonedeljno vežbanje sa heparinom je poravilo kvalitet života i stabilnost srčane angine mereno Sietel upitnikom o stabilnoj srčanoj angini, dok je samo vežbanje popravilo učestalost anginoznih tegoba.
4. Dvonedeljno vežbanje sa heparinom je statistički značajno popravilo regionalnu i globalnu funkciju leve komore pri fizičkom opterećenju merenu ejectionom frakcijom, indeksom skora pokretljivosti zidova miokarda (WMSI) i globalnim i regionalnim longitudinalnim strejnom (deformacijom miokarda).
5. Dvonedeljno vežbanje sa heparinom je statistički značajno popravilo anatomske skor/klasu razvijenosti kolaterala na MSCT-u (Rentrop klasu).
6. Između bolesnika koji su dobijali heparin i koji su vežbali bez heparina nije bilo statistički značajne razlike u broju leukocita, neutrofila, limfocita, odnosu neutrofila i limfocita kao i u vrednosti CRP, na početku istraživanja i nakon 2 –nedelje treninga.

7. LITERATURA

1. Gibbons RJ, Abrams J, Chatterjee K, Daley J, Deedwania PC, Douglas J, et al. ACC/AHA 2002 guideline update for the management of patients with chronic stable angina: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee to Update the 1999 Guidelines for the management of Patients with Chronic Stable Angina. *Circulation* 2003; 107: 149 – 158
2. Knuuti J, Wijns W, Saraste A, Capodanno D, Barbato E, Funck-Brentano C, et al. 2019 ESC Guidelines for the diagnosis and management of chronic coronary syndromes. *Eur Heart J*. 2020 Jan 14; 41(3):407-477.
3. Williams B, Menon M, Satran D, Hayward D, Hodges JS, Burke MN, et al. Patients with coronary artery disease not amenable to traditional revascularization: prevalence and 3-year mortality. *Catheter Cardiovasc Interv* 2010; 75: 886-91.
4. Sapontis J, Marso SP, Cohen DJ, Lombardi W, Karmaliotis D, Moses J, et al. The Outcomes, Patient Health Status, and Efficiency IN Chronic Total Occlusion Hybrid Procedures registry: rationale and design. *Coron Artery Dis*. 2017 Mar; 28(2):110-119.
5. Werner GS. The role of coronary collaterals in chronic total occlusions. *Current Cardiology Reviews* 2014, 10, 57-64.
6. Choo GH. Collateral Circulation in Chronic Total Occlusions – An Interventional Perspective. *Current Cardiology Reviews*, 2015, 11, 277-284.
7. Patel B, Hopmann P, Desai M, Sekaran K, Graham K, Yin L, et al. Coronary Collateral Growth: Clinical Perspectives and Recent Insights. *Physiologic and Pathologic Angiogenesis - Signaling Mechanisms and Targeted Therapy*. Intech Open, 2017; 8; 133-147. [dx.doi.org/10.5772/67164](https://doi.org/10.5772/67164)
8. Meier P, Gloekler S, Zbinden R, Beckh S, de Marchi SF, Zbinden S, et al. Beneficial effect of recruitable collaterals: a 10-year follow-up study in patients with stable coronary artery disease undergoing quantitative collateral measurements. *Circulation*. 2007;116(9):975–983.
9. Tajti P, Brilakis E. Chronic Total Occlusion Percutaneous Coronary Intervention: Evidence and Controversies. *J Am Heart Assoc*. 2018;7: e006732; doi: 10.1161/JAHA.117.006732
10. Brilakis E. *Manual of Coronary Chronic Total Occlusion Interventions: A Step-by-Step Approach*. 2nd ed. Cambridge, MA: Elsevier; 2017.
11. Buschmann I, Schaper W. Arteriogenesis Versus Angiogenesis: Two Mechanisms of Vessel Growth. *News Physiol Sci*. 1999;14:121-125

12. Schirmer SH, van Nooijen FC, Piek JJ, van Royen N. Stimulation of collateral artery growth: travelling further down the road to clinical application. *Heart*. 2009 Mar; 95(3):191-7.
13. Royen NV, Piek JJ, Buschmann I, Hofer I, Voskuil M, Schaper W. Stimulation of arteriogenesis; a new concept for the treatment of arterial occlusive disease. *Cardiovascular Research* 49 (2001) 543–553.
14. Winzer EB, Woitek F, Linke A. Physical Activity in the Prevention and Treatment of Coronary Artery Disease. *J Am Heart Assoc*. 2018;7:e007725 DOI: 10.1161/JAHA.117.007725.
15. Fujita M, Sasayama S. Coronary Collateral Growth and Its Therapeutic Application to Coronary Artery Disease. *Circ J* 2010; 74: 1283 – 1289.
16. Fujita M. Heparin and angiogenic therapy. *Eur Heart J* 2000; 21: 270–4.
17. Bhakuni T, Ali MF, Ahmad I, Bano S, Ansari S, Jairajpuri MA. Role of heparin and non heparin binding sermons in coagulation and angiogenesis: A complex interplay; *Arch Biochemistry and Biophysics* 2016; 128-142.
18. Maejima Y, Yasu T, Ueba H, Kobayashi N, Hashimoto S, Kubo N, et al. Exercise after heparin administration: new therapeutic program for patients with-option arteriosclerosis obliterans. *Circ J*. 2005; 69:1099-1104.
19. Fujita M, Mikuniya A, Takahashi M, Gaddis R, Hartley J, McKown D, et al. Acceleration of coronary collateral development by heparin in conscious dogs. *Jpn Circ J* 1987; 51:395 – 402.
20. Gagliardi JA, Prado NG, Marino JC, Lederer S, Ramos AO, Bertolasi CA. Exercise training and heparin pretreatment in patients with coronary artery disease. *Am Heart J* 1996; 132: 946-951
21. Sicari R, Nihoyannopoulos P, Evangelista A, Kasprzak J, Lancellotti P, Poldermans D, Voigt JU, Zamorano JL. Stress Echocardiography Expert Consensus Statement--Executive Summary: European Association of Echocardiography (EAE) (a registered branch of the ESC). *European Association of Echocardiography*. *Eur Heart J*. 2009 Feb;30(3):278-289.
22. Voigt J-U, Pedrizzetti G, Lysyansky P, Marwick TH, Houle H, Baumann R, et al. Definitions for a common standard for 2D speckle tracking echocardiography: consensus document of the EACVI/ASE/Industry Task Force to standardize deformation imaging. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2015; 16:1-11.

23. Ciampi Q, Olivotto I, Gardini C, Mori F, Peteiro J, Monserrat L, et al. Prognostic role of stress echocardiography in hypertrophic cardiomyopathy: The International Stress Echo Registry. *Int J Cardiol.* 2016 Sep 15; 219:331-8.
24. Sicari R, Nihoyannopoulos P, Evangelista A, Kasprzak J, Lancellotti P, Poldermans D, et al; European Association of Echocardiography (2008) Stress echocardiography expert consensus statement: European Association of Echocardiography (EAE) (a registered branch of the ESC). *Eur J Echocardiogr.* 9:415–437
25. Gottdiener JS, Bednarz J, Devereux R, Gardin J, Klein A, Manning WJ, et al. American Society of Echocardiography recommendations for use of echocardiography in clinical trials. *J Am Soc Echocardiogr.* 2004;17(10):1086–1119.
26. Galderisi M, Henein MY, D'hooge J, Sicari R, Badano LP, Zamorano JL, et al. Recommendations of the European Association of Echocardiography: how to use echo-Doppler in clinical trials: different modalities for different purposes. *Eur J Echocardiogr.* 2011;12(5):339–353.
27. Pellikka PA, Arruda-Olson A, Chaudhry FA, Chen MH, Marshall JE, Porter TR, et al. Guidelines for Performance, Interpretation, and Application of Stress Echocardiography in Ischemic Heart Disease: From the American Society of Echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr.* 2019; S0894-7317(19)30825-9. doi:10.1016/j.echo.2019.07.001
28. Lancellotti P, Pellikka PA, Budts W, Chaudhry FA, Donal E, Dulgheru, et al. The clinical use of stress echocardiography in non-ischaeemic heart disease: recommendations from the European Association of Cardiovascular Imaging and the American Society of Echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr.* 2017; 30:101-38.
29. Voigt J-U, Pedrizzetti G, Lysyansky P, Marwick TH, Houle H, Baumann R, Pedri S, Ito Y, Abe Y, Metz S, Song JH, Hamilton J, Sengupta PP, Kolias TJ, d'Hooge J, Aurigemma GP, Thomas JD, Badano LP. Definitions for a common standard for 2D speckle tracking echocardiography: consensus document of the EACVI/ASE/Industry Task Force to standardize deformation imaging. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging.* 2015 Jan; 16(1):1-11.
30. Collier P, Phelan D, Klein A. A Test in Context: Myocardial Strain Measured by Speckle-Tracking Echocardiography. *J Am Coll Cardiol.* 2017 Feb 28; 69(8):1043-1056.

31. Zhang J, Li Y, Li M, Pan J, Lu Z.
Collateral vessel opacification with CT in patients with coronary total occlusion and its relationship with downstream myocardial infarction. *Radiology*. 2014 Jun; 271(3):703-710.
32. Rentrop KP, Cohen M, Blanke H, Phillips RA.
Changes in collateral channel filling immediately after controlled coronary artery occlusion by an angioplasty balloon in human subjects. *J Am Coll Cardiol*. 1985; 5(3):587-592
33. Spertus JA, Winder JA, Dewhurst TA, Deyo RA, Prodzinski J, McDonnell M, Fihn SD.
Development and evaluation of the Seattle Angina Questionnaire: a new functional status measure for coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*. 1995 Feb; 25(2):333-341.
34. Spertus JA, Jones P, McDonnell M, Fan V, Fihn SD.
Health status predicts long-term outcome in outpatients with coronary disease. *Circulation*. 2002 Jul 2; 106(1):43-49.
35. Kaul P, Naylor CD, Armstrong PW, Mark DB, Theroux P, Dagenais GR. Assessment of activity status and survival according to the Canadian Cardiovascular Society angina classification. *Can J Cardiol* 2009;25(7):e225-e231.
36. Nacar AB, Erayman A, Kurt M, Buyukkaya E, Karakaş MF, Akçay AB et al. The Relationship between Coronary Collateral Circulation and Neutrophil/Lymphocyte Ratio in Patients with Coronary Chronic Total Occlusion. *Med Princ Pract* 2015;24:65–69.
37. Gulec S, Ozdemir AO, Maradit-Kremers H, et al: Elevated levels of C-reactive protein are associated with impaired coronary collateral development. *Eur J Clin Invest* 2006; 36: 369–375.
38. Verma S, Wang CH, Li SH, Dumont AS, Fedak PW, Badiwala MV, et al: A self-fulfilling prophecy: C-reactive protein attenuates nitric oxide production and inhibits angiogenesis. *Circulation* 2002; 106: 913–919.
39. Horne BD, Anderson JL, John JM, Weaver A, Bair TL, Jensen KR, et al: Which white blood cell subtypes predict increased cardiovascular risk? *J Am Coll Cardiol* 2005; 45: 1638–1643.
40. Weissberg PL, Bennett MR: Atherosclerosis –an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999; 340: 1928–1929.
41. Osiecki H: The role of chronic inflammation in cardiovascular disease and its regulation by nutrients. *Altern Med Rev* 2004; 9: 32–53.
42. Seiler C: *The Collateral Circulation of the Heart*. London, Springer, 2009.

43. Kerner A, Gruberg L, Goldberg A, Roguin A, Lavie P, Lavie L, et al: Relation of C-reactive protein to coronary collaterals in patients with stable angina pectoris and coronary artery disease. *Am J Cardiol* 2007; 99: 509–512.
44. Veselka J, Prochazkova S, Duchonova R, Bolomová I, Urbanová T, Tesar D, et al: Relationship of C-reactive protein to presence and severity of coronary atherosclerosis in patients with stable angina pectoris or a pathological exercise test. *Coron Artery Dis* 2002; 13: 151–154.
45. vanRoyen N, Piek JJ, Buschmann I, Hoefer I, Voskuil M, Schaper W. Stimulation of arteriogenesis; a new concept for the treatment of arterial occlusive disease. *Cardiovascular Research* 49 (2001) 543–553.
46. Meier P, Hemingway H, Lansky AJ, Knapp G, Pitt B, Seiler C. The impact of the coronary collateral circulation on mortality: a meta-analysis. *Eur Heart J*. 2012; 33:614–621.
47. Meier P, Schirmer SH, Lansky AJ, Timmis A, Pitt B, Seiler C. The collateral circulation of the heart. *BMC Med*. 2013; 11:143.
48. Traupe T, Gloekler S, de Marchi SF, Werner GS, Seiler C. Assessment of the human coronary collateral circulation. *Circulation*. 2010 Sep 21; 122(12):1210-20.
49. Weckbach LT, Preissner KT, Deindl E. The Role of Midkine in Arteriogenesis, Involving Mechanosensing, Endothelial Cell Proliferation, and Vasodilation. *Int. J. Mol. Sci*. 2018, 19, 2559.
50. Lautz T, Lasch M, Borgolte J, Troidl K, Pagel JJ, Caballero-Martinez A, et al. Midkine Controls Arteriogenesis by Regulating the Bioavailability of Vascular Endothelial Growth Factor A and the Expression of Nitric Oxide Synthase 1 and 3. *EBioMedicine* 27 (2018) 237–246.
51. Fujita M, Tambara K. Recent insights into human coronary collateral development. *Heart*. 2004; 90 (3):246–250.
52. Schaper W, Scholz D. Factors regulating arteriogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003; 23(7):1143–1151.
53. Goto S, Ichikawa N, Lee M, Goto M, Sakai H, Kim, J.J. et al. Platelet surface P-selectin molecules increased after exposing platelet to a high shear flow. *Int. Angiol*. 2000, 19, 147–151.

54. Chillo O, Kleinert EC, Lautz T, Lasch M, Page JI, Heun Y, et al. Caballero-Martinez, A. Mauer, A. et al. Perivascular Mast Cells Govern Shear Stress-Induced Arteriogenesis by Orchestrating Leukocyte Function. *Cell Rep.* 2016, 16, 2197–2207.
55. Arras M, Ito WD, Scholz D, Winkler B, Schaper J, Schaper W. Monocyte activation in angiogenesis and collateral growth in the rabbit hindlimb. *J. Clin. Investig.* 1998, 101, 41–50.
56. Möbius-Winkler S, Uhlemann M, Adams V, Sandri M, Erbs S, Lenk K, et al. Coronary Collateral Growth Induced by Physical Exercise: Results of the Impact of Intensive Exercise Training on Coronary Collateral Circulation in Patients With Stable Coronary Artery Disease (EXCITE) Trial. *Circulation.* 2016 Apr 12; 133 (15):1438-48; discussion 1448.
57. Schaper W, De Brabander M, Lewi P. DNA synthesis and mitoses in coronary collateral vessels of the dog. *Circ Res.* 1971; 28:671–679.
58. Werner GS. The role of coronary collaterals in chronic total occlusions. *Curr Cardiol Rev.* 2014 Feb; 10(1):57-64.
59. Vries MH, Wagenaar A, Verbruggen SE, Molin DG, Dijkgraaf I, Hackeng TH et al. Erratum to: CXCL1 promotes arteriogenesis through enhanced monocyte recruitment into the peri-collateral space. *Angiogenesis* 2015, 18, 173.
60. Hagiwar H, Mitsumata M, Yamane T, Jin X, Yoshida Y. Laminar shear stress-induced GRO mRNA and protein expression in endothelial cells. *Circulation* 1998, 98, 2584–2590.
61. Chandraratne S, von Bruehl ML, Pagel JI, Stark K, Kleinert E, Konrad I, et al. Critical role of platelet glycoprotein I α in arterial remodeling. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2015, 35, 589–597.
62. Vries MH, Wagenaar A, Verbruggen SE, Molin DG, Dijkgraaf I, Hackeng TH et al. Erratum to: CXCL1 promotes arteriogenesis through enhanced monocyte recruitment into the peri-collateral space. *Angiogenesis* 2015, 18, 173.
63. Scapini P, Morini M, Tecchio C, Minghelli S, Di Carlo E, Tanghetti E et al. CXCL1/macrophage inflammatory protein-2-induced angiogenesis in vivo is mediated by neutrophil-derived vascular endothelial growth factor-A. *J. Immunol.* 2004, 172, 5034–5040.
64. Ito WD, Arras M, Winkler B, Scholz D, Schaper J, Schaper W. Monocyte chemotactic protein-1 increases collateral and peripheral conductance after femoral artery occlusion. *Circ. Res.* 1997, 80, 829–837.

65. Morrison AR, Yarovinsky TO, Young BD, Moraes F, Ross TD, Ceneri N et al. Chemokine-coupled beta2 integrin-induced macrophage Rac2-Myosin IIA interaction regulates VEGF-A mRNA stability and arteriogenesis. *J. Exp. Med.* 2014, 211, 1957–1968.
66. Lanahan A, Zhang X, Fantin A, Zhuang Z, Rivera-Molina F, Speichinger K et al. The neuropilin 1 cytoplasmic domain is required for VEGF-A-dependent arteriogenesis. *Dev. Cell* 2013, 25, 156–168.
67. Fischer S, Nishio M, Peters SC, Tschernatsch M, Walberer M, Weidemann S, et al. Signaling mechanism of extracellular RNA in endothelial cells. *FASEB J.* 2009, 23, 2100–2109.
68. Muramatsu H, Zou K, Sakaguchi N, Ikematsu S, Sakuma S, Muramatsu T. LDL receptor-related protein as a component of the midkine receptor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2000, 270, 936–941.
69. Novotny W, Maffi T, Mehta RL, Milner PG. Identification of novel heparin-releasable proteins, as well as the cytokines midkine and pleiotrophin, in human postheparin plasma. *Arterioscler. Thromb.* 1993, 13, 1798–1805.
70. Souttou B, Juhl H, Hackenbruck J, Rockseisen M, Klomp HJ, Raulais et al. Relationship Between Serum Concentrations of the Growth Factor Pleiotrophin and Pleiotrophin-Positive Tumors. *Journal of the National Cancer Institute*, 1998, 90 (19): 1468-73.
71. Kadomatsu K, Tomomura M, Muramatsu T. cDNA cloning and sequencing of a new gene intensely expressed in early differentiation stages of embryonal carcinoma cells and in mid-gestation period of mouse embryogenesis *Biochem Biophys Res Commun* 1988;151:1312–8.
72. Schulte AM, Wellstein A. Pleiotrophin and related molecules. In: Bicknell R, Lewis CM, Ferrara N, editors. *Tumour angiogenesis*. New York: Oxford University Press, 1997: 273–89.
73. Fang W, Hartmann N, Chow DT, Riegel AT, Wellstein A. Pleiotrophin stimulates fibroblasts and endothelial and epithelial cells and is expressed in human cancer. *J Biol Chem* 1992; 267:25889–97.
74. Delbe J, Vacherot F, Laaroubi K, Barritault D, Courty J. Effect of heparin on bovine epithelial lens cell proliferation induced by heparin affn regulatory peptide. *J Cell Physiol* 1995;164:47–54.
75. Courty J, Dauchel MC, Caruelle D, Perderiset M, Barritault D. Mitogenic properties of a new endothelial cell growth factor related to pleiotrophin. *Biochem Biophys Res Commun* 1991;180:145–51.

76. Laaroubi K, Delbe J, Vacherot F, Desgranges P, Tardieu M, Jaye M, et al. Mitogenic and *in vitro* angiogenic activity of human recombinant heparin affin regulatory peptide. *Growth Factors* 1994;10:89–98.
77. Kojima S, Inui T, Muramatsu H, Kimura T, Sakakibara S, Muramatsu T. Midkine is a heat and acid stable polypeptide capable of enhancing plasminogen activator activity and neurite outgrowth extension. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 216:574–81.
78. Duyuler PT, Duyuler S, Gok M, Kundi H, Topcuoglu C, Guray U. Higher serum pleiotrophin levels are associated with better developed coronary collateral circulation. www.escardio.org/esc2017.
79. Tateno S, Terai M, Niwa K, Jibiki T, Hamada H, Yasukawa K, et al. Alleviation of myocardial ischemia after Kawasaki disease by heparin and exercise therapy. *Circulation*. 2001 May 29; 103(21):2591-2597.
80. Bhakuni T, Farhan Ali M, Ahmad I, Bano S, Ansari S, Aman Jairajpuri M. Role of heparin and non heparin binding serpins in coagulation and angiogenesis: A complex interplay. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 604 (2016): 128-142.
81. B. Casu, A. Naggi, G. Torri. Re-visiting the structure of heparin. *Carbohydr. Res.* 2015; 403:60-68.
82. Khorana AA, Sahni A, Altland OD, Francis CW. Heparin inhibition of endothelial cell proliferation and organization is dependent on molecular weight. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003;23: 2110–2115
83. Fujita M, Sasayama S. Alleviation of myocardial ischemia by the development of coronary collateral circulation. *Jpn Circ J.* 1989; 53 (9):1164–1169.
84. Fujita M, Sasayama S, Asanoi H, Nakajima H, Sakai O, Ohno A. Improvement of treadmill capacity and collateral circulation as result of exercise with heparin pretreatment in patients with effort angina. *Circulation*. 1988 May; 77(5):1022-1029.
85. Fujita M. Conceptual Framework of Collateral-promoting Therapy for Coronary Artery Disease. *Asia-Pacific Cardiology* 2011; 3(1):45-8.
86. Bombardini T, Picano E: The coronary angiogenetic effect of heparin: experimental basis and clinical evidence. *Angiology* 1997; 48: 969-76.

87. Barron HV, Sciammarella MG, Lenihan K, Michaels AD, Botvinick EH. Effects of the repeated administration of adenosine and heparin on myocardial perfusion in patients with chronic stable angina pectoris. *Am J Cardiol.* 2000; 85:1–7.
88. Folkman J, Klagsbrun M, Sasse J, Wadzinski M, Ingber D, Vlodavsky I. A heparin-binding angiogenic protein--basic fibroblast growth factor--is stored within basement membrane. *Am J Pathol.* 1988; 130:393-400.
89. Matsumori A, Ono K, Okada M, Miyamoto T, Sato Y, Sasayama S. Immediate increase in circulating hepatocyte growth factor/scatter factor by heparin. *J Mol Cell Cardiol.* 1998; 30:2145-2149.
90. Grant MB, Tarnuzzer RW, Caballero S, Ozeck MJ, Davis MI, Spoerri PE, et al. Adenosine receptor activation induces vascular endothelial growth factor in human retinal endothelial cells. *Circ Res.* 1999; 85:699-706.
91. Awada HK, Johnson NR, Wang Y. Dual delivery of vascular endothelial growth factor and hepatocyte growth factor coacervate displays strong angiogenic effects. *Macromol Bio Sci.* 2014;14:679-686.
92. Shioji K, Fujita M, Yamada T, Matsuda T, Nohara R, Sasayama S. Heparin and exercise treatment in a patient with arteriosclerosis obliterans. *Jpn Circ J.* 1997; 61:715-8.
93. Clayton JA, Chalothorn D, Faber JE. Vascular endothelial growth factor-A specifies formation of native collaterals and regulates collateral growth in ischemia. *Circ Res.* 2008; 103(9):1027–1036.
94. Ito N, Claesson-Welsh L. Dual effects of heparin on VEGF binding to VEGF receptor-1 and transduction of biological responses. *Angiogenesis.* 3: 159-166, 1999.
95. Ishihara J, Ishihara A, Starke RD, Peghaire CR, Smith KE, McKinnon TA, et al. The heparin binding domain of von Willebrand factor binds to growth factors and promotes angiogenesis in wound healing. *Blood.* 2019 Apr 11. pii: blood.2019000510. doi: 10.1182/blood.2019000510.
96. ShenX,FangJ,LvX,PeiZ,WangY,JiangS,etal.
Heparin impairs angiogenesis through inhibition of micro RNA-10b. *J Biol Chem.* 29; 286 (30): 26616-27.
97. Heuslein JL, McDonnell SP, Song J, Annex BH, Price RJ.

- MicroRNA146a Regulates Perfusion Recovery in Response to Arterial Occlusion *via* Arteriogenesis. *Front Bioeng Biotechnol.* 2018 Jan 22; 6:1.
98. Meier P, Gloekler S, de Marchi SF, Indermuehle A, Rutz T, Traupe T, et al. Myocardial Salvage Through Coronary Collateral Growth by Granulocyte Colony-Stimulating Factor in Chronic Coronary Artery Disease. *Circulation.* 2009; 120:1355-1363.
 99. van Royen N, Hoefler I, Buschmann I, Kostin S, Voskuil M, Bode C, et al. Effects of local MCP-1 protein therapy on the development of the collateral circulation and atherosclerosis in Watanabe hyperlipidemic rabbits. *Cardiovasc Res.* 2003;57: 178 –185.
 100. Buschmann I, Hoefler I, van Royen N, Katzer E, Braun-Dulleaus R, Heil M, et al. GM-CSF: a strong arteriogenic factor acting by amplification of monocyte function. *Atherosclerosis.* 2001;159: 343–356.
 101. van Royen N, Hoefler I, Buschmann I, Heil M, Kostin S, Deindl E, et al. Exogenous application of transforming growth factor beta 1 stimulates arteriogenesis in the peripheral circulation. *FASEB J.* 2002; 16:432– 434.
 102. Deindl E, Hoefler I, Fernandez B, Barancik M, Heil M, Strniskova M, et al. Involvement of the fibroblast growth factor system in adaptive and chemokine-induced arteriogenesis. *Circ Res.* 2003;92: 561–568.
 103. Grundmann S, Hoefler I, Ulusans S, van Royen N, Schirmer S, Ozaki C, Et al. Anti-tumor necrosis factor- α therapies attenuate adaptive arteriogenesis in the rabbit. *Am J Physiol.* 2005;289: H1497–H1505.
 104. Cai W, Koltai S, Kocsis E, Scholz D, Kostin S, Luo X, et al. Remodeling of the adventitia during coronary arteriogenesis. *Am J Physiol.* 2003;284: H31–H40.
 105. van Royen N, Schirmer S, Atasever B, Behrens C, Ubbink D, Buschmann E, et al. START Trial: a pilot study on STimulation of ARTeriogenesis using subcutaneous application of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor as a new treatment for peripheral vascular disease. *Circulation.* 2005; 112: 1040–1046.
 106. Buschmann EE, Utz W, Pagonas N, Schulz-Menger J, Busjahn A, Monti J, et al. Arteriogenesis Network (Art. Net.). Improvement of fractional flow reserve and collateral flow by treatment with external counterpulsation (Art.Net.-2 Trial). *Eur J Clin Invest.* 2009; 39:866–875.
 107. Zbinden R, Zbinden S, Meier P, Hutter D, Billinger M, Wahl A, et al. Coronary collateral flow in response to endurance exercise training. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil.* 2007;14: 250– 257.

108. Sandri M, Adams V, Gielen S, Linke A, Lenk K, Krankel N, et al. Effects of exercise and ischemia on mobilization and functional activation of blood-derived progenitor cells in patients with ischemic syndromes: results of 3 randomized studies. *Circulation*. 2005; 111:3391–3399.
109. Werner CM, Hecksteden A, Morsch A, Zundler J, Wegmann M, Kratzsch J, et al. Differential effects of endurance, interval, and resistance training on telomerase activity and telomere length in a randomized, controlled study. *Eur Heart J*. 2019 Jan 1; 40 (1):34-46.
110. Zhang J, Li Y, Li M, Pan J, Lu Z. Collateral vessel opacification with CT in patients with coronary total occlusion and its relationship with downstream myocardial infarction. *Radiology*. 2014; 271(3):703-10.
111. Rentrop KP, Cohen M, Blanke H, Phillips RA. Changes in collateral channel filling immediately after controlled coronary artery occlusion by an angioplasty balloon in human subjects. *J Am Coll Cardiol*. 1985; 5(3):587-92
112. Belardinelli R, Paolini I, Cianci G, Piva R, Georgiou D, Purcaro A. Exercise training intervention after coronary angioplasty: the ETICA trial. *J Am Coll Cardiol*. 2001;37:1891–1900
113. Hambrecht R, Adams V, Erbs S, Linke A, Krankel N, Shu Y, et al. 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
114. Adams V, Linke A, Krankel N, Erbs S, Gielen S, Mobius-Winkler S, et al. Impact of regular physical activity on the NAD(P)H oxidase and angiotensin receptor system in patients with coronary artery disease. *Circulation*. 2005;111:555–562.
115. Cubbon RM, Murgatroyd SR, Ferguson C, Bowen TS, Rakobowchuk M, Baliga V, et al. Human exercise-induced circulating progenitor cell mobilization is nitric oxide-dependent and is blunted in South Asian men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2010;30:878–884.
116. Laufs U, Werner N, Link A, Endres M, Wassmann S, Jurgens K, et al. Physical training increases endothelial progenitor cells, inhibits neointima formation, and enhances angiogenesis. *Circulation*. 2004;109:220–226.
117. Indolfi C, Torella D, Coppola C, Curcio A, Rodriguez F, Bilancio A, et al. Physical training increases eNOS vascular expression and activity and reduces restenosis after balloon angioplasty or arterial stenting in rats. *Circ Res*. 2002;91:1190–1197.

118. Adams V, Besler C, Fischer T, Riwanto M, Noack F, Hollriegel R, et al. Exercise training in patients with chronic heart failure promotes restoration of high-density lipoprotein functional properties. *Circ Res.* 2013;113: 1345–1355.
119. Eckstein RW. Effect of exercise and coronary artery narrowing on coronary collateral circulation. *Circ Res.* 1957;5: 230–235.
120. Belardinelli R, Georgiou D, Ginzton L, Cianci G, Purcaro A. Effects of moderate exercise training on thallium uptake and contractile response to low-dose dobutamine of dysfunctional myocardium in patients with ischemic cardiomyopathy. *Circulation.* 1998; 97: 553–561.
121. Niebauer J, Hambrecht R, Marburger C, Hauer K, Velich T, von Hodenberg E, et al. Impact of intensive physical exercise and low-fat diet on collateral vessel formation in stable angina pectoris and angiographically confirmed coronary artery disease. *Am J Cardiol.* 1995; 76:771–775.
122. Seiler C, Fleisch M, Billinger M, Meier B. Simultaneous intracoronary velocity and pressure-derived assessment of adenosine-induced collateral hemodynamics in patients with one- to two-vessel coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol.* 1999; 34:1985–1994.
123. Scalone G, Coviello I, Barone L, Pisanello C, Sestito A, Lanza GA, Crea F. Brief low-workload myocardial ischaemia induces protection against exerciserelated increase of platelet reactivity in patients with coronary artery disease. *Heart.* 2010;96:263–268.
124. Battipaglia I, Scalone G, Milo M, Di Franco A, Lanza GA, Crea F. Upper arm intermittent ischaemia reduces exercise-related increase of platelet reactivity in patients with obstructive coronary artery disease. *Heart.* 2011;97:1298–1303.
125. Wang JS, Jen CJ, Chen HI. Effects of exercise training and deconditioning on platelet function in men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1995;15:1668–1674.
126. Keating FK, Schneider DJ, Savage PD, Bunn JY, Harvey-Berino J, Ludlow M, et al. Effect of exercise training and weight loss on platelet reactivity in overweight patients with coronary artery disease. *J Cardiopulm Rehabil Prev.* 2013; 33:371–377.
127. Chen YC, Ho CW, Tsai HH, Wang JS. Interval and continuous exercise regimens suppress neutrophil-derived microparticle formation and neutrophil- promoted thrombin generation under hypoxic stress. *Clin Sci (Lond).* 2015;128:425–436.
128. Fihn SD, Gardin JM, Abrams J, Berra K, Blankenship JC, Dallas AP, et al. 2012 ACCF/AHA/ACP/AATS/PCNA/SCAI/STS Guideline for the diagnosis and management of patients with stable ischemic heart disease: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines,

- and the American College of Physicians, American Association for Thoracic Surgery, Preventive Cardiovascular Nurses Association, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, and Society of Thoracic Surgeons. *J Am Coll Cardiol*. 2012 Dec 18; 60(24):e44-e164.
129. Al-Lamee R, Thompson D, Dehbi HM, Sen S, Tang K, Davies J, et al; Percutaneous coronary intervention in stable angina (ORBITA): a double-blind, randomised controlled trial. *Lancet*. 2018 Jan 6; 391(10115):31-40.
 130. Boden WE, O'Rourke RA, Teo KK, Hartigan PM, Maron DJ, Kostuk WJ, et al. Optimal medical therapy with or without PCI for stable coronary disease. *N Engl J Med*. 2007; 356 (15):1503-16.
 131. Caniggia C, Amor M, Lowenstein Haber D, Alasia D, Galello M, Daru V et al. Feasibility and Contribution of Global and Regional 2D Strain During Exercise Stress Echocardiography. *Rev Argent Cardiol* 2014; 82:83-84.
 132. Kenney MJ, Seals DR. Postexercise hypotension. Key features, mechanisms, and clinical significance. *Hypertension*. 1993;22(5):653–664. doi:10.1161/01.hyp.22.5.653
 133. Susic D, Mandal AK, Radujkovic G, Vulovic D, Kentera D. Prostaglandin synthesis inhibitors potentiate the antihypertensive effect of heparin in spontaneously hypertensive rats. *J Lab Clin Med*. 1988;111(1):63–72.
 134. Quyyumi AA, DiodatiJC, Lakatos E, Bonow RO, Epstein SE. Angiogenic effects of low molecular weight heparin in patients with stable coronary artery disease: a pilot study. *J Am Coll Cardiol* 1993; 22: 635-641.
 135. Fujita M, Sasayama S, Kato K, Takaori S. Prospective, randomized, placebo-controlled, double-blind, multicenter study of exercise with enoxaparin pretreatment for stable-effort angina. *Am Heart J*. 1995 Mar; 129 (3):535-541.
 136. Masuda D, Fujita M, Nohara R, Matsumori A, Sasayama S. Improvement of oxygen metabolism in ischemic myocardium as a result of enhanced external counterpulsation with heparin pretreatment for patients with stable angina. *Heart Vessels*. 2004 Mar; 19 (2):59-62.
 137. Schaper W. Collateral vessels reduce mortality. *Eur Heart J*. 2012; 33: 564-566.
 138. Featherby S, Xiao YP, Ettelaie C, Nikitenko LL, Greenman J, Maraveyas A. Low molecular weight heparin and direct oral anticoagulants influence tumor formation, growth, invasion and vascularisation by separate mechanisms. *Sci Rep*. 2019 Apr 18;9(1):6272.

139. Ferrari R, Camici PG, Crea F, Danchin N, Fox K, Maggioni AP, Manolis AJ, Marzilli M, Rosano GMC, Lopez-Sendon JL. Expert Consensus document. A diamond approach to personalized treatment of angina. *Nat Rev Cardiol*. 2018 Feb; 15(2):120-132.
140. Galderisi M, Cosyns B, Edvardsen T, Cardim N, Delgado V, Di Salvo G, et al. Standardization of adult transthoracic echocardiography reporting in agreement with recent chamber quantification, diastolic function, and heart valve disease recommendations: an expert consensus document of the European Association of Cardiovascular Imaging. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2017 Dec 1; 18(12):1301-1310.
141. Voigt J-U, Pedrizzetti G, Lysyansky P, Marwick TH, Houle H, Baumann R, et al. Definitions for a common standard for 2D speckle tracking echocardiography: consensus document of the EACVI/ASE/Industry Task Force to standardize deformation imaging. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2015 Jan; 16(1):1-11.
142. Picano E. On behalf of the Persantine In Stable Angina (PISA) study. Dipyridamole in chronic stable angina pectoris. A randomized, double blind, placebo-controlled, parallel group study. *Eur Heart J* 2001; 22 (19): 1785- 1793.
143. Jagathesan R, Rosen SD, Foale RA, Camici PG, Picano E. Effects of long-term oral dipyridamole treatment on coronary microcirculatory function in patients with chronic stable angina: a substudy of the persantine instable angina (PISA) study. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2006; 48:110-116.

SPISAK SKRAĆENICA

CAD, koronarna bolest

CARHEXA, koronarna arteriogeneza sa heparinom I vežbanjem kodrefraktorne angine

CCC, koronarna koleateralna cirkulacija

CCS, Kanadasko Kardiovaskularno Udruženje

CFI, indeks kolateralnog protoka

CTO, hronična totalna okluzija

DBP, dijastolni krvni pritisak

E, vežbanje

EF, ejkciona frakcija

ESC, Evropsko udruženje kardiologa

EDV, end-dijastolni volumen

ESV, end-sistolni volumen

FGF, factor rasta fibroblasta

GLS, globalni longitudinalni strejn

H, heparin

H+E, heparin I vežbanje

HGF, factor rasta hepatocita

LAD, prednja descendna koronarna arterija

LCx, leva circumflexna arterija

LV, leva komora

MSCT, multi-slajsna kompjuterizovana tomografija

QOL, kvalitet života

RCA, desna koronarna arterija

RPP, produkt srčane frekvence I pritiska

SAQ, upitnik o stabilnoj angini

SBP, sistolni krvni pritisak

SE, stresna ehokardiografija

VEGF, factor rasta vaskularnog endotela

WMSI, indeks pokretljivosti zidova leve komore (miokarda)

BIOGRAFIJA AUTORA

Dr. Marija Petrović, rođena je 20.03.1980. godine u Beogradu. Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu upisala je 1998. godine. Diplomirala je 2005. godine sa prosečnom ocenom tokom studija 9.09.

Od 2013. do 2019. godine bila je zaposlena na Klinici za kardiologiju, Kliničkog centra Srbije u službi neinvazivne dijagnostike i stresne ehokardiografije. Juna 2016. godine je položila sa odličnim uspehom specijalistički ispit iz Interne medicine.

Juna 2010. godine je na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu odbranila master akademsku specijalizaciju sa tezom „Značaj ehokardiografskih parametara u predikciji prognoze resinhronizacione terapije miokarda“, pod mentorstvom Prof. Dr. Milana Petrovića.

Oktobra 2019. godine izabrana je za kliničkog asistenta na predmetu Interna medicina.

Član je udruženja kardiologa Srbije, Član evropskog udruženja kardiologa, Član evropske asocijacije za ehokardiografiju i srčanu insuficijenciju.

Dr. Marija Petrović je recenzent u više časopisa.

Dr. Marija Petrović do sada ima publikovano 15 radova u celini u časopisima sa SCI liste.

Govori engleski, italijanski, ruski i portugalski jezik.

Изјава о ауторству

Име и презиме аутора: Марија Т. Петровић

Број индекса: 06 КА 10

Изјављујем

Да је докторска дисертација под насловом

**ЗНАЧАЈ ПРИМЕНЕ КОМБИНОВАНЕ ТЕРАПИЈЕ ХЕПАРИНА И ВЕЖБАЊА
КОД БОЛЕСНИКА СА РЕФРАКТОРНОМ АНГИНОМ ПЕКТОРИС**

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да дисертација у целини ни у деловима није била предложена за стицање друге дипломе према студијским програмима других високошколских установа;
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио/ла интелектуалну својину других лица.

У Београду 14. 02. 2020.

Потпис аутора

Марија Петровић

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора _____ Марија Т. Петровић _____

Број индекса _____ 06 КА 10 _____

Студијски програм _____ Кардиологија _____

Наслов рада _____ ЗНАЧАЈ ПРИМЕНЕ КОМБИНОВАНЕ ТЕРАПИЈЕ ХЕПАРИНА И ВЕЖБАЊА КОД БОЛЕСНИКА СА РЕФРАКТОРНОМ АНГИНОМ ПЕКТОРИС _____

Ментор _____ Проф. Др. Ана Ђорђевић Дикић _____

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла ради похрањивања у **Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског назива доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис аутора

У Београду, 14. 02. 2020.

Марија Петровић

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

ЗНАЧАЈ ПРИМЕНЕ КОМБИНОВАНЕ ТЕРАПИЈЕ ХЕПАРИНА И ВЕЖБАЊА КОД БОЛЕСНИКА СА РЕФРАКТОРНОМ АНГИНОМ ПЕКТОРИС

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду и доступну у отвореном приступу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство (CC BY)

2. Ауторство - некомерцијално (CC BY-NC)

3. Ауторство - некомерцијално - без прерада (CC BY-NC-ND)

4. Ауторство - некомерцијално - делити под истим условима (CC BY-NC-SA)

5. Ауторство - без прерада (CC BY-ND)

6. Ауторство - делити под истим условима (CC BY-SA)

У Београду, 14. 02.2020.

Потпис аутора

Марија Петровић

