

Ishemična priprava človeške skeletne mišice

Ischemic conditioning of human skeletal muscle

Tina Grapar Žargi¹, Alan Kacin¹

IZVLEČEK

Po poškodbah in operativnih posegih mišično-skeletnih struktur je mišična atrofija s posledično oslabelostjo eden ključnih dejavnikov slabega funkcionalnega stanja pacientov. Na razvoj mišične atrofije med drugim vpliva tudi ishemično-reperfuzijska poškodba, ki nastane zaradi dolgotrajne ishemije med operativnim posegom. Kratkotrajne intermitentne zapore pretoka krvi z vmesnimi reperfuzijami izvedenimi pred ali po dolgotrajni ishemiji, tako imenovana ishemična priprava, imajo dokazano pozitivne vplive na zaščito skeletne mišice pred ishemično-reperfuzijsko poškodbo. Namen članka je sistematično pregledati znanstvene dokaze o zaščitnih učinkih različnih oblik ishemične priprave skeletnih mišic in predstaviti možnost njihove uporabe pred ali po operativnih posegih na zgornjih in spodnjih udih. Raziskave so pokazale zmanjšan odstotek odmrtja in poškodbe mišičnih celic ter boljše ohranjanje energetskih rezerv pri ishemično pred-pripravljenih preiskovancih. Dolgoročni vplivi ishemične priprave na razvoj atrofije in funkcijo mišice še niso raziskani, prav tako ni določen optimalen protokol, ki bi bil primeren za prenos v klinično prakso. Smiselno bi bilo raziskati dolgoročne vplive ishemične priprave z natančnimi meritvami prečnega preseka ali volumna mišic z magnetno resonanco in standardiziranimi testi mišične zmogljivosti in funkcije, ki bi jih bilo treba izvesti v ključnih časovnih intervalih po operativnem posegu.

Ključne besede: ishemična predpriprava, skeletna mišica, ishemično-reperfuzijska poškodba.

ABSTRACT

Muscle atrophy and deconditioning are the major causes of poor functional status of patients following injuries or surgical procedures on musculoskeletal structures. Ischemia-reperfusion injury, caused by sustained ischemia during surgery, greatly influences the development of atrophy. Short termed periods of ischemia intermittent by reperfusion, so called ischemic conditioning, have been shown to attenuate the ischemia-reperfusion injury. The aim of this article is to systematically review scientific evidence of skeletal muscle protection induced by various protocols of ischemic conditioning and present potential protocols of its application before or after upper and lower limb surgery. Reviewed research presents evidence of increased cell viability, decreased cell injury and preservation of energy stores in preconditioned subjects. Despite the abundant evidence on acute protective effects, long-term effects of IP on development of muscle atrophy have not yet been investigated. There is clearly a need for determination of optimal IP protocol for clinical practice. Accurate measurements of cross-sectional area or muscle volume with magnetic resonance imaging, standardized muscle strength and function tests performed in crucial time intervals following surgery are the next logical step in the research of long-term effects of IP on human skeletal muscle.

Key words: ischemic preconditioning, skeletal muscle, ischemia-reperfusion injury.

¹ Univerza v Ljubljani, Zdravstvena fakulteta, Oddelek za fizioterapijo, Zdravstvena pot 5, 1000 Ljubljana, Slovenija

Korespondenca/Correspondence: asist. Tina Grapar Žargi, MSc, dipl.fiziot; e-pošta: tina.grapar-zargi@zf.uni-lj.si

Prispelo: 15.10.2012

Sprejeto: 02.11.2012

UVOD

Po operativnih posegih mišično-skeletnih struktur je eden od ključnih ciljev čimprejšnja vrnitev optimalne funkcionalne sposobnosti pacienta. Na funkcionalni status mišice vpliva več dejavnikov, vendar je eden najpomembnejših gotovo atrofija in posledična mišična oslabeledost. Vzrok atrofije skeletnih mišic je kombinacija zmanjšane ali odsotne rabe le-te zaradi poškodbe, refleksne inhibicije zaradi bolečine in otekline ter kaskade biokemičnih sprememb v mišici med in neposredno po operativnem posegu. Operativni posegi na zgornjih in spodnjih udih se zaradi boljše vidljivosti operativnega polja navadno izvajajo v brezkrvnem polju, torej popolni ishemiji vseh tkiv. Ishemija se ustvari z uporabo napihljivih kirurških manšet, nameščenih na proksimalnem delu uda, s katerimi z mehanskim stiskom dosežemo prekinitev pretoka krvi skozi arterije in vene (arterijska okluzija). Dalj časa trajajoče okluzije med operacijo in ponovni nenadni vdor krvi v ishemični ud po sprostitvi okluzije sta vzrok za tako imenovano ishemično-reperfuzijsko poškodbo (I-R-poškodbo). Znano je, da skeletna mišica makroskopsko preživi do največ štiri ure hipoksije v normotermičnih pogojih (1, 2), vendar se negativni vplivi začnejo že prej. Raziskave kažejo, da I-R-poškodba povzroči apoptozo skeletne mišične celice; predvidoma zaradi negativnega vpliva na mikrocirkulacijo in posledičnega lokalnega vnetnega odziva in tvorbe reaktivnih oksidativnih molekul (1, 3). Dolgotrajna ishemija in posledičen hiter vdor krvi vplivata na endoteljske celice kapilar ter povzročita zlepljanje eritrocitov in otekanje stene žil, kar lahko povzroči popolno prekinitev pretoka oziroma tako imenovani fenomen »no-reflow« (1, 4). Poleg tega različni metaboliti povzročijo lokalno ali celo sistemsko vnetje; odvisno od velikosti ishemičnega predela (1). Posledica I-R-poškodbe je tako lahko vse od izgube funkcije mišice in infarkcije mišičnih celic do sistemske acidoze, hiperkaliemije in mioglobinurije (5), kar lahko vodi tudi do odpovedi organov, občutljivih na ishemijo.

Leta 1986 so Murry in sod. (6) na modelu pasjega miokarda dokazali, da je mogoče s prehodnimi kratkotrajnimi periodami ishemije in reperfuzije omiliti oziroma odložiti poškodbo mišične celice in sistemski odziv organizma. Ta pojav se imenuje »ishemična predpriprava« (IP) (angl. ischemic

preconditioning). V literaturi se pojavlja tudi tako imenovana ishemična popriprava (angl. ischemic postconditioning), pri kateri se po dlje časa trajajoči ishemiji, na primer po infarktu miokarda, reperfuzija tkiva izvaja nadzorovano in postopno, v krajših intervalih (intermitentna reperfuzija) (7). Več raziskav (8) je pokazalo pozitivne učinke IP srčne mišice, možganov, jeter, ledvic, črevesja, pljuč in tudi skeletne mišice na preživetje tkiva. Raziskave na skeletni mišici so se začele v 90. letih in so bile opravljene pretežno na živalih. Raziskovalci so preučevali učinke IP na različnih ravneh, in sicer na funkcijo in zmogljivost mišice, ohranjanje strukture citoskeleta, delež preživelih mišičnih celic, mikrocirkulacijo v mišici, ekspresijo genov, pretvorbo proteinov, energijske zaloge celice in izražanje vnetnih faktorjev.

Kljub številnim dokazom o pozitivnih učinkih ni določen standardiziran protokol IP niti srčne niti skeletne mišice. Raziskave so metodološko zelo različne in zato med seboj težko primerljive. Uporabljeni so različni protokoli predpriprave, aplikacija in trajanje dolgotrajne ishemije (simulacija operativne ishemije), okluzijski pritiski v tkivo z manšeto, meritve in uporaba modelov (živalski, človeški, *in vitro*, *in vivo*). V nadaljevanju predstavljeni pregled raziskav, narejenih na človeški skeletni mišici, je torej izhodišče za oblikovanje optimalnega protokola IP skeletnih mišic na dlje časa trajajočo ishemijo med operativnim posegom na zgornjih in spodnjih udih.

Ishemična predpriprava človeške skeletne mišice

Pri pregledu literature smo našli devet člankov o raziskavah, ki so bile opravljene na človeški skeletni mišici, od tega dva na *in vitro* modelu. značilnosti in rezultati pregledanih raziskav so povzeti v tabeli 1.

Tabela 1: Kronološki pregled raziskav, narejenih na človeški skeletni mišici

AVTOR	VZOREC	PROTOKOL IP (ishemija/reperfuzija)	PRITISK V MANŠETI MED IP	ISHEMIJA/REPERFUZIJA	REZULTATI
Martou in sod. (2006)	Človeška skeletna mišica in vitro N = 7, vzorci z mišic rectus abdominis, vastus lateralis in brachioradialis	1 x 5'/5'	Inkubacija v hipoksični in normoksični raztopini	3 ure hipoksije 2 uri reoksigenacije, dolgotrajna ishemija, aplicirana takoj po IP	- Višji % preživelih celic –znižan % poškodovanih celic, - ohranjena morfološko nespreme-njena struktura citoskeleta
Orban in sod. (2006)	Pacienti, predvideni za ligamentoplastiko N = 31 (3 skupine 11/10/10) m. Quadriceps	Unilateralno na op. udu, 1 x 5' /10'	350 mm Hg	Operativni poseg v ishemiji, kontrolna skupina: 81,6 ± 12,9', IP-skupina: 90,0 ± 8,4'/reperfuzija 6 ur, dolgotrajna ishemija, aplicirana takoj po IP	Manjša poraba analgetikov
Van in sod. (2008)	Pacienti, predvideni za operativni poseg kolena N = 20 (10/10 na skupino), ni podatka o mišici	Unilateralno na op. udu, supiniran položaj, 3 x 5'/5'	300 mm Hg za IP in operativno ishemijo	Operativni poseg v ishemiji: 1. kontrolna sk.: 73,4 ± 7,2', 2. eksperimentalna sk: 73,9 ± 29,9' /10 min reperfuzije, dolgotrajna ishemija, aplicirana takoj po IP	- Pozitivni učinki na hemodinamske odzive in peroksidacijo lipidov, - pomembno povišan PvO ₂ , - znižan pH venske krvi, PvCO ₂ - nižja raven laktata v krvi.
Sullivan in sod. (2009)	Pacienti – rekonstrukcija sprednje križne vezi, N = 19	Unilateralno na op. udu, 3 x 5'/5' v mirovanju	100 mm Hg nad SBP, vendar ne manj kot 250 mm Hg	Operativni poseg v ishemiji: 62,5 ± 1,3' v eksp. skupini, 65,5 ± 1,5' v kontrolni skupini, 24 ur reperfuzije, dolgotrajna ishemija, aplicirana takoj po IP	-Prevenција imunske disfunkcije modulirane prek limfocitov. -Redukcija vnetnih odzivov in produkcije citokinov.
De Groot in sod. (2010)	Zdravi, dobro trenirani kolesarji, N = 15, mišice spodnjih udov	Bilateralno, supiniran položaj, 3 x 5'/5' v mirovanju	220 mm Hg	Brez dolgotrajne I/R	O _{2maks} izboljššan za 3 % W _{maks} izboljššan za 1,6 %
Murphy in sod. (2010)	Pacienti – totalna endoproteza kolena, N = 19 (kontrolna 9/eksperimentalna 10), ni podatka o mišici	Unilateralno na op. Stegno, 3 x 5'/5' v mirovanju	100 mm Hg nad SBP	Operativni poseg v ishemiji 68–87 min, 24 ur reperfuzije, dolgotrajna ishemija, aplicirana takoj po IP	Povečana ekspresija preživitvenih genov in znižana ekspresija genov, povezanih z oksidativnim stresom in apoptozo.
Andreas in sod. (2011)	Zdravi moški, N = 14, mišica: FMRI – gastrocnemius, izometrična moč – plantarna/dorzalna fleksija gležnja	Unilateralno na desno stegno, 3 x 5'/10' v mirovanju	200 mm Hg	20 minut ishemije, 30 minut reperfuzije, dolgotrajna ishemija, aplicirana 4 ali 48 ur po IP	Pozitiven vpliv na mišični metabolizem

AVTOR	VZOREC	PROTOKOL IP (ishemija/reperfuzija)	PRITISK V MANŠETI MED IP	ISHEMIJA/REPERFUZIJA	REZULTATI
Chrisafulli in sod. (2011)	Zdravi, aktivni preiskovanci, N = 17, mišice spodnjih udov	1. bilateralno 3 x 5'/5' v mirovanju, 2. 1 x 3'/5', kombinacija z vadbo	50 mm Hg nad SBP	Brez dolgotrajne I/R	Oba protokola stat. značilno izboljšata W_{maks} , TW in TET (~4 %)
Naparus in sod. (2012)	Človeška skeletna mišica in vitro, N = 7, vzorci z m. rectus abdominis	Več protokolov ishemične pred- in popriprave, 1–3 x 5' /5'	Inkubacija v hipoksični in normoksični raztopini	3 ure hipoksije, 2 uri reoksigenacije, dolgotrajna ishemija, aplicirana takoj po IP	Redukcija sproščanja LDH, ohranjanje ravni ATP, omilitev redukcije MTT

Legenda: SPB – sistolični krvni tlak, W_{maks} – maksimalna obremenitev, TW – celotno delo, TET – skupni čas vadbe, O_{2maks} – aerobna kapaciteta, LDH – laktat dehidrogenaza, MTT – 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromid, PvO_2 – parcialni tlak kisika v venski krvi, $PvCO_2$ – parcialni tlak ogljikovega dioksida v venski krvi, FMRI – funkcionalna jedrna magnetna resonanca

Ishemično predpripravo so v dveh raziskavah simulirali *in vitro*, z uporabo normoksične in hipoksične raztopine (9, 10), v preostalih primerih pa je bila ishemija ustvarjena s pomočjo napihljive manšete, in sicer na enem (11–15) ali obeh spodnjih udih (16, 17). V treh primerih so preučevali zdrave ljudi (11, 16, 17), v štirih primerih pa paciente, načrtovane za operativni poseg na kolenskem sklepu. Operativni posegi v pregledanih člankih so obsegali totalno endoprotezo kolena (12), rekonstrukcijo sprednje križne vezi (13), ligamentoplastiko (15), v enem primeru pa poseg ni bil specificiran (14). Lastnosti populacije so pomembne predvsem pri interpretaciji rezultatov na ravni skeletne mišice, saj so odzivi na IP odvisni od več dejavnikov: predhodnega stanja mišice, pa tudi od morebitnih poškodb in posegov v mišično-skeletni sistem posameznika.

V dveh raziskavah (16, 17) so bili opazovani samo akutni odzivi na IP, v preostalih sedmih pa so opazovali učinke IP na odzive tkiva po naknadni 20–180 minut trajajoči kontinuirani ishemiji. V vseh raziskavah je šlo za akutne odzive na predpripravo, kar pomeni, da so bile meritve opravljene takoj po IP ali pa je bila IP izvedena od 0 do 4 ure pred dolgotrajno ishemijo.

Protokoli IP v pregledani literaturi so se razlikovali v številu ishemičnih in reperfuzijskih intervalov (od 1 do 3), pa tudi v njihovem trajanju. Pri tem so ishemični intervali variirali od 3 do 5 minut in so bili izvedeni v mirovanju, razen raziskave Chrisafulli in sod. (16), v kateri je eden izmed IP-

protokolov vseboval tudi kombinacijo ishemije in mišičnih kontrakcij. Trajanje vmesne reperfuzije prav tako variira od 5 do 10 minut.

Ishemična predpriprava mišice z napihljivo manšeto

Pri IP namestimo napihljivo manšeto na proksimalni del uda, kjer z mehanskim stisnjenjem žil povzročimo zmanjšan ali prekinjen dotok krvi skozi ud in tako ustvarimo hipoksične pogoje v skeletni mišici. Aplikacija manšete ima več učinkov, in sicer: mehanične, ishemično-reperfuzijske in systemske (18). Čeprav sta za zaščitni učinek IP pomembni predvsem zadnji dve vrsti učinkov, je zaradi varnosti postopka pomembno upoštevati vse dejavnike. V pregledanih člankih so podatki o uporabljenem manšetnem sistemu pomanjkljivi, saj nikjer ni navedenih podatkov o velikostih in lastnostih manšet. Ti podatki so pomembni za primerjavo študij, saj oblika in širina manšete vplivata na razporeditev pritiska in strižne sile, ki delujejo na mišico pod manšeto (2). Te so odvisne tudi od površine mišične mase neposredno pod manšeto (19). S širšo oziroma konusno oblikovano manšeto z nižjim tlakom dosežemo enak delež zmanjšanja krvnega pretoka kot z ožjo manšeto (18), poleg tega se pri visokih tlakih lahko na mestu pritiska manšete pojavi nekroza skeletne mišične celice (2). Širina, oblika in tlak v manšeti pomembno vplivajo tudi na udobnost aplikacije in bolečino (18), zato je pomembna optimalna izbira manšetnega sistema in uporabljenih tlakov. V pregledanih člankih so bili uporabljeni konstantni manšetni tlaki (≤ 350

mmHg) ali pa so tlake nastavili individualno (≥ 50 mmHg nad sistoličnim arterijskim tlakom). Na podlagi pregleda literature (18) avtorji priporočajo individualno določanje minimalnega arterijskega okluzijskega tlaka (AOP) po Grahamovi formuli (20):

$AOP = [(sistolični\ tlak - diastolični\ tlak) \times (obseg\ uda) / 3(\text{širina\ manšete})] + diastolični\ tlak$ saj so po tej metodi določeni tlaki za popolno okluzijo pri odraslih osebah lahko nižji 20 %–40 % (21) kot v primerih, ko se uporabljajo arbitrarno priporočeni absolutni tlaki (19).

Zgodnje in pozno zaščitno obdobje ishemične predpriprave in popriprave

Literatura (5, 8) opisuje dva časovna intervala zaščite tkiva po aplikaciji protokola IP, in sicer zgodnje in pozno obdobje zaščite, ki se razlikujeta tudi v mehanizmih, s katerimi zaščitita tkivo. Več avtorjev ugotavlja (5, 8, 22), da se zgodnje oziroma akutno zaščitno obdobje pojavi v časovnem intervalu od 0 do 4 ure po aplikaciji IP, čemur 24 do 72 ur po aplikaciji IP sledi še pozno zaščitno obdobje. Pozno zaščitno obdobje je s kliničnega stališča zelo zanimivo, saj lahko protokol IP izvedemo dan ali dva pred operacijo, za izkoriščanje zgodnjega zaščitnega obdobja pa je treba IP izvesti tik pred operacijo, s čimer se podaljšuje čas operativnega posega. V predstavljenih člankih je v vseh primerih preučevano zgodnje zaščitno obdobje IP. Pozno obdobje je na človeški skeletni mišici slabše raziskano, obstaja pa nekaj študij, narejenih na živalskih skeletnih mišicah (23, 24, 25) in na miokardu (8). Na skeletni mišici Wang in sod. (23) ugotavljajo celo boljše učinke poznega zaščitnega obdobja na mikrocirkulacijo denervirane podganje m. cremaster v primerjavi z zgodnjim obdobjem, prav tako so Moses in sod. (24) na prašičjem m. latissimus dorsi ugotovili, da je bilo pozno zaščitno obdobje povezano s pomembno višjo ravno ATP v celicah in z nižjo aktivnostjo nevtrofilcev. Adanali in sod. (25) so v raziskavi na podganji mišici cremaster v zgodnjem zaščitnem obdobju ugotovili izboljšano perfuzijo, večji premer kapilar in manjšo aktivacijo levkocitov, v poznem zaščitnem obdobju pa ohranjeno manjšo aktivnost levkocitov. Kot mehanizme zaščite v zgodnjem zaščitnem obdobju literatura navaja aktivacijo različnih signalnih poti, večinoma aktivacijo kalijeveh ATP-kanalčkov (K_{ATP}), v pozni fazi pa spremenjeno

sintezo proteinov (8), vendar natančni mehanizmi ostajajo še nepojasneni. Moses in sod. (5) so z dodajanjem specifičnih in nespecifičnih zaviralcev odpiralcev K_{ATP} kanalčkov so, da je sprožilni mehanizem zaščite vezan na K_{ATP} kanalčke na sarkolemi, moduliran pa prek kanalčkov na mitohondrijih. Poudariti je treba, da gre v raziskavah za uporabo različnih živalskih vrst, protokolov IP, različnih mišičnih skupin in različno trajajočo sekvenco dolgotrajne ishemije in reperfuzije, kar otežuje primerjavo rezultatov in njihovo uporabno vrednost na človeški skeletni mišici.

Fenomen zaščitnih učinkov ishemične popriprave kot intermitentne reperfuzije po dolgotrajni ishemiji tkiva je bil večinoma raziskovan na miokardu in manj na skeletni mišici. Le Naparus in sod. (10) so na skeletni mišici *in-vitro* primerjali učinke obeh oblik ishemične priprave in ugotovili enako ugodne učinke ishemične predpriprave in popriprave. Kombinacija pred- in popriprave ni imela več ugodnejših učinkov kot uporaba le ene ali druge oblike. Glede na etiologijo in posledično nepredvidljivost akutnih dogodkov na miokardu, kot na primer infarkt, je postopek zaščite pred I-R poškodbo z ishemično popripravo klinično uporaben predvsem na pri urgentnih posegih na miokardu ali skeletni mišici, za primere načrtovanih operativnih posegov pa je primernejši IP.

Vpliv na funkcijo mišice

S terapevtskega stališča je ključnega pomena vpliv IP na funkcijo in zmogljivost človeške skeletne mišice, kar so raziskovali v štirih pregledanih člankih. De Groot in sod. (17) poročajo o 3-odstotnem povečanju aerobne kapacitete (O_{2maks}) in 1,6-odstotnem povečanju maksimalne obremenitve (W_{maks}) takoj po izvedenem protokolu IP, Chrisafulli in sod. (16) pa poročajo o povečanju skupnega dela in skupnega časa vadbe za približno 4 odstotke. Niso opazili izboljšanja v O_{2maks} , prav tako ne navajajo izrazite razlike v učinkovitosti IP v mirovanju in IP v kombinaciji z vadbo. V obeh raziskavah (16, 17) preiskovanci niso bili izpostavljeni naknadni dolgotrajni ishemiji, temveč so preučevali zgolj akutne učinke IP na mišično in kardio-respiratorno funkcijo. Zanimivo je, da so De Groot in sod. (17) z enakim protokolom IP v mirovanju dosegli povečanje O_{2maks} , čeprav je

bila izhodiščna raven aerobne zmogljivosti njihovih preiskovancev precej višja.

Pozitivne učinke IP na akutno oksigenacijo skeletne mišice med vadbo so pokazali Saito in sod. (26) na podganjem m. gastrocnemius, merjeno z infrardečo spektroskopijo. Opazili so statistično značilno povečanje nasičenosti krvi s kisikom v skupini, deležni IP, že takoj po protokolu IP, pa tudi pozneje med reperfuzijo po 120-minutni neprekinjeni ishemiji. Ishemična predpriprava je pomembno skrajšala tudi razpolovno dobo reoksigenacije v primerjavi s skupino brez IP in statistično značilno povečala raven oksigeniranega hemoglobina v m. gastrocnemius med vadbo. Podobne pozitivne učinke na mišično funkcijo navajajo tudi Gurke in sod. (27) na podganjem m. extensor digitorum longus. Po triurni neprekinjeni ishemiji, povzročeni z napihljivo manšeto, so ugotovili, da so imeli trije desetminutni ishemični intervali, prekinjeni z desetminutnimi reperfuzijami, pozitivne učinke na maksimalno mišično silo, kontraktilnost, opravljeno delo in utrujanje mišice. Do zdaj izvedene raziskave na človeški mišici (11, 15) ne potrjujejo pozitivnih učinkov zgodnjega zaščitnega obdobja na mišično zmogljivost in funkcijo, kar pa je lahko tudi posledica neustrezne metodologije merjenja mišične zmogljivosti. Orban in sod. (15) so testirali mišice spodnjega uda 24 ur po operativnem posegu po protokolu American Spine Injury Association, ki mišico klasificira v šest kategorij od 0 – popolnoma paretične do 5 – sposobne zadržati maksimalni manualni upor. Ker gre za protokol subjektivnega ocenjevanja mišične moči, je malo verjetno, da bi z njim lahko zaznali potencialne minimalne razlike med eksperimentalno in kontrolno skupino le 24 ur po operaciji. Bolj zanesljivi so rezultati Andreasa in sod. (11) ki s tremi nizi maksimalne hotene kontrakcije plantarnih in dorzalnih fleksorjev levega gležnja, izvedenimi pred dolgotrajno ishemijo in v zadnjih minutah ter ponovno v 5., 10. in 15. minuti po začetku reperfuzije, niso pokazali pozitivnih učinkov IP na jakost mišične kontrakcije. Glede na majhno število in metodološko raznolikost študij ni mogoče dokončno sklepati o (ne)učinkih IP na zmogljivost mišic in aerobno kapaciteto pri človeku. Ker so se vse študije osredotočale na akutne odzive, bi bilo smiselno podrobneje preučiti učinke poznega zaščitnega obdobja IP pred operativnimi posegi na udih ter njene dolgoročne

učinke na razvoj mišične atrofije in zmanjšanje mišične zmogljivosti. Dolgoročni učinki zaščite skeletne mišice z IP so še povsem neraziskano področje. Ker IP zmanjša delež odmrlih mišičnih celic med dolgotrajno ishemijo (7, 28, 29), predvidevamo, da bi z njeno aplikacijo lahko vsaj delno zavrli I-R-poškodbo mišice in razvoj atrofije po operativnem posegu. Za natančno merjenje mišične atrofije bi bile potrebne natančne meritve prečnega preseka ali volumna mišic z magnetno resonanco in standardizirani testi mišične zmogljivosti ter funkcije, ki bi jih bilo treba izvesti v ključnih časovnih intervalih po operativnem posegu.

Učinki ishemične predpriprave na preživetje mišične celice

Zaščitne učinke na preživetje mišične celice je pokazalo več raziskav. Raziskave, izvedene na človeški skeletni mišici *in vitro* (9, 10) so dokazale pozitiven vpliv na preživetje mišičnih celic ter ohranjanje strukture citoskeleta. Protokol IP je v eni raziskavi (9) obsegal en interval 5-minutne ishemije in 5-minutne reperfuzije, v drugi raziskavi (10) pa so bili uporabljeni od enega do trije enako dolgi intervali. Večje število intervalov, zanimivo, ni pomembno vplivalo na raven zaščite. Treba je upoštevati, da so v *in vitro* študijah popolnoma izločeni vsi sistemski regulacijski odzivi, zato moramo biti pri prenosu njihovih rezultatov v klinične situacije previdni.

Kljub temu tudi študije *in vivo* poročajo o pozitivnem vplivu IP na zaščito mišične celice, celični metabolizem in hemodinamske parametre (8, 11–13, 30, 31), pri čemer je končni učinek predvsem redukcija celične smrti zaradi I-R poškodbe po daljših obdobjih neprekinjene ishemije. Glede fizioloških mehanizmov, ki sprožijo in modulirajo zaščitne učinke IP, konsenz še ni dosežen, je pa sedem raziskav na človeški skeletni mišici (9–14, 16) dokazalo pozitivne učinke na mišični metabolizem (laktat, pH, vsebnost in razdelitev levkocitov), redukcijo poškodbe mišične celice (laktat dehidrogenaza), ohranjanje preživetje mišičnih celic in ohranjanje ravni ATP in fosfokreatina kot energetske rezerve celice. Od pregledanih člankov le Orban in sod. (15) ne navajajo nikakršnih pozitivnih učinkov na krvne kazalnike rabdmiolize, navajajo pa zmanjšanje intenzitete bolečine, merjene z

vizualno analogno lestvico, in manjšo celokupno porabo analgetikov v skupini, deležni IP. Manjša bolečina bi bila lahko povezana z zmanjšanimi vnetnimi odzivi organizma po IP, ki so dokazani na človeškem (13) in živalskih modelih (24, 30, 32, 33).

SKLEP

Glede na številne pozitivne izsledke raziskav o učinkih ishemične priprave na preživetje in redukcijo poškodbe skeletnih mišičnih celic po dolgotrajni ishemiji menimo, da bi bilo smiselno raziskati tudi dolgoročne vplive na strukturo in funkcijo mišice pri človeku. Določiti je treba optimalen protokol, ki bi bil primeren za prenos v klinično prakso. Predvidevamo, da bi z uporabo ishemične priprave lahko vsaj delno zavrli I-R-poškodbo mišice in razvoj atrofije po operativnem posegu. Za natančno merjenje mišične atrofije bi bili nujni natančne meritve prečnega preseka ali volumna mišic z magnetno resonanco in standardizirani testi mišične zmogljivosti in funkcije, ki bi jih bilo treba izvesti v ključnih časovnih intervalih po operativnem posegu.

LITERATURA

1. Blaisdell FW (2002). The pathophysiology of skeletal muscle ischemia and the reperfusion syndrome: a review. *Cardiovasc Surg* 10 (6): 620–30.
2. Pedowitz RA, Gershuni DH, Schmidt AH, Fridén J, Rydevik BL, Hargens AR (1991). Muscle injury induced beneath and distal to a pneumatic tourniquet: A quantitative animal study of effects of tourniquet pressure and duration. *J Hand Surg* 16 (4): 610–21.
3. Carden DL, Granger DN (2000). Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury. *J Pathol* 190: 255–66.
4. Walker PM (1991). Ischemia/Reperfusion Injury in Skeletal Muscle. *Ann Vasc Surg* 5 (4): 399–402.
5. Moses MA, Addison PD, Neligan PC, Ashrafpour H, Huang N, McAllister SE, Lipa JE, Forrest CR & Pang CY. (2005a). Inducing late phase of infarct protection in skeletal muscle by remote preconditioning: efficacy and mechanism. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 289 (6): R1609–17.
6. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA (1986). Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 74 (5): 1124–136.
7. Granfeldt A, Lefer DJ, Vinten-Johansen J (2009). Protective ischaemia in patients: preconditioning and postconditioning. *Cardiovasc Res* 83 (2): 234–46.
8. Kanoria S, Jalan R, Seifalian AM, Williams R, Davidson BR (2007). Protocols and mechanisms for remote ischemic preconditioning: A novel method for reducing ischemia reperfusion injury. *Transplantation* 84 (4): 445–58.
9. Martou G, O'Blenes CA, Huang N, McAllister SE, Neligan PC, Ashrafpour H, Pang CY, Lipa JE (2006). Development of an in vitro model for study of the efficacy of ischemic preconditioning in human skeletal muscle against ischemia-reperfusion injury. *J Appl Physiol* 101 (5): 1335–342.
10. Naporus A, Ashrafpour H, Huang N, Hofer SO, Zhong T, Forrest CR, Pang CY (2012). Combination of Hypoxic Preconditioning and Postconditioning Does Not Induce Additive Protection of Ex Vivo Human Skeletal Muscle from Hypoxia/Reoxygenation Injury. *J Cardiovasc Pharmacol*: v tisku.
11. Andreas M, Schmid AI, Keilani M, Doberer D, Bartko J, Crevenna R, Moser E, Wolzt M (2011). Effect of ischemic preconditioning in skeletal muscle measured by functional magnetic resonance imaging and spectroscopy: a randomized crossover trial. *J Cardiovasc Magn Reson* 13 (32).
12. Murphy T, Walsh PM, Doran PP, Mulhall KJ (2010). Transcriptional responses in the adaptation to ischaemia-reperfusion injury: a study of the effect of ischaemic preconditioning in total knee arthroplasty patients. *J Transl Med* 8 (46).
13. Sullivan PJ, Sweeney KJ, Hirpara KM, Malone CB, Curtin W, Kerin MJ (2009). Cyclical ischaemic preconditioning modulates the adaptive immune response in human limb ischaemia-reperfusion injury. *Br J Surg* 96 (4): 381–90.
14. Van M, Olguner C, Koca U, Sisman AR, Muratli K, Karci A, Mavioglu O, Kilercik H (2008). Ischaemic preconditioning attenuates haemodynamic response and lipid peroxidation in lower-extremity surgery with unilateral pneumatic tourniquet application: a clinical pilot study. *Adv Ther* 25 (4): 355–66.
15. Orban JC, Levraut J, Gindre S, Deroche D, Schlatterer B, Ichai C, Grimaud D (2006). Effects of acetylcysteine and ischaemic preconditioning on muscular function and postoperative pain after orthopaedic surgery using a pneumatic tourniquet. *Eur J Anaesthesiol* 23 (12): 1025–30.
16. Chrisafulli A, Tangianu F, Tocco F, Concu A, Mamei O, mulliri G, Caria MA (2011). Ischemic preconditioning of the muscle improves maximal exercise performance but not maximal oxygenation uptake in humans. *J Appl Physiol* 111: 530-6.

17. de Groot PCE, Thijssen DHJ, Sanchez M, Ellenkamp R, Hopman MTE (2010). Ischemic preconditioning improves maximal performance in humans. *Eur J Appl Physiol* 108 (1): 141–46.
18. Estebe JP, Davies JM, Richebe P (2011). The pneumatic tourniquet: mechanical, ischaemia-reperfusion and systemic effects. *Eur J Anaesthesiol* 28 (6): 404–11.
19. Wakai A, Winter DC, Street JT, Redmond PH (2001). Pneumatic tourniquets in extremity surgery. *J Am Acad Orthop Surg* 9 (5): 345–51.
20. Graham B, Breault MJ, McEwen JA, McGraw RW (1993). Occlusion of arterial flow in the extremities at subsystolic pressures through the use of wide tourniquet cuffs. *Clin Orthop Relat Res* (286): 257–61.
21. Younger AS, McEwen JA, Inkpen K (2004). Wide contoured thigh cuffs and automated limb occlusion measurement allow lower tourniquet pressures. *Clin Orthop Relat Res* (428): 286–93.
22. Gross GJ (2005). Remote preconditioning and delayed cardioprotection in skeletal muscle. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 289 (6): R1562–63.
23. Wang WZ, Tsai T-M, Anderson GL (1999). Late-preconditioning protection is evident in the microcirculation of denervated skeletal muscle. *J Orthop Res* 17 (4): 571–77.
24. Moses MA, Addison PD, Neligan PC, Ashrafpour H, Huang N, Zair M, Rassuli A, Forrest CR, Grover GJ, Pang CY (2005b). Mitochondrial K-ATP channels in hindlimb remote ischemic preconditioning of skeletal muscle against infarction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 288 (2): H559–67.
25. Adanali G, Ozer K, Siemionow M (2002). Early and late effects of ischemic preconditioning on microcirculation of skeletal muscle flaps. *Plast Reconstr Surg* 109 (4): 1344–51.
26. Saito T, Komiyama T, Aramoto H, Miyata T, Shigematsu H (2004). Ischemic preconditioning improves oxygenation of exercising muscle in vivo. *J Surg Res*, 120: 111–18.
27. Gürke L, Kuhrmeier A, Sutter PM, Seelig J, Martinoli S, Heberer M, Marx A (1996). Ischemic preconditioning improves post-ischemic function but not energy metabolism of skeletal muscles. *Ann Ital Chir* 67 (2): 253–55.
28. Eberlin KR, McCormack MC, Nguyen JT, Tatlidede HS, Randolph MA, Austen WG (2008). Ischemic preconditioning of skeletal muscle mitigates remote injury and mortality. *J Surg Res* 148: 24–30.
29. Kharbanda RK, Nielsen TT, Redington AN (2009). Translation of remote ischaemic preconditioning into clinical practice. *Lancet*: 374 (9700): 1557–565.
30. Schoen M, Rotter R, Gierer P, Gradl G, Strauss U, Jonas L, Mittlmeier T, Vollmar B (2007). Ischemic preconditioning prevents skeletal muscle tissue injury, but not nerve lesion upon tourniquet-induced ischemia. *J Trauma* 63: 788–97.
31. Saita Y, Yokoyama K, Nakamura K, Itoman M (2002). Protective effect of ischaemic preconditioning against ischaemia-induced reperfusion injury of skeletal muscle: how many preconditioning cycles are appropriate? *Br J Plast Surg* 55 (3): 241–45.
32. Bushell AJ, Klenerman L, Davies H, Grierson I, McArdle A, Jackson MJ (2002). Ischaemic preconditioning of skeletal muscle 2. Investigation of the potential mechanisms involved. *J Bone Joint Surg Br* 84B (8): 1189–93.
33. Bushell AJ, Klenerman L, Taylor S, Davies H, Grierson I, Helliwell TR, Jackson MJ (2002b). Ischaemic preconditioning of skeletal muscle 1. Protection against the structural changes induced by ischaemia/reperfusion injury. *J Bone Joint Surg Br* 84B (8): 1184–88.