

**VILNIAUS UNIVERSITETAS  
MEDICINOS FAKULTETAS**

Baigiamasis darbas

**Ryšys tarp laiko iki kraujotakos atstatymo ir histologinių skersaruožių raumenų pokyčių užleistos ūminės galūnės išemijos atvejais**

**Correlation of the Time to Restoration of Blood Flow and Histopathological Changes in Skeletal Muscle in Cases of Advanced Acute Limb Ischemia**

**Dominykas Gerasimovas** VI kursas, 3 gr.

Širdies ir kraujagyslių ligų klinika

Darbo vadovas

Dr. Arminas Skrebūnas

Katedros arba Klinikos vadovas

Prof. Sigita Glaveckaitė

2023-05-20

Studento elektroninio pašto adresas: dominykas.gerasimovas@stud.mf.vu.lt

# Turinys

SANTRAUKA.....	3
SUMMARY .....	4
SANTRUMPOS.....	5
ĮVADAS .....	6
1. DARBO METODIKA .....	7
2. PATOFIZIOLOGIJA.....	8
IŠEMIJOS REPERFUZIJOS POVEIKIS AUDINIAMS IR ORGANIZMO BŪKLEI .....	8
3. DISKUSIJA .....	9
3.1 I/R Palyginimo tyrimai in vitro ir jų interpretavimas per pastaruosius 10 metų .....	9
3.2 Laiko iki kraujotakos atkūrimo ir histologinių pokyčių ryšys .....	11
3.3 Intervencijų įgyvendinamumas ir veiksmingumas .....	15
3.3.1 <i>Farmakologinis gydymas in vivo ir in vitro tyrimuose per pastaruosius 10 metų</i> .....	15
3.3.2 <i>Vaizdavimo tyrimų taikymas in vivo tyrimuose per pastaruosius 10 metų</i> .....	19
IŠVADOS .....	21
LITERATŪROS ŠALTINIAI.....	22

## SANTRAUKA

**Darbo tikslas:** Išanalizuoti ir apibendrinti jau esančius mokslinius duomenis apie laiko iki kraujotakos atkūrimo ir histologinių pokyčių skersaruožiuose raumenyse ryšį, esant užleistai ūminei galūnių išemijai.

**Metodika:** Atlikta literatūros apžvalga naudojant Pubmed duomenų bazę. Remiantis įtraukimo ir atmetimo kriterijais į tyrimą įtraukti 39 straipsniai.

**Diskusija:** Per pastarąjį dešimtmetį padaryta didelė pažanga siekiant suprasti mechanizmus ir intervencijas, susijusias su skeleto raumenų išemijos-reperfuzijos (I/R) pažeidimu. In vivo tyrimuose galime stebėti išemijos ir reperfuzijos fazėse matomus nuo laiko intervalų priklausomus pakitimus, tokius kaip uždegiminių rodiklių didėjimą, mikrocirkuliacijos sumažėjimą, rbdomiolizę, nervinių skaidulų pažeidimą ir kitus. Atliekant tyrimus in vivo ir in vitro buvo iširta daugybė farmakologinių intervencijų, skirtų I/R pažeidimui sušvelninti. Kai kurios perspektyvios strategijos apima mitochondrijų transplantaciją, naftidrofurilo ir cilostazolio vartojimą, dvigubo jautrumo injekcinį hidrogelį, gydymą deksametazonu, lėtinę periodinę hipobarinę hipoksiją, oksitocino vartojimą, likopeno papildus, ekstraląstelines pūsleles, N-metil-4-izoleucino-cikloporino, nitratų ir citrulino papildus, didelio judrumo dėžutės 1 grupės baltymų moduliaciją, šviežiai užšaldytos plazmos vartojimą, kurkumino analogus, T ląstelių sekvestratorių FTY720, glutationo-S-transferazės inhibitorių etakrininę rūgštį, pikrozido II vartojimą, SA-10 įkrautos nanodalelės, vandenyje tirpios anglies monoksido atpalaiduojančios molekulės (CORM-3), gydymą iloprostu ir kita. Šios intervencijos parodė teigiamą poveikį mažinant pažeidimus, gerinant mitochondrijų funkciją, mažinant oksidacinį stresą ir uždegimą, skatinant angiogenezę ir išsaugant raumenų kontraktiškumą. Taip pat tokie instrumentiniai tyrimai kaip dinaminio kontrasto sustiprintas magnetinio rezonanso tyrimas, 3-karbamoil PROXYL sustiprinta magnetinio rezonanso tomografija, spalvota skaitmeninė subtrakcinė angiografija, kompiuterinės tomografijos perfuzijos vaizdavimas (CTPI), fotoakustinis vaizdavimas, MRT, 3 įkrovimų prijungtas įrenginys, infraraudonieji spinduliai rodė teigiamų rezultatų išemijos-reperfuzijos pažeidimo kiekiui stebėti.

**Išvados:** Galima teigti, kad, nepaisant ribotų tyrimų ir sunkumų apibendrinant rezultatus, tyrimuose pastebėti nuo laiko priklausantys histobiologiniai pokyčiai ir galimi farmakologiniai išemijos-reperfuzijos pažeidimo gydymo būdai. Reikia atlikti tolesnius tyrimus, kad būtų galima nustatyti ryšį tarp laiko intervalų, histobiologinių pokyčių ir gyvūnų tyrimų rezultatų pritaikymo žmonėms.

**Raktiniai žodžiai:** ūminė; išemija; reperfuzija; histologija; pažeidimas

## SUMMARY

**Aim of the study:** To analyse and summarise the existing scientific data on the relationship between time to restoration of blood flow and histological changes in striated muscles in neglected acute limb ischaemia.

**Methods.** A literature review was performed using the Pubmed database. 39 articles were included based on inclusion and exclusion criteria.

**Discussion:** Over the past decade, significant progress has been made in understanding the mechanisms and interventions associated with ischaemia-reperfusion (I/R) injury in skeletal muscle. In vivo studies show time-dependent changes during the ischaemia-reperfusion phase, such as an increase in inflammatory markers, a decrease in microcirculation, rhabdomyolysis, and nerve fibre damage and others. In vivo and in vitro studies have investigated a wide range of pharmacological interventions to mitigate the I/R injury. Some promising strategies include mitochondrial transplantation, naftidrofuryl and cilostazol administration, dual-sensitivity injectable hydrogel, dexamethasone treatment, chronic intermittent hypobaric hypoxia, oxytocin administration, lycopene supplementation, extracellular vesicles, N-methyl-4-isoleucine-cycloporin, nitrate and citrulline supplementation, high mobility box group 1 protein modulation, fresh-frozen plasma administration, curcumin analogues, T-cell sequesteror FTY720, glutathione-S-transferase inhibitor ethacrynic acid, picoside II administration, SA-10 charged nanoparticles, water-soluble carbon monoxide releasing molecules (CORM-3), treatment with iloprost, etc. These interventions have shown beneficial effects in reducing lesions, improving mitochondrial function, reducing oxidative stress and inflammation, promoting angiogenesis, and preserving muscle contractility. In addition, instrumental studies such as dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging, 3-carbamoyl PROXYL-enhanced magnetic resonance imaging, colour digital subtraction angiography, computed tomography perfusion imaging (CTPI), photoacoustic imaging, MRI, 3-charge coupled device, and infrared imaging have shown positive results for ischaemia-reperfusion lesion volume monitoring.

**Conclusions:** In conclusion, despite the limitations of the studies and the difficulties in summarising the results, the studies showed time-dependent histobiological changes and potential pharmacological treatments for ischaemia-reperfusion injury. Further studies are needed to establish the relationship between time intervals, histobiological changes and the applicability of animal studies to humans.

**Keywords:** acute; ischaemia; reperfusion; histology; damage

## SANTRUMPOS

n – tiriamųjų skaičius

min. – minutės

val. – valandos

d. – dienos

sav. – savaitės

mėn. – mėnesiai

m. – metai

MRT – magnetinio rezonanso tomografija

VEGF-vascular endothelial growth factor/ kraujagyslių endotelio augimo faktorius

CK - kreatinkinazė

ATP – adenzin 5' trifosfatas (C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>N<sub>5</sub>O<sub>13</sub>P<sub>3</sub>)

BAT – bendra antioksidacinė talpa

BOK – bendras oksidantų kiekis

OSI – oksidacinio streso indeksas

EPPs – nervus stimuliuojami galinių plokštelių potencialai

SIRT1 – tyliosios informacijos regulatoriaus 1 baltymų raiška

TLR4 – Toll-like receptorius 4

I/R – išemijos/reperfuzijos pažeidimas

CIHH – lėtinė periodinis hipobarinė hipoksija

RDR – reaktyviosios deguonies rūšys

MDA – malondialdehidai

SOD – superoksido dismutazė

IMA – išemijos modifikuotas albuminas

GSH-Px – glutationo peroksidazė

NMJ – neuroraumeninė jungtis

LDH – pieno rūgšties dehidrogenazė

K<sup>+</sup> – kalis

MAP – vidutinis arterinis spaudimas

TAT III – antitrombinas III

FAK – židininės adhezijos kinazė

GSH – Redukuotas glutationas

GST – glutationo S-transferazės

TOS – bendra oksidacinė būklė

TAS – bendra antioksidacinė būklė

MDSCs – iš raumenų gautos kamieninės ląstelės

ALT – alanino aminotransferazė

AST – aspartato aminotransferazė/aminotransferazė

TUNEL- terminalinės deoksiribonukleotidiltransferazės tarpininkaujamas dUTP žymuo

## IVADAS

Negrižtami galūnės audinių pokyčiai prasideda po pirmųjų 6-8 val. nuo arterinės kraujotakos nutrūkimo, tačiau faktiškai ūminė galūnės išemija (ŪGI) vadinama pirmąsias 14 dienų. ŪGI 20 kartų dažniau pasireiškia kojose nei rankose.

Tai labai pavojinga būklė, kuri gali kelti pavojų galūnei ir paciento gyvybei ir kurios vienerių metų mirtingumo ir galūnės amputacijos rodikliai svyruoja atitinkamai 16–42 % ir 11–37 %. Penkerių metų mirštamumas siekia 33–83 %. Šia liga kasmet susergera 15–26 asmenų 100 000 gyventojų Jungtinėse Amerikos Valstijose (JAV), apie 12,2 asmenų 100 000 gyventojų Jungtinėje Karalystėje (JK). ŪGI sergantys vyresni pacientai dažnai turi daugybę gretutinių ligų ir ribotą fiziologinį rezervą. Šios būklės rizikos veiksniai ir blogesnės išeities prognostiniai veiksniai yra vyresnis amžius, moteriška lytis, diabetas, prieširdžių virpėjimas, onkologiniai susirgimai, inkstų nepakankamumas (1–3).

Ūminė galūnės išemija gali įvykti dėl kelių priežasčių. Ne aterosklerozinė periferinė embolija sudaro 10–42,2 % ūminės galūnės išemijos atvejų ir gali ištikti visų amžiaus grupių asmenis (2,4). Vyresniems nei 65 metų amžiaus asmenims iki 85 proc. ūminė galūnės arterijos okliuzija įvyksta kaip arterijos trombozė iš anksto pažeistose aterosklerozės vietose (4). Kitos galimos apatinių galūnių ūminės išemijos priežastys gali būti kraujagyslinio protezo ar autovenos šunto trombozė, trauma, venų obstrukcija ir kita (2,5). Taip pat svarbu atskirti ūminę ir lėtinę kritinę galūnės išemiją.

Galūnės kraujotakos atkūrimas yra labai svarbus pirmasis žingsnis gydant ŪGI. Vis dėlto ūminės išemijos pažeistų audinių atsigavimo procesas yra ilgas. Atkūrus kraujotaką, audiniuose įvyksta daug sudėtingų biocheminių, morfologinių pokyčių, kurie galiausiai nulemia pažeistos galūnės likimą. Sėkmingas kraujotakos atkūrimas lemia išeminio audinio reperfuziją, kuri savo ruožtu gali sukelti daugybę procesų, įskaitant oksidacinį stresą, uždegimą ir audinių remodeliaciją. Kai kurie įvykiai gali lemti visišką audinių atsistatymą, o kiti - negrižtamą pažeidimą ir audinių praradimą. Rezultatus lemia ne tik sąlygos, bet veikia tų sąlygų stiprumas ir aktyvumas. Veiksniai, lemiantys, ar audiniai atsigaus, ar ne, yra sudėtingi ir daugiafaktoriniai, įskaitant išemijos trukmę ir sunkumą, gretutines ligas ir reperfuzijos veiksmingumą. Šių veiksnių ir pagrindinių mechanizmų, lemiančių audinių atsistatymą ar pažeidimą, supratimas yra labai svarbus siekiant užkirsti kelią amputacijoms ir pagerinti pacientų, sergančių ūmine išemija, gyvenimo kokybę (4).

Mano darbo tikslas – išanalizuoti ir apibendrinti jau esančius mokslinius duomenis apie laiką iki kraujotakos atkūrimo ir histologinių pokyčių skersaruožiuose raumenyse ryšį, esant užleistai ūminei galūnių išemijai. Mano manymu, tai galėtų padėti ieškant poveikio išemijos ir reperfuzijos metu vykstantiems procesams audiniuose.

## 1. DARBO METODIKA

Tai kokybinis tyrimas – nesisteminė literatūros apžvalga. Norėdamas ištirti ryšį tarp laiko iki galūnės kraujotakos atkūrimo ir histologinių pokyčių skersaruožuosiuose raumenyse esant ūminei išemijai, nustatyti veiksnius, kurie turi įtakos audinių atsistatymui po kraujotakos atkūrimo, nustatyti reperfuzijos poveikį audinių pažeidimui ir atsistatymui, įvertinti intervencijų, kuriomis siekiama išsaugoti audinių gyvybingumą, pagrįstumą ir veiksmingumą, pateikti išsamią dabartinės literatūros apžvalgą užleistos ūminės galūnių išemijos ir jos poveikio raumenų histologijai bei atsigavimui tema bei pateikti gaires tolimesniems tyrimams atlikau straipsnių paiešką kompiuterinėje bibliografinėje medicininėje duomenų bazėje „PubMed“ (MEDLINE).

Paieškos raktiniai žodžiai buvo atrinkti naudojantis PICO (populiacija, intervencijos, lyginamieji, rezultatai) paieškos strategija (1 lentelė). Paieška atlikta naudojant šių raktinių žodžių kombinacijas anglų kalba: „acute limb ischemia“ ar „acute extremity ischemia“ ir „histological muscle changes“, „muscle damage“ ar „striated muscle injury“. Straipsnių įtraukimo į literatūros apžvalgą kriterijai buvo: straipsniai apie ūminę galūnės išemiją, straipsnyje nurodyta, kokie histologiniai, biocheminiai ar fiziologiniai pokyčiai vyksta raumenyse, moksliniai straipsniai publikuoti nuo 2013 m. iki 2023 m., moksliniai straipsniai lietuvių ar anglų kalbomis, tyrimai atlikti bet kurioje pasaulio šalyje, tyrimai bet kurioje amžiaus grupėje, bet kurios lyties ir bet kurių gretutinių ligų pacientams, sergantiems ūmine galūnių išemija.

Iš 274 straipsnių 39 straipsniai atitiko įtraukimo kriterijus ir buvo naudojami literatūros apžalgai. 235 buvo atmesti, nes neatitiko įtraukimo kriterijų (straipsniai ne anglų ar lietuvių kalbomis, moksliniai straipsniai publikuoti iki 2013 m., tyrimai buvo sutelkti į kitų tipų išemiją ar kitas kūno vietas ar kitas sąlygas, kurios gali turėti įtakos histologiniams pokyčiams, išskyrus kraujotakos atstatymą būdą ar taikytą gydymo būdą, studijos yra pasikartojančios publikacijos).

**1 lentelė. PICO terminai**

Populiacija	Intervencija	Lyginamieji	Rezultatai
Acute limb ischemia			Histological muscle changes
Acute extremity ischemia			Muscle damage
			Striated muscle injury

## 2. PATOFIZIOLOGIJA

### Išemijos reperfuzijos poveikis audiniams ir organizmo būklei

Staigus galūnės kraujotakos nutrūkimas sąlygoja staigų deguonies trūkumą audiniuose, metabolitų kaupimąsi, reaktyvių deguonies formų (ROS) gamybą, uždegimą ir audinių edemą. Tai gali sukelti įvairaus laipsnio žalą, dėl kurios gali būti prarasti galūnės audiniai ir funkcijos (6).

Išemiją galima suskirstyti į skirtingus etapus, leidžiančius aiškiau suprasti susijusius molekulinis procesus. Ūminė hipoksija, atsirandanti dėl energijos trūkumo aerobinio kvėpavimo metu, kelia grėsmę gyvybei. Išeminėmis sąlygomis įvyksta tam tikri ląstelių pokyčiai, pavyzdžiui, ksantino dehidrogenazės pavertimas ksantino oksidaze, kuri gamina labai oksiduojančias medžiagas, tokias kaip superoksido anijonas ir vandenilio peroksidas (7,8). Tai padidina membranos pralaidumą ir dar labiau pažeidžia endotelį. Didelės energijos ląstelės, pvz., neuronai, tampa pažeidžiamos ir patiria negrįžtamą žalą, todėl jaučiamas stiprus skausmas ir prarandamas lengvo prisilietimo pojūtis (9,10). Pažeidus ląstelės membraną, sutrinka ir elektrolitų pusiausvyra bei tarpląstelinis pH. Defektinės mitochondrijų pralaidumo pereinamosios poros (mPTP) gali prisidėti prie ląstelių mirties, nes pažeidžia medžiagų apykaitos homeostazę ir aktyvuoja fosfolipazes, nukleazes ir proteazes. mPTP vaidmuo apima užprogramuotą ląstelių mirtį, sukuriant koloidinį osmosinį slėgį ir to pasekoje įvyksta skysčių antplūdis (11). Jie yra atsakingi už ląstelių mirtį, nes sukelia vandenilio jonų gradiento išsklaidymą, dėl kurio sumažėja ATP gamyba oksidacinio fosforilavimo būdu, kyla pavojus medžiagų apykaitos homeostazei ir skatinama ląstelių mirtis (12). Patinimą tam tikru mastu galima kompensuoti, tačiau per didelis slėgis gali sukelti mitochondrijų plyšimą, išlaisvindamas komponentus, kurie pagreitina apoptozę. ATP trūkumas inicijuoja ląstelių apoptozę, nes išsiskiria citokinai ir susidaro apoptosoma, kuri aktyvuoja kaspazę-3. Šį procesą dar labiau paspartina baltymų, tokių kaip apoptozės proteazės aktyvuojančio faktoriaus 1, prokaspazės-9. ir mitochondrijų faktorių išsiskyrimas.(12–14).

Išemijos ir reperfuzijos (I/R) proceso metu uždegiminės ląstelės išskiria citokinus, tokius kaip IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  ir tromboksanas B2. Šiame procese vyksta leukocitų adhezija ir migracija iš endotelio į pagrindinį audinį, ypač venules. Sisteminis uždegimas gali būti sustiprintas naudojant klasikinius, alternatyvius ir lektino kelius. Šie keliai apima komplemento aktyvavimą ir nusėdimą, todėl susidaro membranos atakos kompleksas, kuris perforuoja ląstelių membranas. Makrofagai ir neutrofilai išskiria uždegimo mediatorius. I/R metu susidarančios reaktyviosios deguonies rūšys (RDR) pažeidžia ląstelių membranas ir suaktyvina neutrofilus, toliau skatindamos uždegimą. (15,16). Neutrofilai išskiria skirtingas granules, kuriose yra fermentų, kurie prisideda prie



komplemento kaskados aktyvacijos ir pablogina uždegiminį atsaką (17,18). Leukocitų aktyvacija ankstyvos reperfuzijos metu padidina reaktyviųjų deguonies rūšių kiekį. Vietinės putliosios ląstelės ir makrofagai taip pat prisideda prie uždegiminio atsako. Kraujagyslių tonuso reguliavimo sutrikimas atsiranda dėl pusiausvyros tarp reaktyviųjų deguonies rūšių ir fiziologinių medžiagų, tokių kaip azoto oksidas (NO). Dėl to susiaurėja kraujagyslės ir sumažėja audinių aprūpinimas deguonimi. Neutrofilai taip pat išskiria baltymus iš sekrecinių pūslelių, kurios uždegiminio atsako metu gali pažeisti aplinkines ląsteles (19–21).

Vykstant prieš tai apibūdintiems procesams I/R metu gali pasireikšti galūnės raumenų skausmas, raumenų nekrozė, raumenų edema. Taip pat I/R metu pažeistoje galūnėje į kraują išsiskiria metabolitų, todėl į uždegimą įtraukiami ir tiesiogiai išemijos nepažeisti organai, pavyzdžiui, plaučiai ir inkstai. Ši sisteminė reakcija gali sukelti komplikacijas šiuose ne išeminiuose organuose, sustiprindama uždegimą ir paveikdama jų fiziologines funkcijas. Pavyzdžiui, reperfuzija suaktyvina uždegimines ląsteles, todėl išsiskiria priešuždegiminiai citokinai ir chemokinai. Tai gali sukelti imuninių ląstelių, tokių kaip neutrofilai ir makrofagai, įdarbinimą ir aktyvavimą inkstuose, kepenyse, plaučiuose. Visa tai gali aktyvuoti ląstelių mirties kelius, įskaitant apoptozę ir nekrozę, paveiktame organe. Šie procesai gali sukelti funkcinių ląstelių praradimą ir prisidėti prie audinių pažeidimo bei organų disfunkcijos (22).

### 3. DISKUSIJA

#### 3.1 I/R palyginimo tyrimai in vitro ir jų interpretavimas per pastaruosius 10 metų

Hipoksijos ir reoksigenacijos (HR) modelis naudojamas išemijai ir reperfuzijai imituoti in vitro. Mitochondrijų disfunkcija yra lemiamas I/R pažeidimo patogenezės veiksnys ląsteliniu lygmeniu (23). Mitochondrijos atlieka esminį vaidmenį adenozintrifosfato (ATP) gamyboje, RDR susidaryme, detoksikacijoje, metabolitų sintezėje, katabolizme ir apoptozės reguliavime (23). Skeleto raumenų ATP, pagrindinis oksidacinio fosforilinimo būdu gaunamos energijos šaltinis, hipoksijos metu yra išsekvojamas. Skirtingi žinduolių skeleto raumenų skaidulų tipai hipoksiją toleruoja nevienodai. I tipo (raudonos spalvos, lėtai trūkčiojančios) raumenų skaidulos, esančios priekinėje kojos dalyje, yra jautresnės hipoksijai nei II tipo (baltos spalvos, greitai trūkčiojančios) skaidulos, esančios dvilypiame raumenyje (24). Be to, HR gali pakeisti mitochondrijų dinamiką į mitochondrijų dalijimąsi, o tai lemia ląstelių apoptozę (25). Raumenų kamieninių ląstelių in vitro modelis parodė, kad ląstelių apoptozė padidėjo po 5 valandų hipoksijos (26). Hipoksinėmis sąlygomis ksantino dehidrogenazė (D forma) transformuojasi į ksantino oksidazę (O forma), todėl padidėja RDR gamyba

(27). Per didelis RDR kiekis sukelia ląstelinį oksidacinį stresą, dėl kurio vyksta baltymų karboksilinimas, lipidų peroksidacija ir DNR pažeidimai. Taip pat, ATP išsekimas skatina Bax, Bad ir Bcl2 baltymų translokaciją į mitochondrijų membraną, todėl mitochondrijos išsipučia ir skyla (28). Be to, hipoksijos metu padidėjęs viduląstelinis  $Ca^{2+}$  kiekis gali pakeisti mitochondrijų pralaidumo perėjimo poras (mPTP) iš pereinamosios į nuolatinę atsidarymo būseną. Atsivėrus mPTP, RDR ir citochromo c nutekėjimas į ląstelių matricą ir  $Ca^{2+}$  patekimas sukelia mitochondrijų išsipūtimą ir membranos plyšimą, kuris sukelia ląstelių apoptozę (29).

Keletas eksperimentų buvo atlikta naudojant apatinės galūnės I/R modelį in vivo (2 lentelė). Šis modelis rodo dvi I/R pažeidimo fazes: išemijos fazę ir reperfuzijos fazę. Išeminė fazė yra pirmoji sužalojimo dalis, kai mikrocirkuliaciją uždaro trombocitai postkapiliarinėse venulėse, todėl gyvūnams, kurių kolateralinė kraujotaka yra maža, atsiranda vietinis poveikis, pavyzdžiui, skeleto raumenų nekrozė (30). Šioje fazėje raumenų edema nepasireiškė, bet sistemiškai buvo keliuose tyrimuose stebimi pakitimai (sumažėjo SOD, padidėjo LDH, CK, MDA, AST, ALT, LDH, CK, IL-13) ir taip pat minimalūs kraujospūdžio pokyčiai (31–34), be to, buvo rasta, kad I tipo raumens skaidulos buvo labiau pažeistos, lyginant su IIb tipo skaidulomis ir šis pažeidimas tapo reikšmingas po 6 valandų išemijos (35). Taip pat raumens išemijos MRT T2 sekoje relaksacijos laiko vidurkis buvo gerokai ilgesnis 7 val. po išemijos lyginant su neišeminiu audiniu. Palyginti su neišemine puse, išeminės pusės frakcinės anizotropijos (FA) reikšmė praėjus 3 val. po išemijos buvo reikšmingai mažesnė ir laikui bėgant tiesiškai mažėjo. Tai rodo, kad raumenų skaidulos buvo pažeistos išemijos metu, reikšminga žala pasireiškė po 6 valandų, o MRT analizė atskleidė ilgesnį atsipalaidavimo laiką ir sumažėjusias frakcines anizotropijos vertes išeminiame raumeniniame audinyje, lyginant su neišeminiu audiniu vėlesniais laiko momentais (36).

Antroji fazė, reperfuzijos fazė, sukelia daugiau žalos nei išemijos fazė. Jos metu, nepaisant sėkmingos revaskuliarizacijos, sumažėja raumenų perfuzija, smarkiai padidėja raumenų nekrozė, edema ir susitraukimo disfunkcija (31). Nustatyta, kad lokaliai reperfuzija pasižymi dideliu ATP sumažėjimu (37–41), bet tyrimą pakartojus po 28 d. nuo išemijos sukėlimo stebėta, kad reikšmingų ATP kiekio pakitimų nebuvo (38). Tiriant nervinę struktūrą pastebėta, kad sumažėjo inervacijos į nAChR klasterius, bet reikšmingai nepakito nAChR klasterių struktūra ir fragmentų skaičius viename nAChR klasteryje, taip pat buvo stebima sumažėję nervus stimuliuojančių galinių plokštelių potencialai (EPPs) (42,43). Taip iš histologinių pakitimų stebėta padidėjusi atrofija, padidėjęs perivaskulinių uždegiminių ląstelių skaičius, padidėjusi židininė centrinė raumenų nekrozė, ženkliai pakito periferinė branduolių vieta, padidėjo mononuklearinių ląstelių infiltracija, sumažėjo raumens skaidulų gyvybingumas (44–46).

### 3.2 Laiko iki kraujotakos atkūrimo ir histologinių pokyčių ryšys

Nors literatūroje duomenų apie laiko ir histologinių pokyčių ryšį nerasta, tačiau iš lentelėje (2 lentelė) pateiktos informacijos galime matyti, kad išemijos fazės metu praėjus 30 min. sistemiškai stebima padidėjusi AST, ALT, LDH, CK, IL-13 koncentracija, lyginant su grupe, kuriai netaikyta išemija. Po 2 val. lokaliai buvo stebima, kad I tipo skaidulos buvo labiau pažeistos, palyginti su IIb tipo skaidulomis, ir šis pažeidimas tapo reikšmingas po 6 valandų išemijos, lyginant su grupe, kuriai netaikyta išemija. Toliau tarp 6 - 24 val. buvo matoma padidėjusi LDH, CK, MDA koncentracija, sumažėjęs SOD.

Reperfuzijos fazėje po 2 val. lokaliai buvo stebima padidėję MDA, TOS, TAS, TUNEL teigiamos ląstelės, mononuklearinių ląstelių infiltracija, sumažėję GSH-Px, SOD, CAT, buvo stebima atrofija, padidėjęs perivaskulinių uždegiminių ląstelių skaičius, žymi židininė centrinė raumenų nekrozė, pakito periferinė branduolių vieta. Sistemiškai po 2 val. buvo stebima padidėję MDA, TNF- $\alpha$ , IL-6,  $\alpha$ -GST, IMA, sumažėję GSH, SOD. Po 4 val. buvo stebima lokaliai sumažėję BOK (raumenyse), raumens skaidulų gyvybingumas, mikrocirkuliacija. Sistemiškai po 4 val. buvo stebimi padidėję LDH, CK, K<sup>+</sup>, TNF-a, IL-6, OSI, sumažėję MAP, BAT, BOK (širdyje, smegenyse ir serume). Po 24 val. lokaliai buvo stebima padidėjusi histopatologinė raumenų destrukcija, CD68+ makrofagai, apoptozės indeksas, Cleaved Caspase-3, TLR4, NF $\kappa$ B p65, RDR, TNF- $\alpha$ , TLR4, NF- $\kappa$ B, IL-1 $\beta$ , nukleazės aktyvumas, MPO, TUNEL teigiamos ląstelės, FAK. Sistemiškai po 24 val. buvo stebima padidėjęs TNF $\alpha$ , sumažėjęs ATP kiekis, inervacija į nAChR klasterius, IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , raumenų susitraukimo galia, tarpas tarp maksimalaus įtempimo ir maksimalaus atsipalaidavimo, SIRT1/PGC-1 $\alpha$ , SIRT1, motorinio nervo užimtumas NMJ, EPPs (taikant klubinės arterijos perrišimą), EPPs išnykimas (taikant turniketo sukeltą išemiją).

2 lentelė. Skeleto raumenų išemijos/reperfuzijos pažeidimas: in vivo tyrimų duomenys apie histologija ir biochemija tarp sham ir I/R grupių

Studijos modelis	Studijos protokolas		Pagrindiniai radiniai				Nuoroda
	Išemija	Reperfu zija	Išemijos fazė		Reperfuzijos fazė		
			Lokaliai	Sistemiš kai	Lokaliai	Sistemiškai	
Pelės	4 val.	0.5 val., 2 val., 24 val.	↔Raumenų histopatologija	↔ Plazmos CK	↑ Histopatologinė raumenų destrukcija	↑ Plazmos CK (po 2 val)	(31)
	2 val.	24 val.			↓↓ ATP kiekis	↔ Svoris	(37)
	6 val.	4 val.			↓↓ BOK (raumenyse)	↓↓ BAT ↓↓ BOK (širdyje, smegenyse ir serume.) ↔ BOK (inkstai ir kepenys) ↑ OSI	(47)
	1 val. 50 min.	1 d., 28 d.,			↓↓ ATP kiekis	↔ ATP kiekis (po 28 d.)	(38)
	3 val.	24 val.			↓ Inervacijos į nAChR klasterius ↔nAChR klasterių struktūra ↔Fragmentų skaičius viename nAChR klasteryje ↓ EPPs ↑ IL-1β ↑ TNFα		(42)
	3 val.	24 val.			↓↓ Raumenų susitraukimo galia ↓↓Tarpas tarp maksimalaus įtempimo ir maksimalaus atsipalaidavimo ↑↑ Histopatologinė raumenų destrukcija ↑↑ CD68+ makrofagai ↑↑ Apoptozės indeksas ↑↑ Cleaved Caspase-3 ↓↓ SIRT1 ↑↑ TLR4 ↑↑ NFκB p65	↑↑ TNFα	(48)
	3 val.	48 val.			↑ RDR ↓ ATP		(39)
	3 val.	24 val.			↑ TNF-α ↓ ATP ↓ Gastrocnemius raumens kontraktiškumas ↑ TLR4 ↑ NF-κB ↓ SIRT1/PGC-1α		(40)
	2 val.	2 val.			↔ GSH-Px ↑↑ MDA ↓↓ SOD ↑↑ 1 laipsnio atrofija	↑↑ MDA ↓↓ SOD ↑↑ IMA	(44)

				↑↑ Perivaskulinių uždegiminių ląstelių skaičius ↑ Židininė centrinė raumenų nekrozė ↑ Pakito periferinė branduolių vieta		
3 val.	24 val.			↔ Inervacija į nAChR klasterius (taikant klubinės arterijos perišimą) ↓ Inervacija į nAChR klasterius (taikant turniketo sukeltą išėmimą)  ↓ Motorinio nervo užimtumas NMJ ↔ nAChR klasterių struktūra ↔ Fragmentų skaičius viename nAChR klasteryje ↓ EPPs (taikant klubinės arterijos perišimą) ↓ EPPs išnykimas (taikant turniketo sukeltą išėmimą) ↑ IL-1β ↑ TNFα		(43)
3 val.	4 val.			↓↓ Raumens skaidulų gyvybingumas ↓↓ Mikrocirkuliacija	↑↑ LDH ↑↑ CK ↑ K+ ↓ MAP ↑ TNF-a ↑ IL-6	(45)
1.5 val.	24 val.			↓↓ ATP kiekis ↑↑ TAT III ↑↑ Nukleazės aktyvumo		(41)
4 val.	24 val., 72 val.			↑↑ Greitojo tipo gastrocnemius skaidulose rabdomiolizė pasireiškė jau praėjus 24 valandoms po IR Šis rezultatas išliko ir praėjus 72 valandoms po IR. ↑Priešingai, lėtojo tipo soleus raumenyse nebuvo rabdomiolizės 24 val. po reperfuzijos, bet tik po 72 val. Tačiau apoptozė buvo padidėjusi soleus raumenyse po 24 valandų IR ↑↑ FAK (po 24val.)		(49)
1 val.	2 val.				↑↑ MDA ↓↓ GSH ↓↓ SOD ↑↑ TNF-α ↑↑ IL-6 ↑↑ α-GST	(50)
2 arba 3 val.	0 val., 24val.			↑ MPO ↑ TUNEL teigiami ląstelės		(51)
2 val.	2 val.			↑ TOS ↑ TAS ↑↑ TUNEL teigiami ląstelės ↑↑ Mononuklearinių ląstelių infiltracija		(52)
4val.,	2 val.	↑ I tipo skaidulos buvo labiau pažeistos, palyginti su IIb tipo skaidulomis, ir šis		↑↑ Gyvybingumas buvo reikšmingai mažesnis 8 val. I/R grupėje, palyginti su 8 val. išėmijos grupe, abiejų vertinamų skaidulų tipų ir		(35)

	6val., 8val., 9val.		pažeidimas tapo reikšmingas po 6 valandų išemijos.		bendro skaidulų gyvybingumo. Taip pat gyvybingumas po 9 valandų išemijos ir 2 valandų reperfuzijos reikšmingai sumažėjo visais matavimais, palyginti su 9 valandų išemijos grupe		
	2	2			↑↑ MDA ↓ GSH-Px ↓ SOD ↓ CAT	↑↑ CK ↑ LDH	(46)
Kiškiai	3 val.	0 val., 6 val., 12 val., 24 val.		↑ LDH ↑ CK ↑ MDA ↓ SOD		↑ LDH ↑ CK ↑ MDA ↓ SOD	(32)
	3 val.	0 val., 6 val., 12 val., 24 val.		↓ SOD ↑ LDH ↑ CK ↑ MDA			(33)
	7 val.	0 val.	↑ Raumens išemijos T2 sekoje relaksacijos laiko vidurkis buvo gerokai ilgesnis nei ne išeminio 7 val. po išemijos ↓↓ Palyginti su neišemine puse, išeminės pusės FA reikšmė praėjus 3 val. po išemijos buvo reikšmingai mažesnė ir laikui bėgant tiesiškai mažėjo.				(36)
Kiaulės	3,5 val. turniketas, 3,5 val. okliuzija 4,7 val. turniketas 4,7 val. okliuzija	30 min.		↑ AST ↑↑ ALT ↑ LDH ↑ CK ↑ IL-13			(34)

Santrumpos: ↑, padidėjimas (P < 0,05); ↑↑, padidėjimas (P < 0,01); ↓, sumažėjimas (P < 0,05); ↓↓, sumažėjimas (P < 0,01); ↔, nėra reikšmingo poveikio (P < 0,05).

CK, kreatinkinazė; ATP, Adenozin 5' trifosfatas (C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>N<sub>5</sub>O<sub>13</sub>P<sub>3</sub>); BAT, Bendra antioksidacinė talpa; BOK, Bendras oksidantų kiekis; OSI, Oksidacinio streso indeksas; EPPs, Nervus stimuliuojami galinių plokštelių potencialai; Cleaved Caspase-3, Apoptozės žymuo; SIRT1, tyliosios informacijos reguliatoriaus 1 baltymų raiška; TLR4, Toll-like receptorių 4; I/R, išemijos/reperfuzijos pažeidimas; CIHH, lėtinė periodinė hipobarinė hipoksija; ROS, Reaktyviosios deguonies formos; MDA, Malondialdehidai; SOD, Superoksido dismutazė; IMA, Išemijos modifikuotas albuminas; GSH-Px, lutationo peroksidazė; NMJ, neurorauumeninė jungtis; R/L, Didžiausia kontrasto padidėjimo vertė nuoseklyje dešinėsios ir kairiosios apatinių galūnių dominančioje srityje; LDH, Pieno rūgšties dehidrogenazė; K<sup>+</sup>, Kalis; MAP, Vidutinis arterinis spaudimas; TAT III, Antitrombinas III; FAK, židininės adhezijos kinazė; V, vyrai; M, moterys; GSH, Redukuotas glutationas; GST, Glutationo S-transferazės; TOS, Bendra oksidacinė būklė; TAS, Bendra antioksidacinė būklė; MDSCs, iš raumenų gautos kamieninės ląstelės; ALT, alanino aminotransferazė; AST, aspartato aminotransferazė

;

### 3.3 Intervencijų įgyvendinamumas ir veiksmingumas

#### 3.3.1 Farmakologinis gydymas in vivo ir in vitro tyrimuose per pastaruosius 10 metų

Intervencijų įgyvendinamumas ir veiksmingumas yra labai svarbūs veiksniai gydant užleistą ŪGI. Farmakologinės intervencijos davė daug žadančių rezultatų gydant įvairių formų skeleto raumenų audinio I/R. Daugelyje tyrimų buvo nagrinėjamos įvairios strategijos, skirtos sumažinti I/R sukeltą žalą ir pagerinti raumenų gyvybingumą bei funkciją. Medžiagų sąrašas ir veiksmingumas pateiktas lentelėje (3 lentelė). Čia pateikiama kiekvieno eksperimento metu naudotų farmakologinių medžiagų santrauka:

- **Mitochondrijų transplantacija (MT):** tyrime buvo nagrinėjamas MT veiksmingumas, taikant pelių ŪGI modelį. Išemija buvo sukelta uždėjus pelių kairės apatinės galūnės turniketą, po to atlikta reperfuzija. Mitochondrijos buvo leidžiamos švirkštu į apatinių galūnių raumenis. Analizei pasirinkti raumenys buvo dvilypis, vidinis platusis ir plekšninis dėl jų dydžio ir įvairių skaidulų tipų. Remiantis ankstesniais kiaulių širdžių tyrimais, tyrėjai naudojo  $1 \times 10^6$  mitochondrijų koncentraciją viename grame raumens svorio. Tyrimo rezultatai atskleidė, kad MT gerokai sumažino infarkto dydį ir apoptozę skeleto raumenyse, palyginti su kontroline grupe. Be to, MT grupėje žymiai pagerėjo apatinių galūnių funkcija. Šie rezultatai rodo, kad MT gali būti veiksminga terapinė ALI sukkelto skeleto raumenų pažeidimo gydymo strategija (37).
- **Naftidrofurilas ir cilostazolis:** eksperimentiniame tyrime buvo tiriamas dviejų vaistų - naftidrofurilo ir cilostazolio - poveikis I/R pažeidimui. Tyrimo rezultatai parodė, kad abu vaistai turėjo apsauginį poveikį nuo I/R sukkelto periferinių organų pažeidimo. Jie veiksmingai sumažino bendrą oksidantų kiekį ir oksidacinio streso indeksą: cilostazolis turėjo reikšmingą poveikį širdžiai, o naftidrofurilas - kepenims. Šios išvados rodo, kad abu vaistai gali apsaugoti nuo I/R pažeidimo netiesiogiai išemijos pažeistuose audiniuose (47).
- **Injekcinis dvigubo jautrumo pH ir temperatūrai hidrogelis:** tyrime mokslininkai sukūrė injekcinį hidrogelį, skirtą reaguoti į skirtingas ŪGI fazes. Hidrogelis buvo suleidžiamas adata į išeminį dvilypį raumenį. Hidrogelio sudėtyje buvo melatonino ir nanodalelių su dialilo trisulfido priedu ir jis pasižymėjo gebėjimu sumažinti RDR ūminėje fazėje ir skatinti angiogenezę lėtinėje fazėje (53).
- **Deksametazonas:** buvo tiriamas deksametazono, vaidmuo turniketo sukkelto ūmaus I/R pažeidimo metu. Gydymas deksametazonu reikšmingai sumažino skeleto raumenų pažeidimą, slopindamas uždegiminių citokininų raišką. Vis dėlto jis nepagerino nervų ir raumenų jungties morfologijos ir funkcijos. Šie rezultatai rodo, kad nors deksametazono poveikis nervų ir raumenų

jungčiai yra ribotas, jis gali susilpninti skeleto raumenų struktūrinius ir funkcinis sutrikimus, kuriuos sukelia ūmus I/R sužalojimas (42).

- **Lėtinė periodinė hipobarinė hipoksija (LPHH):** buvo tiriama kaip apsauginė priemonė nuo skeleto raumenų I/R pažeidimo. Taikant pelių modelį, išankstinis gydymas LPHH žymiai pagerino I/R pažeistų skeleto raumenų susitraukimo funkciją ir morfologinius rodiklius. Jis taip pat sumažino makrofagų infiltraciją, TNF $\alpha$  kiekį ir apoptozę, o tai rodo jo apsauginį poveikį nuo ūminio I/R pažeidimo, slopinant uždegimą ir apoptozę (48).
- **Oksitocinas (Oxy):** Oxy poveikis buvo tiriamas pelių ūminiam I/R sužalojimui, sukeltam turniketo. Gydymas Oxy sumažino skeleto raumenų pažeidimą, slopino uždegiminį atsaką ir išsaugojo mitochondrijų funkciją (40).
- **Likopenas:** tiriamas apsauginis likopeno, stipraus antioksidanto, esančio daržovėse ir vaisiuose, poveikis nuo I/R pažeidimo žiurkių apatinių galūnių raumenų modelyje. Žiurkės 15 dienų prieš eksperimentą peroraliai gavo likopeno. Rezultatai parodė, kad likopenas sumažino oksidacinį stresą ir uždegiminius pokyčius po I/R sužalojimo (44).
- **Ekstraląstelinės vezikulės (EV):** buvo tiriamas proangiogeninis pajėgumas ir jų galimas terapinis poveikis pelių ūminės apatinių galūnių išemijos modelyje. EV pagerino kraujagyslių remodeliaciją, užkirto kelią raumenų pažeidimams ir suaktyvino specifinius signalinius kelius, susijusius su angiogeneze. Tyrimas rodo, kad iš serumo gaunamos EV gali būti naudojamos gydymo tikslais (54).
- **N-metil-4-izoleucino-ciklosporinas (NIM-811):** rezultatai parodė, kad NIM-811 sumažino histopatologinius pokyčius, tokius kaip ląstelių nekrozę, ir išliko beveik nepakitusi ląstelių morfologija. Taip pat sumažino nekroenzimų ir kalio kiekį kraujo serume, pagerino raumenų mitochondrijų gyvybingumą ir inkstų funkcijos parametrus. Tyrimas rodo, kad NIM-811 potencialiai galėtų sumažinti rbdmiolizę ir inkstų funkcijos sutrikimą po I/R traumos (45).
- **Nitratas ir citrulinas:** tyrime nagrinėtas šių preparatų vartojimo poveikis sveikų asmenų poišeminei kraujagyslių reakcijai. Tyrimas rodo, kad nitratai ir citrulinas, kurie yra azoto oksido (NO) pirmtakai, gali reikšmingai padidinti sveikų žmonių apatinių galūnių kraujagyslių reaktyvumą po išemijos. Tai reiškia, kad nitratų ir citrulino papildai gali pagerinti kraujo tekėjimą ir kraujagyslių išsiplėtimą raumenyse, kurie patyrė trumpą išemiją, o tai gali padėti atstatyti raumenų funkciją (55).
- **Didelio judrumo box grupės baltymas 1 (HMGB1):** rezultatai parodė, kad HMGB1 skatina kraujagyslių struktūros persitvarkymą, uždegimą ir lygiųjų raumenų ląstelių fenotipo pasikeitimą. HMGB1 blokavimas pagerino kraujagyslių homeostazę ir kraujotaką išeminėje galūnėje (56).



- **Šviežiai šaldyta plazma (ŠŠP):** Šiame tyrime buvo tiriamas poveikis žiurkių skeleto raumenų I/R pažeidimo modeliui. ŠŠP sumažino raumenų audinių edemą, palyginti su Ringerio tirpalu, todėl galimai sumažėjo galūnių kompartmento sindromo rizika (57).
- **Kurkumino analogai:** jie pasižymi priešuždegiminėmis, antioksidacinėmis ir trombolitinėmis savybėmis. Šių analogų terapinis veiksmingumas buvo įrodytas įvairiuose modeliuose, įskaitant išemijos ir reperfuzijos modelį. Analogai pasižymėjo apsauginiu poveikiu palaikant optimalią mitochondrijų funkciją (58).
- **T ląstelių sekvestravimo agentas FTY720:** tyrime buvo nagrinėjamas jo veiksmingumas mažinant sisteminį uždegimą ir daugybinius organų pažeidimus žiurkių skeleto raumenų I/R sukulto apatinių galūnės turniketo modelio metu. Vartojant FTY720, sumažėjo T ląstelių kiekis periferiniame kraujyje, sumažėjo sisteminis uždegiminis atsakas, kreatinino kiekis serume ir su sužalojimu susijusių genų transkripcija keliuose organuose. Tai leidžia manyti, kad ankstyva FTY720 injekcija gali būti naudinga gydant galūnių išemijos ir reperfuzijos pažeidimą (59).
- **Glutatio-S-transferazės inhibitoriaus etakrininė rūgštis:** tyrime buvo tiriamas poveikis žiurkių apatinių galūnių I/R pažeidimui. Slopinant glutatio-S-transferazę, padidėjo I/R žala, padidėjo oksidacinio streso parametrai ir uždegiminis atsakas, suaktyvėjo proapoptoziniai signaliniai baltymai, todėl susilpnėjo apsauginis poveikis nuo žalingo poveikio audiniams I/R metu (50).
- **Pikrozidas II:** tyrime daugiausia dėmesio skirta poveikiui žiurkių skeleto raumenims, patyrusiems imituojamą I/R pažeidimą. Pikrozido II vartojimas sumažino bendrą oksidantų kiekį, padidino bendrą antioksidantų koncentraciją ir sumažino ląstelių nekrozę, o tai rodo apsauginį poveikį nuo I/R pažeidimo skeleto raumenyse (52).
- **Hibridinės molekulės, turinčios azoto oksidą donuojančių ir reaktyviasias deguonies formas šalinančių savybių (SA-10):** su SA-10 pakrautos nanodalelės pasižymėjo citoprotekciniu poveikiu ir pagerino kraujo perfuziją bei fizinę ištvėmę žiurkių apatinių galūnių išemijos modeliuose, o tai rodo, kad jos gali būti alternatyva gydant ūminę ir lėtinę galūnių išemiją (60).
- **Vandenyje tirpios anglies monoksidą atpalaiduojančios molekulės (CORM-3):** sisteminis CORM-3 vartojimas sumažino skeleto raumenų perfuzijos deficitą, audinių pažeidimą ir uždegiminį suaktyvėjimą, o tai rodo jo apsauginį ir priešuždegiminį poveikį eksperimentiniame apatinių galūnės I/R modelyje (61).
- **Iloprostas (IL):** Taikant ūminės apatinių galūnių I/R žiurkių modelį, nustatyta, kad gydymas iloprostu pagerina skeleto raumenų kontraktiliškumą ir sumažina mitochondrijų degeneraciją. Ypač veiksmingas jis buvo po 2 valandų išemijos ir 4 valandų reperfuzijos, pagerinant raumenų

funkciją. Tyrimas rodo, kad IL gali atstatyti raumenų pažeidimus ir pagerinti susitraukimo funkciją esant ūminiam apatinių galūnių I/R pažeidimui (62).

- **Montelukastas, leukotrienų D-4 receptorių antagonistas:** buvo tiriamas apsauginis poveikis nuo skeleto raumenų reperfuzijos pažeidimo žiurkių ūminio I/R pažeidimo modelyje. Tyrimas parodė, kad montelukastas sumažino oksidacinį stresą, sumažindamas malondialdehido kiekį ir padidindamas superoksido dismutazės kiekį. Histopatologinė analizė parodė, kad montelukastu gydytoje grupėje sumažėjo edema, polimorfonuklearinė infiltracija ir eritrocitų ekstravazacija (63).
- **Toll tipo receptorių-4 (TLR4):** nustatyta, kad TLR4 atlieka svarbų vaidmenį apatinių galūnių I/R pažeidimui. TLR4 slopinimas lėmė mažesnę NETs kiekį ir mažesnę raumenų skaidulų pažeidimą. Tyrimas pabrėžia TLR4 kaip terapinio taikinio potencialą siekiant sušvelninti su I/R pažeidimu susijusias komplikacijas (64).
- **Kobalto protoporfirinas (CoPP):** CoPP yra farmakologinis citoprotekcinės hemooksigenazės-1 (HO-1) induktorius. Raumenų kamieninėse ląstelėse (MDSC) CoPP padidino HO-1 ekspresiją ir aktyvumą. CoPP apsaugojo MDSC nuo ląstelių žūties I/R metu. Taikant pelių apatinių galūnių I/R pažeidimo modelį, CoPP sumažino skeleto raumenų pažeidimus, kai buvo skiriamas išemijos metu arba reperfuzijos pradžioje (65).
- **Naringinas:** tiriamas antioksidacinis poveikis žiurkių skeleto raumenų I/R sukeltiems pažeidimams. Naringinu apdorotos grupės gyvūnai patyrė mažiau oksidacinės pažeidimos ir uždegimo, palyginti su negydyta grupe. Naringinas apsaugojo nuo išeminės raumenų degeneracijos ir uždegimo (46).
- **miR-210:** miR-210 yra mikro RNR, susijusi su atsaku į hipoksiją. Taikant pelių apatinių galūnių išemijos modelį, miR-210 slopinimas padidino audinių pažeidimus, apoptozę ir nekrozę. Slopinant miR-210 sumažėjo kapiliarų tankis ir galūnių perfuzija. Genų raiškos analizė atskleidė mitochondrijų funkcijos sutrikimus. Nustatyta, kad miR-210 pasižymi citoprotekcinio poveikiu, reguliuoja oksidacinį metabolizmą ir oksidacinį stresą išeminiame skeleto raumenyje (66).

Taip pat kai kurie tyrimai neparodė teigiamo rezultato:

- **Egzogeninė DNazė I:** tyrime tiriamas gydymo poveikis skeleto raumenų pažeidimui po ūminio apatinių galūnių I/R sužalojimo pelėms. Rezultatai parodė, kad gydymas DNazės I preparatu sumažino ekstraląstelių gaudyklių susidarymą poišeminiame raumenyje, tačiau reikšmingai nepakeitė raumenų skaidulų pažeidimo ar uždegimą skatinančių molekulių kiekio. Tyrimas rodo, kad gydymas DNazės I preparatu gali neapsaugoti nuo I/R sužalojimo (41).

Daugumoje šioje srityje atliktų farmakologinių tyrimų buvo naudojami gyvūnų modeliai. Nors gyvūnų modeliai suteikia vertingų įžvalgų, gyvūnų ir žmogaus fiziologija iš esmės skiriasi, todėl sunku tiesiogiai ekstrapoliuoti tyrimų su gyvūnais rezultatus žmogaus audiniams.

### 3.3.2 Vaizdavimo tyrimų taikymas in vivo tyrimuose per pastaruosius 10 metų

Vertinant veiksmingumą ir galimybę įgyvendinti intervencijas ŪGI atveju, labai svarbu atlikti vaizdinius tyrimus. Jie teikia reikšmingą informaciją apie skeleto raumenų audinio I/R ir padeda įvertinti gydymo strategijų efektyvumą. Dažnai naudojamos įvairios vaizdinių tyrimų metodikos, kurios leidžia įvertinti I/R sukeltą žalą, pagerinti raumenų audinio būklę ir funkcionalumą bei stebėti gydymo rezultatus. Instrumentinių tyrimų sąrašas pateiktas lentelėje (3 lentelė). Šioje dalyje pateikiama naujausios galimos instrumentinių tyrimų taikymo metodikos:

- **Dinaminio kontrasto sustiprintas magnetinio rezonanso tyrimas (DCE)** naudotas siekiant įvertinti skeleto raumenų mikrovaskulinę disfunkciją I/R sužalojimo žiurkėms atveju. MRT metodas atskleidė sutrikusią vazomoduliaciją ir ilgalaikį funkcinį raumenų mikrovaskulaturės sutrikimą mažiausiai 21 dieną po sužalojimo. Tai galėtų leisti stebėti raumenų gyvybingumą po išemijos (67).
- **3-karbamoil PROXYL sustiprinta magnetinio rezonanso tomografija (3-CP sustiprinta MRT)** naudota su tikslu įvertinti oksidacinį stresą I/R žiurkių modeliuose. Rezultatai parodė, kad I/R raumenyse buvo sukeltas oksidacinis stresas, o edaravono vartojimas sumažino oksidacinį stresą. 3-CP sustiprintos MRT tyrimas teikia vilčių veiksmingai įvertinti oksidacinį stresą ir gali palengvinti ankstyvą išemijos-reperfuzijos pažeidimo diagnostiką (31).
- **Spalvota skaitmeninė subtrakcinė angiografija (DSA)** buvo nagrinėjama kaip galima priemonė įvertinti I/R triušiams, patyrusiems apatinės kojos išemiją. Spalvota DSA buvo naudojama skeleto raumenų I/R pažeidimui stebėti ir koreliavo su pažeidimo rodikliais kraujyje. Tai parodo, kad DSA gali būti naudojamas skeleto raumenų I/R pažeidimo dinamikai stebėti (32).
- **Kompiuterinės tomografijos perfuzijos vaizdavimas (CTPI) ir spalvota DSA** buvo naudojami vertinant ūminį skeleto raumenų I/R pažeidimą triušio modelyje. Didėjant reperfuzijos laikui, CTPI ir spalvotosios DSA parametrai linijiniu būdu mažėjo, o tai rodė koreliaciją su pažeidimo mastu. Tiek CTPI, tiek spalvota DSA galėjo dinamiškai įvertinti triušių skeleto raumenų I/R pažeidimą (33).
- **Fotoakustinis vaizdavimas (PAI)** buvo naudojamas, kad kiekybiškai būtų galima nustatyti išeminių raumenų mikrocirkuliacinį pažeidimą žiurkių modelyje. PAI su molekulinio zonu parodė reikšmingą signalo sustiprėjimą sužalotuose raumenyse, palyginti su kontroline grupe, o tai rodo mikrocirkuliacijos pažeidimo laipsnį. PAI vaizdinimas yra perspektyvus būdas kiekybiškai nustatyti galūnių raumenų išeminių pažeidimą (51).

- **MRT** šiame tyrime panaudotas siekiant apibūdinti su rabdomiolize susijusius skeleto raumenų pokyčius triušiams. MRT duomenys, įskaitant T2 svertinius vaizdus, T2 žemėlapius ir difuzijos tenzorių skenavimą, koreliavo su histopatologiniais pokyčiais, o tai rodo, kad MRT gali būti vertingas diagnozuojant rabdomiolizę (36).
- **3 įkrovimų prijungtas įrenginys (3CCD), infraraudonieji spinduliai.** Neinvazinės vaizdavimo technologijos tiksliai stebėjo galūnių perfuziją ir oksigenaciją, todėl buvo galima prognozuoti, kaip atsistatys judesiai po operacijos. Tiek 3CCD, tiek infraraudonųjų spindulių vaizdai yra vertingi vertinant audinių perfuziją ir oksigenaciją, be to, juos galima lengvai įdiegti į nešiojamuosius prietaisus, skirtus įvairioms klinikinėms sąlygoms (34).

Kaip ir prieš tai aptartuose farmakologiniuose tyrimuose, instrumentinių tyrimų taikymo srityje buvo naudojami gyvūnų modeliai, kurie parodė veiksmingų taikymo būdų kiekybiškai ir kokybiškai įvertinti I/R, tačiau visuose nurodoma, kad reikalingi tolimesni tyrimai su žmonėmis.

**3 lentelė. Medžiagos ir instrumentiniai tyrimai.**

Veiksmingos farmakologinės medžiagos	Neveiksmingos farmakologinės medžiagos	Veiksmingi instrumentiniai tyrimai
Mitochondrijų transplantacija Naftidrofurilas ir cilostazolis Injekcinis dvigubo jautrumo pH ir temperatūrai hidrogelis Deksametazonas Lėtinė periodinė hipobarinė hipoksija (LPHH) Oksitocinas Likopenas Ekstraląstelių vezikulių NIM-811 Nitratas ir citrulinas HMGB1 baltymas Šviežiai šaldyta plazma Kurkumino analogai T ląstelių sekvestravimo agentas FTY720	Egzogeninė DNazė I	Dinaminio kontrasto sustiprintas magnetinio rezonanso tyrimas 3-CP sustiprinta MRT Spalvota DSA CTPI ir spalvota DSA PAI MRT diagnozuojant rabdomiolizę 3CCD ir infraraudonieji spinduliai

Glutathiono-S-transferazės inhibitoriaus etakrininė rūgštis didina pažeidimą Pikrozidas II SA-10 CORM-3 Iloprostas Montelukastas Toll tipo receptorių-4 inhibitorius Kobalto protoporfirinas Naringinas miR-210		
---	--	--

## IŠVADOS

Nors galūnių audinių išemijos – reperfuzijos pažeidimas išlieka svarbi problema, tačiau tyrimų šioje srityje trūksta. Ribotas tyrimų su žmonėmis prieinamumas ir pasikliovimas gyvūnų modeliais kelia iššūkių ekstrapoliuojant pastarųjų išvadas žmonėms. Tačiau tyrimuose galime stebėti nuo laiko priklausančius histobiologinius pokyčius, tokius kaip mitochondrijų žūtį, uždegiminių rodiklių didėjimą, mikrocirkuliacijos sumažėjimą, rbdmiolizę, nervinių skaidulų pažeidimą, RDR padidėjimą. Be to, per pastarąjį dešimtmetį buvo rasta daugybė galimų farmakologinių gydymo būdų, kurie leidžia sumažinti reperfuzijos pažeidimą, bei tyrimų, kuriais galima identifikuoti esamus pažeidimus. Norint rasti perspektyvių tyrimų, kurie galėtų turėti teigiamos klinikinės reikšmės žmonėms, reikalingos detalesnės studijos, kurios įvertintų išemijos ir reperfuzijos laiko intervalų santykį su konkrečiais histobiologiniais pokyčiais bei tirtų detalesnį farmakologinių preparatų ir instrumentinių tyrimų, parodžiusių teigiamų rezultatų su gyvūnais, pritaikymą žmonėms.

## LITERATŪROS ŠALTINIAI

1. Gilliland C, Shah J, Martin JG, Miller MJ. Acute Limb Ischemia. *Tech Vasc Interv Radiol*. 2017 m. gruodžio;20(4):274–80.
2. Kulezic A, Acosta S. Epidemiology and Prognostic Factors in Acute Lower Limb Ischaemia: A Population Based Study. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2022 m. vasario 1 d.;63(2):296–303.
3. Genovese EA, Chaer RA, Taha AG, Marone LK, Avgerinos E, Makaroun MS, ir kt. Risk Factors for Long-Term Mortality and Amputation after Open and Endovascular Treatment of Acute Limb Ischemia. *Ann Vasc Surg*. 2016 m. sausio;30:82–92.
4. Simon F, Oberhuber A, Floros N, Busch A, Wagenhäuser MU, Schelzig H, ir kt. Acute Limb Ischemia—Much More Than Just a Lack of Oxygen. *Int J Mol Sci*. 2018 m. sausio 26 d.;19(2):374.
5. McNally MM, Univers J. Acute Limb Ischemia. *Surg Clin North Am*. 2018 m. spalio;98(5):1081–96.
6. Schaper W. Collateral circulation: past and present. *Basic Res Cardiol*. 2009 m. sausio;104(1):5–21.
7. Gelman S. The pathophysiology of aortic cross-clamping and unclamping. *Anesthesiology*. 1995 m. balandžio;82(4):1026–60.
8. Klebanoff SJ. Myeloperoxidase: friend and foe. *J Leukoc Biol*. 2005 m. gegužės;77(5):598–625.
9. Ozmen S, Ayhan S, Demir Y, Siemionow M, Atabay K. Impact of gradual blood flow increase on ischaemia-reperfusion injury in the rat cremaster microcirculation model. *J Plast Reconstr Aesthetic Surg JPRAS*. 2008 m. rugpjūčio;61(8):939–48.
10. Loffredo L, Carnevale R, Cangemi R, Angelico F, Augelletti T, Di Santo S, ir kt. NOX2 up-regulation is associated with artery dysfunction in patients with peripheral artery disease. *Int J Cardiol*. 2013 m. balandžio 30 d.;165(1):184–92.
11. Leung AWC, Halestrap AP. Recent progress in elucidating the molecular mechanism of the mitochondrial permeability transition pore. *Biochim Biophys Acta*. 2008 m.;1777(7–8):946–52.
12. Halestrap AP. Calcium, mitochondria and reperfusion injury: a pore way to die. *Biochem Soc Trans*. 2006 m. balandžio;34(Pt 2):232–7.
13. Zamzami N, Kroemer G. Apoptosis: mitochondrial membrane permeabilization--the (w)hole story? *Curr Biol CB*. 2003 m. sausio 21 d.;13(2):R71-73.
14. Galluzzi L, Morselli E, Kepp O, Kroemer G. Targeting post-mitochondrial effectors of apoptosis for neuroprotection. *Biochim Biophys Acta*. 2009 m. gegužės;1787(5):402–13.

15. Witthaut R, Farhood A, Smith CW, Jaeschke H. Complement and tumor necrosis factor-alpha contribute to Mac-1 (CD11b/CD18) up-regulation and systemic neutrophil activation during endotoxemia in vivo. *J Leukoc Biol.* 1994 m. sausio;55(1):105–11.
16. Toyokuni S. Reactive oxygen species-induced molecular damage and its application in pathology. *Pathol Int.* 1999 m. vasario;49(2):91–102.
17. Oseas R, Yang HH, Baehner RL, Boxer LA. Lactoferrin: a promoter of polymorphonuclear leukocyte adhesiveness. *Blood.* 1981 m. gegužės;57(5):939–45.
18. Kjeldsen L, Sengeløv H, Lollike K, Nielsen MH, Borregaard N. Isolation and characterization of gelatinase granules from human neutrophils. *Blood.* 1994 m. kovo 15 d.;83(6):1640–9.
19. Vouldoukis I, Conti M, Krauss P, Kamaté C, Blazquez S, Tefit M, ir kt. Supplementation with gliadin-combined plant superoxide dismutase extract promotes antioxidant defences and protects against oxidative stress. *Phytother Res PTR.* 2004 m. gruodžio;18(12):957–62.
20. Carden DL, Granger DN. Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury. *J Pathol.* 2000 m. vasario;190(3):255–66.
21. Casey DP, Joyner MJ. Local control of skeletal muscle blood flow during exercise: influence of available oxygen. *J Appl Physiol Bethesda Md* 1985. 2011 m. gruodžio;111(6):1527–38.
22. Carden D, Xiao F, Moak C, Willis BH, Robinson-Jackson S, Alexander S. Neutrophil elastase promotes lung microvascular injury and proteolysis of endothelial cadherins. *Am J Physiol.* 1998 m. rugpjūčio;275(2):H385-392.
23. Lejay A, Meyer A, Schlagowski AI, Charles AL, Singh F, Bouitbir J, ir kt. Mitochondria: mitochondrial participation in ischemia-reperfusion injury in skeletal muscle. *Int J Biochem Cell Biol.* 2014 m. gegužės;50:101–5.
24. Lindsay TF, Liauw S, Romaschin AD, Walker PM. The effect of ischemia/reperfusion on adenine nucleotide metabolism and xanthine oxidase production in skeletal muscle. *J Vasc Surg.* 1990 m. liepos;12(1):8–15.
25. Youle RJ, van der Bliek AM. Mitochondrial fission, fusion, and stress. *Science.* 2012 m. rugpjūčio 31 d.;337(6098):1062–5.
26. Wilson HMP, Welikson RE, Luo J, Kean TJ, Cao B, Dennis JE, ir kt. Cytoprotective Cobalt Protoporphyrin Protect Skeletal Muscle and Muscle-derived Stem Cells From Ischemic Injury? *Clin Orthop.* 2015 m. rugsėjo;473(9):2908–19.
27. Chambers DE, Parks DA, Patterson G, Roy R, McCord JM, Yoshida S, ir kt. Xanthine oxidase as a source of free radical damage in myocardial ischemia. *J Mol Cell Cardiol.* 1985 m. vasario;17(2):145–52.
28. Gao X, Bi Y, Chi K, Liu Y, Yuan T, Li X, ir kt. Glycine-nitronyl nitroxide conjugate protects human umbilical vein endothelial cells against hypoxia/reoxygenation injury via

- multiple mechanisms and ameliorates hind limb ischemia/reperfusion injury in rats. *Biochem Biophys Res Commun*. 2017 m. birželio 17 d.;488(1):239–46.
29. McCully JD, Wakiyama H, Hsieh YJ, Jones M, Levitsky S. Differential contribution of necrosis and apoptosis in myocardial ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2004 m. gegužės;286(5):H1923-1935.
  30. Petrasek PF, Walker PM. A clinically relevant small-animal model of skeletal muscle ischemia-reperfusion injury. *J Investig Surg Off J Acad Surg Res*. 1994 m.;7(1):27–38.
  31. Kuroda Y, Togashi H, Uchida T, Haga K, Yamashita A, Sadahiro M. Oxidative stress evaluation of skeletal muscle in ischemia-reperfusion injury using enhanced magnetic resonance imaging. *Sci Rep*. 2020 m. liepos 2 d.;10(1):10863.
  32. Zhang Y, Li C, Zhang H, Li W, Li J, Wang X. Color-coded Digital Subtraction Angiography for Assessing Acute Skeletal Muscle Ischemia-Reperfusion Injury in a Rabbit Model. *Acad Radiol*. 2018 m. gruodžio;25(12):1609–16.
  33. Li C, Liu X, You H, Zhang H, Liu Y, Zhang Y. Perfusion imaging with 320-slice spiral computed tomography and color-coded digital subtraction angiography for assessing acute skeletal muscle ischemia-reperfusion injury in a rabbit model. *BMC Med Imaging*. 2019 m. rugpjūčio 28 d.;19(1):75.
  34. Radowsky JS, Caruso JD, Luthra R, Bradley MJ, Elster EA, Forsberg JA, ir kt. Noninvasive Multimodal Imaging to Predict Recovery of Locomotion after Extended Limb Ischemia. *PLoS One*. 2015 m.;10(9):e0137430.
  35. Turóczi Z, Arányi P, Lukáts Á, Garbaisz D, Lotz G, Harsányi L, ir kt. Muscle fiber viability, a novel method for the fast detection of ischemic muscle injury in rats. *PLoS One*. 2014 m.;9(1):e84783.
  36. Zhang H, Wang X, Guan M, Li C, Luo L. Skeletal muscle evaluation by MRI in a rabbit model of acute ischaemia. *Br J Radiol*. 2013 m. birželio;86(1026):20120042.
  37. Orfany A, Arriola CG, Doulamis IP, Guariento A, Ramirez-Barbieri G, Moskowitzova K, ir kt. Mitochondrial transplantation ameliorates acute limb ischemia. *J Vasc Surg*. 2020 m. kovo;71(3):1014–26.
  38. Albadawi H, Oklu R, Cormier NR, O’Keefe RM, Heaton JT, Kobler JB, ir kt. Hind limb ischemia-reperfusion injury in diet-induced obese mice. *J Surg Res*. 2014 m. rugpjūčio;190(2):683–91.
  39. Frisby DM, Tu H, Qian J, Zhang D, Barksdale AN, Wadman MC, ir kt. Hyperbaric oxygen therapy does not alleviate tourniquet-induced acute ischemia-reperfusion injury in mouse skeletal muscles. *Injury*. 2022 m. vasario;53(2):368–75.
  40. Guo YX, Wang GY, Cheng WJ, Yan CZ, Zhao S, Li Z, ir kt. Activation of Opioid Receptors Attenuates Ischemia/Reperfusion Injury in Skeletal Muscle Induced by Tourniquet Placement. *Mediators Inflamm*. 2021 m.;2021:6699499.



41. Albadawi H, Oklu R, Raacke Malley RE, O'Keefe RM, Uong TP, Cormier NR, ir kt. Effect of DNase I treatment and neutrophil depletion on acute limb ischemia-reperfusion injury in mice. *J Vasc Surg*. 2016 m. rugpjūčio;64(2):484–93.
42. Corrick RM, Tu H, Zhang D, Barksdale AN, Muelleman RL, Wadman MC, ir kt. Dexamethasone Protects Against Tourniquet-Induced Acute Ischemia-Reperfusion Injury in Mouse Hindlimb. *Front Physiol*. 2018 m.;9:244.
43. Tu H, Zhang D, Qian J, Barksdale AN, Pipinos II, Patel KP, ir kt. A comparison of acute mouse hindlimb injuries between tourniquet- and femoral artery ligation-induced ischemia-reperfusion. *Injury*. 2021 m. lapkričio;52(11):3217–26.
44. Kirişçi M, Güneri B, Seyithanoğlu M, Kazancı Ü, Doğaner A, Güneş H. The protective effects of lycopene on ischemia/reperfusion injury in rat hind limb muscle model. *Ulus Travma Ve Acil Cerrahi Derg Turk J Trauma Emerg Surg TJTES*. 2020 m. gegužės;26(3):351–60.
45. Garbaisz D, Turoczi Z, Aranyi P, Fulop A, Rosero O, Hermes E, ir kt. Attenuation of skeletal muscle and renal injury to the lower limb following ischemia-reperfusion using mPTP inhibitor NIM-811. *PLoS One*. 2014 m.;9(6):e101067.
46. Gürsul C, Ekinçi Akdemir FN, Akkoyun T, Can İ, Gül M, Gülçin İ. Protective effect of Naringin on experimental hindlimb ischemia/reperfusion injury in rats. *J Enzyme Inhib Med Chem*. 2016 m.;31(sup1):56–61.
47. Gülaştı ÖF, Yavuz Ş, Arıkan AA, Eraldemir FC, Özbudak E, Şahin D, ir kt. Comparison of Cilostazol and Naftidrofuryl in an Experimental Acute Ischemia-Reperfusion Model. *Vasc Endovascular Surg*. 2021 m. sausio;55(1):11–7.
48. Cheng WJ, Liu X, Zhang L, Guo XQ, Wang FW, Zhang Y, ir kt. Chronic intermittent hypobaric hypoxia attenuates skeletal muscle ischemia-reperfusion injury in mice. *Life Sci*. 2019 m. rugpjūčio 15 d.;231:116533.
49. Flück M, von Allmen RS, Ferrié C, Tevaearai H, Dick F. Protective effect of focal adhesion kinase against skeletal muscle reperfusion injury after acute limb ischemia. *Eur J Vasc Endovasc Surg Off J Eur Soc Vasc Surg*. 2015 m. kovo;49(3):306–13.
50. Nagy T, Kovács V, Hardi P, Veres TG, Takács I, Jancsó G, ir kt. Inhibition of Glutathione S-Transferase by Ethacrynic Acid Augments Ischemia-Reperfusion Damage and Apoptosis and Attenuates the Positive Effect of Ischemic Postconditioning in a Bilateral Acute Hindlimb Ischemia Rat Model. *J Vasc Res*. 2015 m.;52(1):53–61.
51. Chen L, Ma H, Liu H, Shou K, Zheng X, Fan Q, ir kt. Quantitative photoacoustic imaging for early detection of muscle ischemia injury. *Am J Transl Res*. 2017 m.;9(5):2255–65.
52. Kılıç Y, Özer A, Tatar T, Zor MH, Kirişçi M, Kartal H, ir kt. Effect of picoside II on hind limb ischemia reperfusion injury in rats. *Drug Des Devel Ther*. 2017 m.;11:1917–25.
53. Zhang T, Ouyang H, Liu S, Xiong L, Zhong Z, Wang Q, ir kt. pH/Thermosensitive dual-responsive hydrogel based sequential delivery for site-specific acute limb ischemia treatment. *J Mater Chem B*. 2022 m. spalio 5 d.;10(38):7836–46.

54. Cavallari C, Ranghino A, Tapparo M, Cedrino M, Figliolini F, Grange C, ir kt. Serum-derived extracellular vesicles (EVs) impact on vascular remodeling and prevent muscle damage in acute hind limb ischemia. *Sci Rep*. 2017 m. rugpjūčio 15 d.;7(1):8180.
55. Le Roux-Mallouf T, Vibert F, Doutreleau S, Verges S. Effect of acute nitrate and citrulline supplementation on muscle microvascular response to ischemia-reperfusion in healthy humans. *Appl Physiol Nutr Metab Physiol Appl Nutr Metab*. 2017 m. rugsėjo;42(9):901–8.
56. Liu Y, Zhou C, Jiang J, Su Q, Ding X. Blockade of HMGB1 preserves vascular homeostasis and improves blood perfusion in rats of acute limb ischemia/reperfusion. *Microvasc Res*. 2017 m. liepos;112:37–40.
57. Kendrick CL, Edens JW, Christy RJ, Dubick MA, Wade CE, Holcomb JB, ir kt. Fresh frozen plasma reduces edema in skeletal muscle following combined limb ischemia-reperfusion injury and hemorrhagic shock in rats. *J Trauma Acute Care Surg*. 2015 m. spalio;79(4 Suppl 2):S110-115.
58. Bi W, Bi Y, Gao X, Yan X, Zhang Y, Harris J, ir kt. Pharmacological protection of mitochondrial function mitigates acute limb ischemia/reperfusion injury. *Bioorg Med Chem Lett*. 2016 m. rugpjūčio 15 d.;26(16):4042–51.
59. Foster AD, Vicente D, Sexton JJ, Johnston L, Clark N, Leonhardt C, ir kt. Administration of FTY720 during Tourniquet-Induced Limb Ischemia Reperfusion Injury Attenuates Systemic Inflammation. *Mediators Inflamm*. 2017 m.;2017:4594035.
60. Hinkle L, Le D, Nguyen T, Tran V, Amankwa CE, Weston C, ir kt. Nano encapsulated novel compound SA-10 with therapeutic activity in both acute and chronic murine hindlimb ischemia models. *Nanomedicine Nanotechnol Biol Med*. 2021 m. liepos;35:102400.
61. Bihari A, Cepinskas G, Forbes TL, Potter RF, Lawendy AR. Systemic application of carbon monoxide-releasing molecule 3 protects skeletal muscle from ischemia-reperfusion injury. *J Vasc Surg*. 2017 m. gruodžio;66(6):1864–71.
62. Bagis Z, Ozeren M, Buyukakilli B, Balli E, Yaman S, Yetkin D, ir kt. Effect of iloprost on contractile impairment and mitochondrial degeneration in ischemia-reperfusion of skeletal muscle. *Physiol Int*. 2018 m. kovo 1 d.;105(1):61–75.
63. Bilgiç Mİ, Altun G, Çakıcı H, Gideroğlu K, Saka G. The protective effect of Montelukast against skeletal muscle ischemia reperfusion injury: An experimental rat model. *Ulus Travma Ve Acil Cerrahi Derg Turk J Trauma Emerg Surg TJTES*. 2018 m. gegužės;24(3):185–90.
64. Oklu R, Albadawi H, Jones JE, Yoo HJ, Watkins MT. Reduced hind limb ischemia-reperfusion injury in Toll-like receptor-4 mutant mice is associated with decreased neutrophil extracellular traps. *J Vasc Surg*. 2013 m. gruodžio;58(6):1627–36.
65. Wilson HMP, Welikson RE, Luo J, Kean TJ, Cao B, Dennis JE, ir kt. Can Cytoprotective Cobalt Protoporphyrin Protect Skeletal Muscle and Muscle-derived Stem Cells From Ischemic Injury? *Clin Orthop*. 2015 m. rugsėjo;473(9):2908–19.

66. Zaccagnini G, Maimone B, Di Stefano V, Fasanaro P, Greco S, Perfetti A, ir kt. Hypoxia-induced miR-210 modulates tissue response to acute peripheral ischemia. *Antioxid Redox Signal*. 2014 m. rugsėjo 10 d.;21(8):1177–88.
67. Ganesh T, Zakher E, Estrada M, Cheng HLM. Assessment of microvascular dysfunction in acute limb ischemia-reperfusion injury. *J Magn Reson Imaging JMRI*. 2019 m. balandžio;49(4):1174–85.