

Udaljeno ishemijsko prekondicioniranje kao metoda zaštite srčanog mišića od ishemije

Barić, Davor

Doctoral thesis / Disertacija

2015

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:009480>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-22**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

MEDICINSKI FAKULTET

Davor Barić

**Udaljeno ishemijsko
prekondicioniranje kao metoda zaštite
srčanog mišića od ishemije**

DISERTACIJA



Zagreb, 2015.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

MEDICINSKI FAKULTET

Davor Barić

**Udaljeno ishemijsko
prekondicioniranje kao metoda zaštite
srčanog mišića od ishemije**

DISERTACIJA

Zagreb, 2015.

Disertacija je izrađena u Zavodu za kardijalnu i transplantacijsku kirurgiju i Klinici za anesteziologiju, reanimatologiju i intenzivno liječenje Kliničke bolnice Dubrava.

Voditelj rada: prof. dr. sc. Željko Sutlić, dr.med.

Zahvaljujem se svojoj obitelji na podršci i strpljenju.

Zahvaljujem se svim kolegama koji su skupa sa mnom sudjelovali u izradi ovog rada, posebice kardijalnim anesteziolozima i perfuzionistima Kliničke bolnice Dubrava

Zahvaljujem se i svom mentoru prof.dr.sc Željku Sutliću za podršku i savjete u cjelokupnom postupku nastanka ove disertacije.

SAŽETAK

Pozadina: Udaljeno ishemijsko prekondicioniranje (RIPC) jest postupak u kojem jedna ili više kratkotrajnih epizoda ishemije i naknadne reperfuzije organa ili tkiva udaljenog od srca povećavaju otpornost srčanog mišića na oštećenje tijekom narednog produženog ishemijskog događaja. Niz do sada objavljenih kliničkih istraživanja nije dao jednoznačan dokaz o efikasnosti RIPC u zaštiti srčanog mišića tijekom operacija na srcu.

Metode: U ovom randomiziranom, kontroliranom, dvostruko slijepom istraživanju, 47 odraslih bolesnika predviđenih za elektivnu kiruršku zamjenu aortnog zaliska nasumično je uključeno u skupinu udaljenog ishemijskog prekondicioniranja (23 bolesnika) ili u kontrolnu skupinu (24 bolesnika). RIPC je proveden nakon indukcije u anesteziju i prije početka kirurškog dijela operacije primjenom 3 ciklusa ishemije nedominantne ruke postignute napuhavanjem manšete tlakomjera na 200 mmHg u trajanju od 5 minuta s 5 minuta reperfuzije kod koje je manšeta bila ispuhana. U istraživanju su tijekom i nakon operacije praćeni pokazatelji ishemijsko-reperfuzijske ozljede, hemodinamski pokazatelji, pokazatelji sustavnog upalnog odgovora te klinički ishod.

Rezultati: Udaljeno ishemijsko prekondicioniranje nije dovelo do smanjenog lučenja troponina I mjenog 1h, 6h, 24h, 48h i 72h nakon operacije. Medijan ukupne količine troponina I tijekom 72h u skupini RIPC iznosio je 141,6 µg/L (127,3; 189,1), a u kontrolnoj skupini 156,65 µg/L (106,3; 228,9). Navedeno smanjenje u RIPC skupini od 9.6% nije statistički značajno ($p=0,976$). Značajne razlike između promatranih skupina nisu uočene niti po pitanju drugih pokazatelja ishemijsko-reperfuzijske ozljede, pokazatelja sustavnog upalnog odgovora, hemodinamskih pokazatelja i kliničkog ishoda.

Zaključak: Udaljeno ishemijsko prekondicioniranje primijenjeno tijekom kirurške zamjene aortnog zaliska ne djeluje zaštitno na srčani mišić. Negativni rezultat ovog istraživanja najvjerojatnije je posljedica primjene propofola u održavanju anestezije tijekom zahvata i u skladu je s nedavno publiciranim istraživanjima koja proučavaju utjecaj raznih vrsta anestezije na učinak udaljenog ishemijskog prekondicioniranja u kardijalnoj kirurgiji.

SAŽETAK NA ENGLESKOM JEZIKU

Background: Remote ischemic preconditioning (RIPC) is an intervention in which one or several brief episodes of ischemia of one tissue or organ remote from heart protects myocardium from a sustained episode of ischemia. A series of published studies failed to indisputably show benefits of RIPC during cardiac surgery.

Methods: 47 adult patients undergoing elective surgical aortic valve replacement were randomly assigned to either a RIPC group (n=23) or to a control group (n=24). Remote ischemic preconditioning, after induction of anesthesia, consisted of three 5-min cycles of non-dominant upper limb ischemia, induced by an automated cuff-inflator placed on the upper arm and inflated to 200 mmHg, with an intervening 5 min of reperfusion during which the cuff was deflated. Ischemic-reperfusion injury was assessed by measurement of biochemical markers of myocardial injury. Hemodynamic measurements, markers of systemic inflammatory response and clinical outcome were documented.

Results: Remote ischemic preconditioning did not significantly reduce overall serum troponin-I release at 1, 6, 24, 48 and 72 h after surgery. The total area under the curve was reduced by 9.6% ($p=0,976$), from 156,65 $\mu\text{g/L}$ (106,3; 228,9) in the control group to 141,6 $\mu\text{g/L}$ (127,3; 189,1) in the RIPC group. There was no significant difference between groups concerning other markers of ischemic-reperfusion injury, hemodynamic measurement, marker of systemic inflammatory response or clinical outcome.

Conclusion: RIPC using transient upper limb ischemia does not provide additional myocardial protection under a strict anesthetic regime during aortic valve replacement. Most plausible explanation would be that using of propofol during the anesthesia abolishes the positive effects of RIPC.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. Oštećenje srčanog mišića tijekom operacija na srcu	1
1.2. Ishemijsko-reperfuzijska ozljeda.....	2
1.3. Ishemijsko prekondicioniranje	4
1.3.1. Vremenski slijed ishemijskog prekondicioniranja	5
1.3.2. Mehanizam ranog ishemijskog prekondicioniranja.....	5
1.3.3. Mehanizam kasnog ishemijskog prekondicioniranja	8
1.3.4. Klinička primjena ishemijskog prekondicioniranja	9
1.4. Udaljeno ishemijsko prekondicioniranje	12
1.4.1. Mehanizam udaljenog ishemijskog prekondicioniranja	12
1.4.2. Klinička primjena udaljenog ishemijskog prekondicioniranja	15
2. POSTAVKE I CILJEVI ISTRAŽIVANJA	21
2.1. Hipoteza	21
2.2. Opći cilj	21
2.3. Specifični ciljevi	21
3. BOLESNICI I METODE	23
3.1. Ustroj istraživanja	23
3.2. Odabir bolesnika	23
3.3. Veličina uzorka i randomizacija.....	24
3.4. Postupak.....	25
3.4.1. Protokol prekondicioniranja	25
3.4.2. Kirurški postupak i vođenje stroja za izvantjelesni krvotok	25
3.4.3. Anesteziološki postupak.....	26

3.5.	Prikupljanje podataka i laboratorijska analiza	27
3.6.	Statistička analiza	28
4.	REZULTATI.....	29
4.1.	Prijeoperacijski podaci	31
4.2.	Intraoperacijski podaci	33
4.3.	Ishemijsko–reperfuzijska ozljeda.....	34
4.4.	Hemodinamski pokazatelji.....	38
4.5.	Klinički ishod.....	45
4.6.	Poslijeoperacijski ultrazvuk srca	47
4.7.	Sustavni upalni odgovor.....	48
5.	RASPRAVA.....	50
6.	ZAKLJUČAK.....	55
7.	POPIS KRATICA.....	56
8.	LITERATURA.....	57
9.	PRILOZI.....	72
10.	ŽIVOTOPIS.....	76

1. UVOD

1.1. Oštećenje srčanog mišića tijekom operacija na srcu

Zaustavljanje srca neophodno je tijekom najvećeg broja operacija na srcu i nužno dovodi do manjeg ili većeg stupnja oštećenja srčanog mišića. Navedeno oštećenje pripisuje se nekolicini različitih mehanizama, među kojima je najvažniji akutna ishemijsko-reperfuzijska ozljeda ¹. Među ostalim uzrocima su i sustavni upalni odgovor uslijed korištenja stroja za izvantjelesni krvotok, neadekvatna protekcija srčanog mišića, pretjerano širenje lijeve klijetke, atero-embolizacija koronarnih arterija, povećano kardijalno opterećenje tijekom operacije i direktna ozljeda uslijed manipulacija srcem. Većina ovih uzroka rutinski je minimizirana raznim protokolima kardioplegije, dekompresijom srca tijekom operacije, pažljivim manipulacijama srcem i aortom, te praćenjem i optimizacijom hemodinamskih parametara.

Klinički, teže oštećenje srčanog mišića manifestira se kao sindrom niskog minutnog volumena (eng. *low cardiac output syndrome*, LCOS) s hipotenzijom i perifernom hipoperfuzijom. Takvo stanje može onemogućiti odvajanje bolesnika od stroja za izvantjelesni krvotok. Najčešće se sindrom niskog minutnog volumena definira kao potreba za korištenjem inotropnih lijekova ili intraaortalne balon pumpe radi održanja sistoličkog arterijskog tlaka iznad 90 mmHg i srčanog indeksa iznad 2.2 L/min/m² uz prethodno optimizirane tlakove punjenja ². Čimbenici rizika za razvoj sindroma niskog minutnog volumena kod koronarnih bolesnika su: prethodna srčana operacija (OR 4.1); istisna frakcija lijeve klijetke (LVEF) manja od 20% (OR 3.5), hitna operacija (OR 2.7), operacija zbog kardiogenog šoka (OR 2.3), ženski spol (OR 2), te LVEF 20-40% (OR 2) ³. Incidencija sindroma niskog minutnog volumena značajno je smanjena tijekom zadnjih desetljeća: u razdoblju od 1990. do 1994. LCOS se javljao u 9.1% koronarnih bolesnika, a u razdoblju od 2005. do 2009. u 2.4% koronarnih bolesnika. Unatoč značajnom smanjenju incidencije, sindrom niskog minutnog volumena i dalje je povezan sa vrlo visokom smrtnosti od 24% (0.8% kod bolesnika koji nisu imali LCOS), značajno dužim trajanjem mehaničke ventilacije, dužim boravkom u jedinici intenzivnog liječenja i češćom primjenom krvnih pripravaka.

Zbog navedenog se zadnjih 50 godina ulažu veliki naponi u istraživanje raznih metoda zaštite srčanog mišića tijekom operacije na srcu. Među standardne metode zaštite miokarda spadaju hipotermija i korištenje kardioplegijskih otopina različitog sastava, temperature i načina primjene. Među novije metode zaštite srčanog mišića ubrajaju se korištenje adenzina i inhalacijskih anestetika te ishemijsko prekondicioniranje.

1.2. Ishemijsko-reperfuzijska ozljeda

Ishemijsko-reperfuzijska ozljeda miokarda naziv je za oštećenje srčanog mišića koje nastupa nakon obnavljanja protoka krvi nakon kritičnog perioda prekida koronarne cirkulacije⁴. Navedeni fenomen javlja se kod niza medicinskih postupaka, kao što su tromboliza, perkutana koronarna intervencija ili operacija na srcu, a očituje se kao smanjenje kontraktilne funkcije, reperfuzijske aritmije, ozljede mikrocirkulacije, reverzibilno oštećenje stanica (eng. *myocardial stunning*) ili stanična smrt.^{5,6}

Patogeneza ishemijsko-reperfuzijske ozljede vrlo je kompleksna i najčešće se objašnjava oksidativnim stresom⁷ i preopterećenjem stanica kalcijem⁸. Oba mehanizma međusobno su povezana, ali nije razjašnjeno da li se javljaju istovremeno ili jedan prethodi drugom. Oksidativni stres nije specifičan samo za ishemijsko-reperfuzijsku ozljedu, već je ključan i za disfunkciju endotelnih stanica u svim stadijima evolucije aterosklerotskog plaka⁹.

Oksidativni stres vezan je za aktivaciju endotelnih stanica u mikrocirkulaciji, pojačano stvaranje reaktivnih kisikovih spojeva (ROS, eng. *Reactive Oxygen Species*) i posljedično smanjenje biorasploživosti dušikovog oksida (NO). Najčešće istraživani ROS su vodikov peroksid (H_2O_2), superoksidni radikal (O_2^-), hidroksilni radikal (HO) i peroksinitrat (HNO_4) i imaju esencijalnu ulogu u ishemijsko-reperfuzijskoj ozljedi miokarda¹⁰⁻¹². Neravnoteža između ROS i NO dovodi do sinteze i otpuštanja upalnih medijatora (npr. čimbenika aktivacije trombocita i tumor nekrotizirajućeg čimbenika), koji pak uzrokuju adheziju leukocita za endotelne stanice putem novostvorenih adhezijskih molekula¹³. Dodatno, u oksidativnom stresu dolazi do promjene fosfolipida i proteina te peroksidacije lipida, što pak uzrokuje promjene u propusnosti stanične membrane i funkcionalne promjene mnogobrojnih staničnih

proteina. Oksidativni stres dovodi do staničnih oštećenja, uključujući depresiju ATP-aze sarkolemalne Ca^{2+} pumpe i aktivacije Na^+ - K^+ ATPaze, što uzrokuje pojačani utok Ca^{2+} u stanice i njegovo smanjeno izbacivanje^{14, 15}. Takvo prigušenje Ca^{2+} regulatornih mehanizama uslijed djelovanja ROS dovodi do preopterećenja kalcijem i stanične smrti. Navedene promjene nisu ograničene samo na kardiomiocite, već zahvaćaju i glatke mišićne stanice koronarnih arterija¹⁶.

Treba spomenuti i važnost NO tijekom ishemijsko reperfuzijske ozljede. Dušikov oksid predstavlja središnju tvar u vaskularnoj ravnoteži: NO se stvara i oslobađa u endotelu te je važan modulator tonusa i reaktivnosti endotela¹⁷, a ima i niz drugih pozitivnih učinaka na kardiovaskularni sustav¹⁸. Oksidativna modifikacija NO djelovanjem ROS dovodi ne samo do njegove smanjene bioraspodivnosti, nego i do stvaranja prethodno spomenutog toksičnog peroksinitrata⁹.

Dinamika stvaranja reaktivnih kisikovih spojeva istraživana je kod bolesnika s akutnim infarktom miokarda liječenih PTCA (perkutanom transluminalnom koronarnom angioplastikom)¹⁹. ROS se stvaraju već 15 minuta nakon reperfuzije, produkcija doseže vrhunac između 90 i 210 minuta i potom se smanjuje tijekom narednih 5 sati. Ponovni spontani porasti ROS javlja se između 18 i 24 sata, uz postupni pad nakon 24 sata.

Navedena štetna zbivanja mogu biti spriječena djelovanjem srčanih antioksidansa. Radi se o tvarima koje inhibiraju ili odgađaju oksidativno oštećenje staničnih proteina, ugljikohidrata, lipida i DNK.⁷ Obično se dijele u endogene i egzogene antioksidanse, a najčešće istraživani su superoskidna dismutaza (SOD), katalaza glutation perokidaza i vitamin E. Njihovo djelovanje je vrlo različito i može uključivati inhibiciju sinteze ROS, uklanjanje ROS i njihovih prekursora, vezivanje ROS za metalne ione i mnoge druge.

1.3. Ishemijsko prekondicioniranje

Ishemijsko prekondicioniranje (eng. *Ischemic preconditioning*, IPC) srčanog mišića naziv je za fenomen kod kojega jedna ili više kratkotrajnih epizoda ishemije i naknadne reperfuzije miokarda povećavaju njegovu toleranciju na oštećenje tijekom narednog produženog ishemijskog događaja. Ovaj je fenomen, kao i sam naziv, prvi put opisao Murry sa suradnicima 1986. godine. Oni su na psećem modelu infarkta miokarda dokazali da četiri 5-minutne epizode okluzije koronarnih arterija dovode do značajno viših vrijednosti visoko-energetskih fosfata i do 75%-ne redukcije veličine infarkta izazvanog produženom (40 min) okluzijom koronarne arterije. Također je pokazana i bolja naknadna srčana funkcija²⁰. Od tada je ova prilagodba intenzivno proučavana i dokazana kod mnogobrojnih životinjskih vrsta, uključujući zečeve²¹, štakore²², miševe²³ i svinje²⁴. In-vitro studije potvrdile su učinak prekondicioniranja i na izoliranim ljudskim miocitima²⁵, kao i ljudskom mišićnom tkivu²⁶. Potom su i mnogobrojne kliničke studije potvrdile pozitivni učinak ishemijskog prekondicioniranja²⁷, uključujući zaštitne učinke prodromalnih anginoznih tegoba na veličinu infarkta²⁸, povišenu toleranciju na ponavljane dilatacije balonom kod perkutanih koronarnih intervencija²⁹, intermitentno klemanje aorte kao metoda protekcije srca tijekom kardiokirurških operacija i sl.

Uz poboljšanu otpornost na letalnu ozljedu stanica, ishemijsko prekondicioniranje djeluje zaštitno i kod drugih posljedica ishemijsko-reperfuzijske ozljede, uključujući očuvanje kontraktilne sposobnosti i brzini oporavka nakon ishemije³⁰, smanjenje učestalosti ventrikularnih aritmija^{31, 32}, zaštitno djelovanje na endotel koronarnih arterija³³ i usporenja energetskog metabolizma tijekom ranih faza ishemije³⁴. Pokazano je da ishemijsko prekondicioniranje smanjuje i apoptozu kod životinja³⁵, također jedan od mehanizama koji pridonosi staničnoj smrti nakon ishemijsko-reperfuzijske ozljede.

Klasično, podražaj za prekondicioniranje je ishemija, tj. kritično smanjenje protoka krvi kroz koronarnu cirkulaciju. Međutim, prekondicioniranje se može potaknuti i hipoksijom, što je dokazano vidljivim učincima prekondicioniranja nakon smanjenja protoka kroz koronarnu cirkulaciju kod srčanih preparata perfundiranih hipoksičnom otopinom³⁶ ili na izoliranim kardiomiocitima podvrgnutim hipoksiji bez dodatka glukoze³⁷.

1.3.1. Vremenski slijed ishemijskog prekondicioniranja

Trajanje ishemijske, broj ciklusa ishemijske te trajanje reperfuzije prije kritične ishemijske značajno utječu na učinak prekondicioniranja. Ishemijsko prekondicioniranje može biti potaknuto kratkom ishemijskom trajanja 3-5 minuta s naknadnom reperfuzijom od barem 5 minuta, kako je pokazao Murry²⁰. Kraće prekondicioniranje, u trajanju od 1-2 minute s naknadnom reperfuzijom nema zaštitnog utjecaja^{38, 39}. Pojedinačna epizoda ishemijske dovoljna je za prekondicioniranje^{40, 41}, ali su višestruke epizode također učinkovite^{42, 43}. Osim trajanja ishemijske i broja ciklusa ishemijske, važnost ima i trajanje reperfuzije prije epizode kritične ishemijske: tipično, razdoblje reperfuzije do 60 minuta dovodi do efikasnog prekondicioniranja. Ako razdoblje reperfuzije prije kritične ishemijske traje 1-4 sata, ishemijsko prekondicioniranje nema učinka^{38, 44-46}. Ako je navedeno razdoblje produženo na 24-96 sati, javlja se sekundarno razdoblje zaštite u kojem su eksperimentalni modeli pokazali smanjenje površine infarkta, ali u manjem opsegu nego kod kraćih epizoda reperfuzije^{42, 47, 48}. Navedeno razdoblje nekad se nazivalo „drugim prozorom“ zaštite (eng. *second window of protection*), a danas se naziva **odgođeno prekondicioniranje** (eng. *delayed preconditioning*) ili **kasno prekondicioniranje** (eng. *late preconditioning*). **Klasično ili rano prekondicioniranje** (eng. *early preconditioning*) odnosi se na kratkotrajne učinke prekondicioniranja neposredno nakon ishemijske i značajno je učinkovitije u odnosu na kasno. Ova dva razdoblja prekondicioniranja značajno se razlikuju po uzročnim patofiziološkim mehanizmima. Dodatno, kasno prekondicioniranje, za razliku od ranog, štiti srce i od tzv. „ošamućivanja“ srčanog mišića (eng. *myocardial stunning*)^{49, 50}. To je naziv za produženo razdoblje post-ishemijskog poremećaja kontraktilne sposobnosti miokarda, koji se može oporaviti nakon reperfuzije.

1.3.2. Mehanizam ranog ishemijskog prekondicioniranja

Mnogobrojni procesi prvotno su razmatrani kao mehanizmi ranog (klasičnog) prekondicioniranja, da bi se kasnijim istraživanjima pokazali nevažnima. Tako je istraživano otvaranje kolaterala koronarnih arterija²⁰, poticanje zaštite antioksidantima⁵¹, sinteza zaštitnih proteina⁵² i promjene u mitohondrijalnim ATP-azama⁵³. Kasnije je postalo jasno da je postignuta zaštita posredovana receptorima te su istraživanja usmjerena na otkrivanje poticaja prekondicioniranja, unutarstaničnih

posrednika te krajnjih efektoru u miocitima koji su aktivirani tijekom ishemijskog prekondicioniranja.

Poticaji za prekondicioniranje

Prvi istraživani čimbenik koji potiče prekondicioniranje je **adenozin**: tijekom hipoperfuzije miokarda, adenzin dovodi do dilatacije krvnih žila i time povećava dostavu kisika, a ujedno smanjuje kontraktilnu sposobnost i time smanjuje potrošnju kisika u miokardu. Porast adenzina u intersticiju miokarda tijekom inicijalne ishemije zabilježen je u nizu istraživanja⁵⁴⁻⁵⁶. Učinci adenzina na miocite posredovani su adenzinskim receptorima A1, A2 i A3. Blokadom A1 i A3 receptora korištenjem primjerice neselektivnog antagonista 8-(p-sulfofenil)teofilin (8-SPT) dolazi do gotovo potpunog ukidanja učinaka prekondicioniranja na zečevima^{21, 57}. Stimulacija A1 receptora adenzinom ili adenzinskim agonistima poboljšava učinak ishemijskog prekondicioniranja^{52, 57, 58}. Ove studije pružaju čvrste dokaze o važnosti adenzina u zaštitnim učincima prekondicioniranja.

Bradikinin također pridonosi smanjenju veličine infarkta kod ishemijskog prekondicioniranja^{42, 59}. Bradikinin predstavlja neophodni poticaj samo ako se radi o vrlo kratkoj epizodi inicijalne ishemije³⁹ ili pojedinačnoj epizodi ishemije⁶⁰. Kod produženog prekondicioniranja ili prekondicioniranja s više kratkih epizoda ishemije, adenzin ima veću ulogu^{39, 60} te se može pretpostaviti da adenzin i bradikinin djeluju kao sinergistički poticaji prekondicioniranja.

Važnost **opioidnih receptora** također je široko istraživana te postoje studije koje jasno ukazuju na značaj δ -opioidnog receptora^{61, 62}, dok je uloga κ -opioidnog receptora još kontroverzna^{63, 64}.

Uloga **prostaglandina** je kontroverzna - blokiranje ciklooksigenaze pomoću acetilsalicilne kiseline nije dovelo do smanjenja veličine infarkta nakon ishemijskog prekondicioniranja^{65, 66}. Stimulacija α -adrenergičnih receptora⁶⁷, angiotenzinskih receptora⁶⁸ ili endotelinskih receptora⁶⁹ također nema učinka na ishemijsko prekondicioniranje.

Uloga endogenog **dušikovog oksida (NO)** u poticanju ishemijskog prekondicioniranja ostaje nejasna. Iako blokada sintaze dušikovog oksida (NOS)

smanjuje učinak prekondicioniranja kod štakora ⁷⁰, NO ne potiče klasično prekondicioniranje ⁷¹ niti je posrednik u klasičnom ishemijskom prekondicioniranju ⁷².

Uloga **kalcija** u prekondicioniranju također je nejasna. Blokada kalcijevih kanala I-tipa sprječava ishemijsko prekondicioniranje u ljudskom miokardu ⁷³, dok korištenje kalcijevog antagonista nisoldipina ne dovodi do smanjenja učinka ishemijskog prekondicioniranja ⁷⁴.

Slobodni kisikovi radikali (ROS) tijekom ishemijske i naknadne reperfuzije oštećuju miocite mijenjajući njihov integritet i povećavajući permeabilnost, što je opisano u poglavlju o ishemijsko – reperfuzijskoj ozljedi miokarda. S druge strane, oni služe i kao poticaj za ishemijsko prekondicioniranje ^{75, 76}. Sam mehanizam njihovog djelovanja još se istražuje, ali se zna da slobodni kisikovi radikali (ROS) mogu aktivirati G- proteine ⁷⁷, protein kinaze ⁷⁸ i ATP-ovisne kalijeve kanale ⁷⁹.

Posrednici u prekondicioniranju

Zaštitni učinci ishemijskog prekondicioniranja posredovani su unutarstaničnim medijatorima, prvenstveno ATP-ovisnim kalijevim kanalima (K⁺ATP) i specifičnom oblikom protein kinaze C (PKC).

U kardiomiocitima postoje dvije različite vrste **K⁺ATP kanala**: u mitohondrijima i u sarkolemi, s jedinstvenim aktivatorima i inhibitorima. Sarkolemalni K⁺ATP kanali mogu se blokirati preparatima sulfonilureje (npr. glibenklamidom) i 5-hidroksidekanoatom (5HD). Navedeno blokiranje u potpunosti uklanja učinke klasičnog ishemijskog prekondicioniranja ^{80, 81}. Mitohondrijalni K⁺ATP kanali mogu biti otvoreni djelovanjem diazoksida i blokirani niskim koncentracijama 5HD. Djelovanje diazoksida prema studijama na štakorima i zečevima pridonosi prekondicioniranju ^{82, 83}, dok druge studije nisu uspjele potvrditi njegovo djelovanje ^{84, 85}. U istraživanju na psima, Sanada je pokazao da je blokada obje vrste K⁺ATP kanala potrebna kako bi se u potpunosti blokiralo ishemijsko prekondicioniranje ⁸⁶. Neka istraživanja pokazuju da K⁺ATP kanali osim posredničke uloge mogu biti i poticaj ishemijskom prekondicioniranju ^{83, 87}

Protein kinaza C (PKC) ima važnu posredničku ulogu kod ishemijskog prekondicioniranja, najvjerojatnije putem fosforilacije proteina, kao što su K⁺ATP kanali u sarkolemi i mitohondrijima. Jedan od snažnih aktivatora protein kinaze C je i

adenozin. Inhibicija PKC korištenjem polimiksina ili staurosporina sprječava prekondicioniranje ⁸⁸, dok aktivacija PKC esterima forbola dovodi do prekondicioniranja kod ljudi i zečeva ^{37, 89}. Trenutak aktivacije PKC čini se važnim u ishemijskom prekondicioniranju: inhibicija PKC tijekom razdoblja ishemijskog prekondicioniranja ne utječe na zaštitu srca, dok ista inhibicija PKC neposredno prije kritične ishemije u potpunosti negira učinke prekondicioniranja ⁹⁰.

Efektori prekondicioniranja

Efektori prekondicioniranju i danas su nerazjašnjeni i više različitih hipoteza nastoji objasniti uključene zaštitne mehanizme. Ishemijsko prekondicioniranje dovodi do značajnog smanjenja energetske potrebe tijekom kritične ishemije kod pasa ³⁴ i svinja ⁹¹. Više istraživanja ukazuje na važnost smanjenja nakupljanja katabolita u zaštiti od infarkta: smanjeno nakupljanje laktata dokazano je u prekondicioniranom miokardu ^{34, 92, 93}. Smanjenje zaliha glikogena tijekom kratkotrajnog prekondicioniranja također je jedan od kontroverznih mehanizama koji vjerojatno doprinosi zaštiti srca od ishemije ⁹⁴⁻⁹⁶. Prekondicioniranje smanjuje i unutarstanično zakiseljavanje tijekom kritične ishemije, ali je isto najvjerojatnije posljedica smanjenje anaerobne glikolize upitne važnosti u zaštiti od infarkta. Među ostalim mehanizmima koji se razmatraju su i smanjenje stvaranja tumor nekrotizirajući faktora alfa (TNF α) ^{97, 98}, promjene u citoskeletonu i inhibicija izmjenjivača natrijevih protona ⁹⁹

1.3.3. Mehanizam kasnog ishemijskog prekondicioniranja

Kasno prekondicioniranje može biti potaknuto nizom čimbenika, koji se mogu podijeliti u nefarmakološke i farmakološke. U nefarmakološke metode, osim ishemije, spadaju toplinski stres ¹⁰⁰, brza elektrostimulacija klijetki ¹⁰¹ i tjelovježba ¹⁰². U farmakološku grupu spadaju endotoksini ¹⁰³, donori NO ¹⁰⁴, agonisti adenozina, opioidni agonisti i TNF α ¹⁰⁵. U većini navedenih istraživanja kasna kardioprotekcija dovodi do zaštite miokarda i smanjenja veličine infarkta, a u nekim istraživanjima dodatno sprječava *stunning*, aritmije i disfunkciju endotela.

Kasni početak i duže trajanje odgođenog prekondicioniranja sugeriraju da dolazi do promjena u aktivnosti proteina u miokardu. Iako je Marberova studija povezale porast razine **proteina toplinskog šoka** (eng. *heat shock proteins*), posebice HSP-72, s povišenom otpornošću na infarkt ⁴⁷, druge studije nisu potvrdile

povezanost ^{104, 106}. **Antioksidantni enzimi** (npr. manganova superoksidna dismutaza, Mn SOD) vjerojatno su uključeni u kasno prekondicioniranje: hipoksično prekondicioniranje dovodi do kasnog povišenja (>24h) aktivnosti Mn SOD sa značajnom zaštitom miokarda ¹⁰⁷, a blokada navedenog enzima oligonukleotidom dovodi do gubitka kasnog prekondicioniranja. **Sintaza dušikovog oksida (NOS)** ima ključnu ulogu u posredovanju pri kasnom prekondicioniranju, posebice njezina specifična izoforma (iNOS) ¹⁰⁸. Inhibitori **ciklooksigenaze-2 (COX-2)** primijenjeni prije kritične ishemije, poništavaju učinke kasnog prekondicioniranja posredovanog COX-2 ¹⁰⁹. Zaključno, kasno je prekondicioniranje najvjerojatnije posljedica aktivacije više gena, koji dovode do nove sinteze niza proteina i kanala neophodnih za zaštitu srčanog mišića, za razliku od ranog prekondicioniranja, kod kojeg je dovoljna aktivacija postojećih proteina ¹¹⁰.

Uloga ROS je značajna u kasnom prekondicioniranju i čini se da predstavlja poticaj istog ^{111, 112}. Pokazano je da intrakoronarna infuzija aktivatora ROS dovodi do kasnog prekondicioniranja u zečeva ¹¹³, a da kombinacija antioksidansa primijenjena za vrijeme inicijalne ishemije sprječava kasno prekondicioniranje ¹¹⁴. Prema dostupnim istraživanjima, čini se da dušikov oksid (NO) ima značajniju ulogu u kasnom prekondicioniranju nego u klasičnom (gdje mu je uloga dvojbena). NO stvoren u ishemičnom tkivu služi i kao poticaj i kao posrednik u kasnom prekondicioniranju ^{115, 116}, a posebice je bitno stvaranje peroksinitritnog aniona iz NO i slobodnih kisikovih radikala tijekom poticanja kasnog prekondicioniranja.

1.3.4. Klinička primjena ishemijskog prekondicioniranja

Osim na in-vitro i in-vivo modelima na životinjama, značaj ishemijskog prekondicioniranja je dokazan i u ljudi u nizu in vivo studija i kliničkih studija ¹¹⁷. Primjerice, pokazano je da prodromalna angina prije infarkta miokarda može značajno smanjiti njegovu veličinu ^{28, 118} i da ishemija izazvana tjeleloježbom izaziva klasično prekondicioniranje, ali ne i kasno ¹¹⁹. Mogućnosti kliničke primjene ishemijskog prekondicioniranja su ograničene: privremena potpuna obustava koronarne cirkulacije/perfuzije srca moguća je samo u određenim situacijama, primjerice u kardijalnoj kirurgiji.

Provedene su brojne manje studije s ciljem utvrđivanja da li ishemijsko prekondicioniranje omogućava dodatnu zaštitu srčanog mišića tijekom operacija na srcu ¹²⁰⁻¹²³. Većina je istraživanja dizajnirana s primarnim ciljem dokazivanja postojanja ishemijskog prekondicioniranja u ljudskom srcu i mogućnosti poticanja istog u klinički relevantnoj situaciji (tijekom operacije na srcu). Stoga većina navedenih studija ima dovoljnu snagu za dokazivanje razlike u biomarkerima ozljede miokarda, ali ne i razlika u kliničkom ishodu, kao što su smrt, infarkt miokarda ili incidencija ventrikularnih aritmija. U meta-analizi iz 2008. godine, Walsh i suradnici ¹²⁴ su izdvojili ukupno 22 studije i analizom pokazali da ishemijsko prekondicioniranje značajno smanjuje učestalost poslijeoperacijskih ventrikularnih aritmija (OR 0.11), potrebu za inotropnom potporom (OR 0.34) i trajanje boravka u jedinici intenzivnog liječenja (za 3 sata). Nije uočena razlika u perioperacijskom mortalitetu. Zanimljivo je da se navedeni klinički učinci ishemijskog prekondicioniranja javljaju samo uz primjenu kardioplegije; u studijama koje su koristile intermitentno klemanje aorte kao metodu protekcije, ishemijsko prekondicioniranje nije pokazalo dodatne prednosti u odnosu na kontrolne skupine.

Postoji fundamentalna razlika između životinjskih modela ishemije miokarda i kardijalne kirurgije: životinjski modeli u pravilu ne koriste dodatne oblike zaštite miokarda, dok se u kardijalnoj kirurgiji rutinski primjenjuju kardioplegija, pothlađivanje i inhalacijski anestetici. Stoga ishemijsko prekondicioniranje može pokazati impresivne rezultate u nezaštićenom životinjskom miokardu, dok kod ljudi ima ograničen učinak ¹²⁵.

Jedna od klasičnih metoda zaštite srčanog mišića tijekom kirurške revaskularizacije miokarda je **intermitentno klemanje aorte s fibrilacijom srca** (ICCF, eng *intermittent cross-clamp fibrillation*). Mnogobrojna prospektivna randomizirana istraživanja pokazale su da su pozitivni učinci ICCF jednaki učincima kristaloidne ili krvne kardioplegije, promatrajući i biokemijske pokazatelje ozljede srčanog mišića i klinički ishod, uključujući i incidenciju cerebrovaskularnih inzulta i mikroembolizacija ¹²⁶⁻¹²⁸. Zagovaratelji navedene metode zaštite miokarda ističu da se navedenim klemanjem aorte srce izlaže samo kratkotrajnim razdobljima ishemije, uz punu reperfuziju nakon svake kreirane anastomoze kod kirurške revaskularizacije miokarda. Navedena metoda i danas se koristi u nekim centrima, te ju koristi gotovo 15% kirurga u Velikoj Britaniji ¹²⁹. Zaštita miokarda kod ICCF djelomično se

objašnjava ishemijskim prekondicioniranjem ¹³⁰. Primjerice, kardioprotektivni učinak ICCF može se smanjiti korištenjem inhibicije protein kinaze C ili blokadom K⁺ATP kanala, što ukazuje na međusobnu povezanost Dunning i suradnici su, međutim, pokazali da ICCF ne dovodi do pouzdane reperfuzije miokarda u razdobljima između klemanja aorte, što se očituje sporim oporavkom vrijednosti intramiokardijalnog pH ¹³¹.

Ishemično prekondicioniranje nije zaživjelo kao rutinska metoda u protekciji miokarda tijekom kardiokirurških operacija iz mnogobrojnih razloga ¹³². Većina kirurga posjeduje psihološki antagonizam prema opetovanim epizodama klemanja aorte, kako zbog razdoblja ishemije „bez zaštite“, tako i zbog povećanja rizika embolizacije iz uzlazne aorte. Ishemijsko prekondicioniranje produžava trajanje operacije za 15 do 30 minuta, a s obzirom da i izvantjelesni krvotok sam po sebi inducira prekondicioniranje ¹³³, kao i mnogobrojni anestetici, postoji razmišljanje da IPC ne donosi dodatnu korist. Učinci IPC su kontroverzni kada se kombiniraju s hipotermijom tijekom izvantjelesnog krvotoka ili u kombinaciji s kardioplegijom (ili oboje). Također, kod starijih bolesnika je primijećeno da odgovor na prekondicioniranje slabi s povišenjem dobi ¹³⁴. Uz sve navedeno, ostaju upitni optimalan broj i dužina ciklusa ishemiziranja, kao i trajanje reperfuzije.

1.4. Udaljeno ishemijsko prekondicioniranje

Udaljeno ishemijsko prekondicioniranje (RIPC, eng. *remote ischemic preconditioning*) označava primjenu protokola prekondicioniranja na organ ili tkivo udaljeno od srca. Przyklenk i suradnici prvi su 1993. godine dokazali da kratkotrajna okluzija cirkumfleksne koronarne arterije može dovesti do smanjenja veličine infarkta poslije naknadne produžene okluzije prednje silazne grane lijeve koronarne arterije i time pokazali postojanje efekata prekondicioniranja izvan opskrbnog teritorija pojedine koronarne arterije (**“intraorgansko“ prekondicioniranje**)¹³⁵.

“Interorgansko“ prekondicioniranje, tj. prekondicioniranje udaljenog organa, prvi put je opisano 1993. godine u istraživanju McClanahana i suradnika na zečevima¹³⁶: 10-minutna okluzija lijeve renalne arterije i naknadna reperfuzija iste dovela je do značajnog smanjenja veličine infarkta miokarda izazvanog dugotrajnim podvezivanjem koronarne arterije. Navedeni učinci bili su usporedivi s učincima klasičnog prekondicioniranja postignutog 5-minutnom okluzijom koronarne arterije.

Zaštitne učinke RIPC na srčani mišić kod štakora dokazali su 1996. Gho i suradnici¹³⁷: kratkotrajnom ishemijom prednje mesenterijalne arterije postignuto je značajno smanjenja veličine infarkta, identično smanjenju nakon klasičnog prekondicioniranja (ishemijom koronarne arterije). Liauw i suradnici su iste godine na psećem modelu dokazali da se ishemijskim prekondicioniranjem skeletnog mišića može potaknuti zaštita kontralateralnog mišića od ishemijsko-reperfuzijske ozljede, odnosno da udaljeno prekondicioniranje nije specifično za srce¹³⁸. Birnbaum i suradnici su 1997. godine istraživanjem na anesteziranim zečevima pokazali da kombinacija ishemije i stimulacije skeletnog mišića značajno smanjuje veličinu infarkta miokarda¹³⁹.

Jedno od prvih istraživanja RIPC-a na ljudima proveli su Kharbanda i suradnici koji su na zdravim dobrovoljcima pokazali da ishemijsko prekondicioniranje ruke sprječava ishemijsko-reperfuzijsku disfunkciju endotela kontralateralne ruke¹⁴⁰.

1.4.1. Mehanizam udaljenog ishemijskog prekondicioniranja

Mehanizam djelovanja udaljenog ishemijskog prekondicioniranja je nejasan¹⁴¹. Iako su razmatrani mnogobrojni putovi prenošenja signala koji dovode do RIPC,

način kojim se poticaj prekondicioniranja iz udaljenog organa ili tkiva prenosi do srca i dovodi do tako snažne zaštite srčanog mišića ostaje nerazjašnjen. Jedna je teorija da se u prekondicioniranom organu ili tkivu oslobađaju tvari poput adenzina, bradikinina ili opioida, koje potom krvlju budu prenesene do srca. Alternativna teorija govori da navedene tvari podražavaju lokalne aferentne živčane putove, koji potom potiču eferentne živčane završetke u miokardu.

Važno istraživanje proveli su Konstantinov i suradnici ¹⁴² na svinjskom modelu nakon ortotopične transplantacije srca. RIPC je postignut s 4 ciklusa 5-minutne ishemije ekstremiteta prije transplantacije, a infarkt miokarda izazvan 30-minutnom okluzijom koronarne arterije nakon transplantacije srca. Pokazali su da RIPC dovodi do 57%-nog smanjenja veličine infarkta miokarda. U skupini gdje je RIPC kombiniran s blokatorom K⁺ATP kanala glibenklamidom, nije došlo do smanjenja veličine infarkta miokarda. Važnost istraživanja leži u tome što dokazuje da neuralni sustav nije potreban za izazivanje RIPC učinaka na denerviranom srcu te da se učinci RIPC provedeni cirkulirajućim čimbenicima i potom mehanizmima klasičnog prekondicioniranja (posredstvom K⁺ATP kanala).

Učinkovita zaštita srčanog mišića nakon RIPC putem kratkotrajne okluzije lijeve renalne arterije na zečevima može biti u potpunosti spriječena primjenom blokatora adenzinskih receptora ili blokatora K⁺ATP kanala ¹⁴³.

Značajna uloga bradikinina u udaljenom prekondicioniranju potvrđena je u istraživanju Schoemakera i suradnika ¹⁴⁴: primjenom blokatora bradikininskih B(2) receptora (HOE-140) u potpunosti su spriječeni učinci RIPC potaknutog okluzijom mezenterijalne arterije u štakora, dok je kratkotrajna intramezenterijalna primjena bradikinina dovela do istih učinaka kao i prekondicioniranje.

Intravenska primjena neselektivnog antagonista opioidnih receptora (nalokson) ili primjena selektivnog antagonista delta1-opioidnog receptora (7-benzilidenealtrekson maleat) također dovodi do sprječavanja učinaka RIPC ¹⁴⁵. S druge strane, u istom istraživanju na mišićnim reznjevima, intravenska primjena ganglionskog blokatora (heksametonium klorida) ili nespecifičnog antagonista adenzinskih receptora (8-SPT) nije imalo učinaka na učinke RIPC. Također je uočeno usporeno smanjenje razine mišićnog ATP-a tijekom 4-satne produžene ishemije, kao i smanjena aktivnost neutrofilne mijeloperoksidaze nakon reperfuzije od

1.5h. Zaključeno je da je RIPC potaknuto aktivacijom opioidnih receptora u skeletnim mišićima, a da je smanjenje veličine infarkta povezano s uštedom energije tijekom produžene ishemije te smanjenog nakupljanja neutrofila tijekom reperfuzije.

Zaključno, iako je mehanizam udaljenog ishemijskog prekondicioniranja nerazjašnjen, najvjerojatnije je da RIPC podražaj dovodi do oslobađanja tvari koje potiču i klasično (rano) ishemijsko prekondicioniranje, da se navedene tvari krvlju prenesene do srca, te da potom djeluju na posrednike i efektore klasičnog prekondicioniranja (opisane u poglavlju 1.3.3).

1.4.2. Klinička primjena udaljenog ishemijskog prekondicioniranja

Pretraživanjem literaturnih baza podataka (MEDLINE via PubMed, EMBASE I Cochrane Library) identificirano je ukupno 28 istraživanja s kliničkom primjenom RIPC u kardijalnoj kirurgiji (Tablica 1). U tablici su navedeni broj ispitanika, vrsta kirurškog zahvata, anesteziološki lijekovi korišteni pri indukciji i održavanju anestezije, primarni cilj istraživanja i ishod. Najčešći primarni cilj istraživanja bila je razlika u biomarkerima ishemijsko-reperfuzijske ozljede miokarda, izražena kao ukupna količina troponina otpuštenog tijekom 72h nakon operacije. Od 27 istraživanja, 17 je pokazalo određene pozitivne učinke RIPC, dok 10 nije uspjelo detektirati razliku između RIPC i kontrolnih skupina.

Jedno od prvih kliničkih istraživanja s primjenom RIPC-a u kardijalnoj kirurgiji objavili su Günaydin i suradnici 2000. godine ¹⁴⁶. RIPC je potaknut s 2 ciklusa od po 3-minutne ishemijske i 2-minutne reperfuzije desne ruke pomoću manšete tlakomjera. Na vrlo malom broju ispitanika (8 bolesnika) tijekom kirurške revaskularizacije miokarda, autori su pokazali da RIPC smanjuje koncentraciju laktat dehidrogenaze (LDH) u krvi iz koronarnog sinusa 5 minuta nakon otpuštanja klem s aorte, dok nije uočena statistički značajna razlika u lučenju kreatin kinaze i MB izoenzima kreatin kinaze.

U studiji Cheunga i suradnika iz 2006. ¹⁴⁷, 37 djece prije operacijskog popravka prirođenih srčanih grešaka randomizirano je u RIPC ili kontrolnu skupinu. RIPC je potaknut s 4 ciklusa 5-minutne ishemijske i reperfuzije noge pomoću manšete tlakomjera. Dokazano je značajno smanjenje koncentracije troponina I, TNF α i poslijeoperacijske inotropne potpore u RIPC skupini.

Tablica 1. Klinička istraživanja RIPC u kardijalnoj kirurgiji. (TnI – troponin I; TnT – troponin T; I/R – ishemija i reperfuzija; CK – kreatin kinaza; AUC – eng. *area under curve*, površina ispod krivulje; CABG – aortokoronarno premoštenje, eng. *coronary artery bypass grafting*)

Prvi autor, godina, referenca	Broj bolesnika (kontola/ RIPC)	Vrsta operacije	RIPC protokol	Vrsta anestezije (indukcija/održavanje)	Primarni cilj	Ishod
Günaydin i sur., 2000 ¹⁴⁶	4/4	CABG	Ruka 2 ciklusa I/R (3/2 min)	I: fentanil+diazepam O: dušični oksidul	CK (iz koronarnog sinusa, 5min nakon puštanja klemes aorte)	Bez učinka (samo elevacija LDH)
Cheung i sur., 2006 ¹⁴⁷	20/17	Dječja kardijalna kirurgija	Ruka 4 ciklusa I/R (5/5 min)	I: sevofluran O: izofluran	TnT (AUC 24h nakon operacije) Potreba za inotropima Respiratorna funkcija	Snižen TnT Snižen inotropni score Snižen otpor dišnih puteva
Hausenloy i sur., 2007 ¹⁴⁸	30/27	CABG	Ruka 3 ciklusa I/R (5/5 min)	I: midazolam +/- etomidat ili propofol O: propofol	TnT (AUC 72h nakon operacije)	43% smanjenje TnT
Venugopal i sur., 2009 ¹⁴⁹	22/23	CABG (hladna krvna kardioplegija)	Ruka 3 ciklusa I/R (5/5 min)	I: midazolam +/- etomidat ili propofol O: propofol ili inhal. anest	TnT (AUC 72h nakon operacije)	42% smanjenje TnT
Hong i sur., 2010 ¹⁵⁰	65/65	CABG (off-pump)	Ruka 4 ciklusa I/R (5/5 min)	I: midazolam O: sevofluran	TnI (AUC 72h nakon operacije)	26% smanjenje TnT, NS
Rahman i sur., 2010 ¹⁵¹	82/80	CABG	Ruka 4 ciklusa I/R (5/5 min)	I: etomidat O: propofol + inhal. anest. (CPB)	TnT (AUC 48h nakon operacije)	Bez učinka
Thielmann i sur., 2010 ¹⁵²	26/27	CABG	Ruka 3 ciklusa I/R (5/5 min)	I: sufentanil + etomidat O: izofluran ili propofol	TnI (AUC 72h nakon operacije)	45% smanjenje TnI
Li, 2010 ¹⁵³	27/26	Zamjena zalistaka	Noga 3 ciklusa I/R (4/4 min)	I: midazolam O: fentanil+propofol+ izofluran	TnI (AUC 72h nakon operacije)	40% smanjenje TnI
Zhou, 2010 ¹⁵⁴	30/30	Dječja kardijalna kirurgija	Ruka 2 ciklusa I/R (5/5 min) 24h i 1h prije zahvata	nije navedena	CK-MB Biomarkeri upale (2, 4, 12 i 24h nakon operacije) Respiratorna funkcija	Snižen CK-MB i biomarkeri upale Poboljšana resp. funkcija

Prvi autor, godina, referenca	Broj bolesnika (kontola/ RIPC)	Vrsta operacije	RIPC protokol	Vrsta anestezije (indukcija/održavanje)	Primarni cilj	Ishod
Wagner i sur., 2010 ¹⁵⁵	34/32	CABG (hladna kristaloidna kardioplegija)	Ruka 3 ciklusa I/R (5/5 min) 18h prije zahvata	I, O: diazepam + sufentanil	Tnl (AUC 24h nakon operacije)	Snižen Tnl
Ali i sur., 2010 ¹⁵⁶	50/50	CABG	Ruka 3 ciklusa I/R (5/5 min)	nije navedena	CK-MB (8, 16, 24 i 48h nakon operacije)	Snižen CK-MB
Karuppasamy i sur., 2011 ¹⁵⁷	27/27	CABG	Ruka 3 ciklusa I/R (5/5 min)	I:propofol O:izofluran+propofol	Tnl (AUC 48h nakon operacije)	Bez učinka
Wu i sur., 2011 ¹⁵⁸	25/25	Zamjena mitralnog zaliska	Ruka 3 ciklusa I/R (5/5 min) ili 3 ciklusa I/R (5/5 min) + 2 ciklusa I/R (10/10 min)	I: midazolam + fentanil O: midazolam + sufentanil	Tnl (4, 8, 12, 24, 48 i 72h nakon operacije)	Snižen Tnl s 3 ciklusa I/R (5/5 min) + 2 ciklusa I/R (10/10 min), ali ne i kod 3 ciklusa I/R (5/5 min)
Kottenberg i sur., 2012 ¹⁵⁹	19/20	CABG	Ruka 3 ciklusa I/R (5/5 min)	propofol vs. izofluran	Tnl (AUC 72h nakon operacije)	Snižen Tnl s izofluranskom, ali ne i s propofolskom anestezijom
Young i sur., 2012 ¹⁶⁰	48/48	Kardijalna kirurgija (visokorizični CABG i kirurgija zalistaka)	Ruka 3 ciklusa I/R (5/5 min)	I:midazolam+fentanil O: propofol	TnT	Bez učinka
Heusch i sur., 2012 ¹⁶¹	12/10	CABG	Ruka 3 ciklusa I/R (5/5 min)	Nije navedena	Tnl (AUC 72h nakon operacije) Fosforilacija STATS	Snižen Tnl STAT5 aktivacija
Lee i sur., 2012 ¹⁶²	28/27	Popravak VSD kod djece	Noga 4 ciklusa I/R (5/5 min)	I: midazolam + sevofluran O: midazolam + sufentanil	Tnl (AUC 24h nakon operacije)	Bez učinka
Pavione i sur., 2012 ¹⁶³	10/12	Dječja kardijalna kirurgija	Noga 4 ciklusa I/R (5/5 min)	sevofluran ili izofluran	Tnl (4, 12, 24 i 48h nakon operacije)	Bez učinka
Lucchinetti i sur., 2012 ¹⁶⁴	28/27	CABG	Noga 4 ciklusa I/R (5/5 min)	I: propofol + opioidi O: izofluran	Snižen Tnl STAT5 aktivacija	Bez učinka
Xie i sur., 2012 ¹⁶⁵	35/38	Kirurgija zalistaka	Ruka 3 ciklusa I/R (5/5 min)	I; etomidat, midazolam O: sufentanil +/- sevofluran	Tnl (6, 12, 24, 48, i 72h nakon operacije)	Snižen Tnl

Prvi autor, godina, referenca	Broj bolesnika (kontola/ RIPC)	Vrsta operacije	RIPC protokol	Vrsta anestezije (indukcija/održavanje)	Primarni cilj	Ishod
Thielmann i sur., 2013 ¹⁶⁶	167/162	CABG	Ruka 3 ciklusa I/R (5/5 min)	I: sufentanil + etomidat O: izofluran ili propofol	TnI (AUC 72h nakon operacije)	27% smanjenje TnI snižena opća smrtnost
Ahmad i sur., 2014 ¹⁶⁷	32/35	CABG (On-pump)	Ruka 3 ciklusa I/R (5/5 min):	I: midazolam + propofol O: sevofluran ili izofluran	CK-MB (1, 12, 24 i 48h nakon operacije)	Bez učinka
Hong i sur., 2014 ¹⁶⁸	636/644	Kardijalna kirurgija (razne operacije)	Ruka 4 ciklusa I/R (5/5 min): 2 ciklusa prije + 2 ciklusa nakon CPB	I: midazolam + etomidat O: propofol	Zbirni klinički ishod	Bez učinka
Slagsvold i sur., 2014 ¹⁶⁹	30/30	CABG	Ruka 3 ciklusa I/R (5/5 min)	I: propofol O: izofluran	Mitohondrijska oksidacija	Poboljšana mitohondrijska respiracija
McCordle i sur., 2014 ^{170, 171}	151/148	Dječja kardijalna kirurgija	Noga 4 ciklusa I/R (5/5 min)	I: sevofluran O: sevofluran +/- propofol	Trajanje poslijeoperacijskog boravka	Bez učinka
Holmberg i sur., 2014 ¹⁷²	23/23	Kardijalna kirurgija (razne operacije)	Ruka 3 ciklusa I/R (5/5 min)	I: midazolam + fentanil O: sevofluran	TnT (AUC 72h nakon operacije)	25% smanjenje TnT, NS
Candilio i sur., 2014 ¹⁷³	90/90	Kardijalna kirurgija (CABG i/ili kirurgija zalistaka)	Ruka i noga 2 ciklusa I/R (5/5 min)	I: različite kombinacije (midazolam, etomidat, propofol) O: izofluran/sevofluran + propofol	Perioperacijski infarkt miokarda (AUC 52h nakon operacije)	26% smanjenje TnT smanjenje incidencije fibrilacije atrijske, zatajenja bubrega i trajanja boravka u JIL

Prvu veću studiju s pozitivnim učincima RIPC objavili su Hausenloy i suradnici 2007. godine ¹⁴⁸. U istraživanju na 57 odraslih bolesnika predviđenih za kiruršku revaskularizaciju miokarda, RIPC je bio potaknut s 3 ciklusa 5-minutne ishemije i 5-minutne reperfuzije desne ruke. Autori su pokazali značajno smanjenje koncentracije troponina T mjerene 6, 12, 24 i 48 sati nakon operacije, kao i 43% smanjenje ukupne količine troponina T tijekom 72 sata nakon operacije (površina ispod krivulje).

Prvo istraživanje RIPC s negativnim rezultatom objavljeno je od strane Rahmana i suradnika 2010. godine ¹⁵¹. Ova dvostruko slijepa randomizirana studija na ukupno 162 bolesnika nije pokazala zaštitni učinak RIPC: nije opaženo smanjenje troponina T, poboljšanje hemodinamskih parametara, kao ni pokazatelji protekcije pluća i bubrega.

Metaanalize

U slučaju ovako velikog broja istraživanja s različitim ishodima, najbolje odgovore o stvarnoj učinkovitosti nekog postupka mogu dati meta-analize. Tijekom zadnjih 10 godina objavljeno je više meta-analiza, s različitim zaključcima.

U meta-analizi Takagija i suradnika iz 2008. godine ¹⁷⁴ korištena su 4 prethodna randomizirana kontrolirana istraživanja ^{146-148, 175}. Do tada je RIPC ispitano na ukupno 184 bolesnika te je pokazano statistički značajno smanjenje biomarkera ozljede miokarda (standardizirana srednja razlika iznosila je -0.81), ali nije poznato da li RIPC dovodi do poboljšanja kliničkih ishoda liječenja.

U meta-analizi koju su 2012. godine objavili D'Ascenzo i suradnici ¹⁷⁶, iskorišteno je 9 prethodnih randomiziranih istraživanja ^{148-152, 155, 157, 159, 164} sa ukupno 704 bolesnika. Autori su zaključili da RIPC dovodi do značajnog smanjenja lučenja troponina (standardizirana srednja razlika iznosila je -0.36).

Meta-analiza Brevoorda i suradnika ¹⁷⁷ objedinila je ukupno 23 studije, od čega 15 istraživanja u kardijalnoj kirurgiji, 4 istraživanja kod perkutanih koronarnih intervencija i 4 u vaskularnoj kirurgiji. Na ukupnom broju od 1878 bolesnika, RIPC nije doveo do smanjenja smrtnosti (OR 1.22), niti smanjenja kardiovaskularnih zbivanja (OR 0.65), dok je broj infarkta miokarda bio smanjen (OR 0.50), kao i najviša vrijednost troponina (standardizirana srednja razlika -0.28).

Zaključno, rezultati istraživanja RIPC u zaštiti srčanog mišića kod operacija na srcu su kontroverzni: RIPC je u nizu istraživanja pokazao potencijal u zaštiti srčanog mišića od ishemijsko-reperfuzijske ozljede, dok druga istraživanja nisu pokazala učinak RIPC. Do sada objavljene meta-analize ne obuhvaćaju sve objavljene studije, ali uglavnom zaključuju da postoji značajno smanjenje biomarkera ozljede miokarda nakon primjene RIPC-a, dok ne postoji značajnija klinička korist istog. Samim time dosadašnje ograničeno iskustvo u kliničkoj primjeni ne dozvoljava donošenje definitivnih zaključaka. Utjecaj na ishod liječenja kardiokirurških bolesnika također nije potvrđen. Također, unatoč postojanju niza studija koje se bave mehanizmom RIPC, to područje je i dalje nedovoljno istraženo.

2. POSTAVKE I CILJEVI ISTRAŽIVANJA

2.1. Hipoteza

Udaljeno ishemijsko prekondicioniranje djeluje zaštitno na srčani mišić u kontroliranim uvjetima ishemije miokarda tijekom kardiokirurškog zahvata. Zaštita se odražava smanjenim lučenjem biomarkera ishemijsko-reperfuzijske ozljede, poboljšanjem funkcijske sposobnosti miokarda i poboljšanjem kliničkih ishoda.

2.2. Opći cilj

Opći cilj istraživanja je pokazati da udaljeno ishemijsko prekondicioniranje djeluje zaštitno na srčani mišić u kontroliranim uvjetima ishemije miokarda tijekom kardiokirurške operacije zamjene aortnog zaliska.

2.3. Specifični ciljevi

Primarni cilj istraživanja je ukupna količina srčanog troponina I (cTnI) otpuštena tijekom 72 sata od operacije, izračunata kao površina pod krivuljom (eng. *Area-under-the-curve*, AUC).

Sekundarni ciljevi istraživanja su:

- vršna vrijednost cTnI
- vršna vrijednost C reaktivnog proteina (CRP)
- poslijeoperacijska indeksirana vrijednost minutnog volumena srca
- poslijeoperacijski radni indeks lijeve klijetke
- incidencija sindroma niskog minutnog volumena
- poslijeoperacijska sistolička funkcija lijeve klijetke (LVEF)
- učestalost korištenja intraaortalne balon pumpe (IABP)
- perioperacijska smrtnost
- trajanje mehaničke ventilacije
- trajanje boravka u jedinici intenzivnog liječenja

- trajanje boravka u bolnici
- učestalost drugih komplikacija: perioperacijski infarkt miokarda, fibrilacija atrijske, cerebrovaskularni incidenti, infekcije

3. BOLESNICI I METODE

3.1. Ustroj istraživanja

Istraživanje je planirano i provedeno kao randomizirani kontrolirani klinički pokus prema smjernicama o izvještavanju randomiziranih istraživanja s usporednim skupinama ispitanika CONSORT 2010¹⁷⁸⁻¹⁸⁰.

Istraživanje je odobreno je od strane Etičkog povjerenstva KB Dubrava i Medicinskog fakulteta sveučilišta u Zagrebu. Svi bolesnici su prije uključanja u istraživanje potpisali odobreni Informirani pristanak (Prilog 1) uz prateću Obavijesti o istraživanju (Prilog 2).

Istraživanje je provedeno na Zavodu za kardijalnu i transplantacijsku kirurgiju i Klinici za anesteziologiju, reanimatologiju i intenzivno liječenje Kliničke bolnice Dubrava u razdoblju od 1.1.2013. do 12.5.2014.

3.2. Odabir bolesnika

U istraživanje su uključeni bolesnici kod kojih je predviđena elektivna operacija izolirane zamjene aortnog zaliska. U istraživanje nisu bili uključivani:

- bolesnici koji imaju pridruženu bolest koronarnih arterija
- bolesnici kod kojih je planiran dodatni zahvat na mitralnom zalisku
- bolesnici kod kojih je riječ o hitnoj operaciji ili reoperaciji
- bolesnici stariji od 80 godina
- bolesnici s poznatom bubrežnom ili jetrenom bolesti
- bolesnici s perifernom vaskularnom bolesti gornjih ekstremiteta
- bolesnici sa šećernom bolesti
- bolesnici kod kojih je u prijeoperacijskom razdoblju korišten levosimendan
- bolesnici s teškom hipertrofijom lijeve klijetke (debljina interventrikularnog septuma veća od 22mm)

3.3. Veličina uzorka i randomizacija

Prema podacima iz prethodne slične studije ¹⁶⁵, RIPC je visoko djelotvoran postupak: prosječna očekivana razlika između skupina u ukupnoj količini cTnI otpuštenog tijekom 72h nakon operacije iznosi 309,7 µg/l, sa standardnom devijacijom 50,8µg/l. Uz dvostrani test, $\alpha=5\%$ i snagu od 90%, dobivena je veličina uzorka od ukupno 22 bolesnika (11 po skupini). Navedeni broj uvećan je na 25 bolesnika po skupini.

Nakon uključjenja u studiju, bolesnici su pomoću računalno-generiranih randomizacijskih tablica randomizirani u dvije skupine: skupinu za udaljeno ishemijsko prekondicioniranje i kontrolnu skupinu. Randomizacijske tablice tijekom istraživanja pohranjene su od strane perfuzionista. Na dan operacije, nezavisni perfuzionist bi koristeći prvi neiskorišteni broj odredio kojoj skupini bolesnik pripada te izvršio udaljeno ishemijsko prekondicioniranje prema niže opisanom protokolu. Bolesnici, kardijalni kirurzi i anesteziolozi uključeni u liječenje bolesnika nisu bili upoznati s ishodom randomizacije.

3.4. Postupak

3.4.1. Protokol prekondicioniranja

Udaljeno ishemijsko prekondicioniranje (RIPC) potaknuto je primjenom 3 ciklusa ishemije nedominantne ruke postignute napuhavanjem manšete tlakomjera na 200 mmHg u trajanju od 5 minuta s 5 minuta reperfuzije kod koje je manšeta bila ispuhana¹⁴⁸. RIPC protokol je proveden nakon indukcije u anesteziju i prije početka kirurškog dijela operacije od strane nezavisnog perfuzionista Zavoda za kardijalnu i transplantacijsku kirurgiju KB Dubrava koji nije bio uključen u liječenje bolesnika ili u prikupljanje podataka

3.4.2. Kirurški postupak i vođenje stroja za izvantjelesni krvotok

Zamjena aortnog zaliska kod svih bolesnika je učinjena kroz punu medijanu sternotomiju, u normotermiji, na zaustavljenom srcu, uz korištenje hladne krvne kardioplegije prema Buckbergu (omjer 4:1)¹⁸¹. Nakon heparinizacije bolesnika te kanilacije uzlazne aorte i desnog atrija započelo bi se s radom stroja za izvantjelesni krvotok. Kroz gornju desnu pulmonalnu venu transmitralno je postavljen vent u apeks lijevog ventrikla. Indukcija dijastoličkog aresta postignuta je nakon klemanja aorte antegradnom primjenom kardioplegije putem kanile u korijenu aorte ili direktnom primjenom u koronarna ušća. Održavanje srčanog aresta postignuto je intermitentnom retrogradnom primjenom kardioplegije putem katetera u koronarnom sinusu. Zamjena aortnog zaliska učinjena je kroz kosu aortotomiju na standardni način: nakon ekscizije listića, temeljite dekalifikacije anulusa, postavljanja madrac šava s pledgetima s ventrikularne strane te nakon mjerenja anulusa, supraanularno bi se implantirala valvularna proteza. Aortotomija je zatvorena u dva sloja uz istovremeno položajno odzračivanje lijeve klijetke i uzlazne aorte. Nakon otpuštanja kleme i odgovarajuće reperfuzije, bolesnik bi se odvojio od stroja za izvantjelesni krvotok. Rezidualni heparin neutraliziran je protaminom, a sve kanile izvađene. Funkcija implantiranog zaliska provjerena je intraoperacijski korištenjem transezofagijskog ultrazvuka srca.

3.4.3. Anesteziološki postupak

Anesteziološki postupak bio je isti za sve ispitivane bolesnike. Svi bolesnici premedicirani su morfijem u dozi od 0.1mg/kg tjelesne težine IM sat vremena prije uvoda u anesteziju. Kod uvoda u anesteziju korišten je midazolam u dozi 0.1mg/kg tjelesne težine sa fentanilom u dozi 5-7 µg/kg TT, a mišićna relaksacija ostvarena je sa pankuronijem u dozi 0.1mg/kg. Nakon endotrahealne intubacije, anestezija je održavana kontinuiranom IV primjenom propofola u dozi 0.1-0.2 mg/kg/min. Inhalacijski anestetici nisu korišteni. Mišićna relaksacija održavana je dodatnim bolusima pankuronija 0.1mg/kg u intervalima od sat vremena. Intermitentna pozitivna tlačna ventilacija započeta je sa volumenom ventilacije od 8ml/kg TT i frekvencijom 12/min, te su kasnije prema potrebi modificirani parametri volumena i/ili frekvencije kako bi se vrijednosti pO₂ i pCO₂ održavale u fiziološkim granicama.

3.5. Prikupljanje podataka i laboratorijska analiza

Stupanj ishemijsko-reperfuzijskog oštećenja srčanog mišića procijenjen je analizom srčanog troponina I (cTnI), koji je biomarker ishemijske miokarda s najboljom prediktivnom vrijednosti u dijagnostici perioperacijskog infarkta miokarda ¹⁸². Za njegovo određivanje korištena je metoda dvostrane kemiluminiscencije (Access TnI+3, Beckman Coulter Inc, Galway, Irska) s rasponom detekcije 0,01–80,00 µg/L i s preporučenim dijagnostičkim rasponom 0,00–0,04 µg/L. Pri graničnoj vrijednosti od 0,04 µg/L dijagnostička osjetljivost je 84%, a dijagnostička specifičnost: 94%. Srčani troponin I određivan je prije operacije, 1h, 6h, 24h, 48h i 72h nakon operacije. U istim su vremenskim točkama određivani i kreatin kinaza (CK) te kreatin kinaza MB izoenzim (CK-MB).

Utjecaj udaljenog ishemijskog prekondicioniranja na postishemijsku funkciju srca utvrđen je određivanjem hemodinamskih parametara primjenom bolusne termodilucijske metode prije operacije, neposredno nakon operacije i 24 sata nakon operacije kod svih ispitanika. Određivani su srčana frekvencija, sistemni arterijski tlak, plućni arterijski tlak, središnji venski tlak, plućni okluzivni kapilarni tlak, minutni volumen srca, srčani indeks, udarni volumen srca, indeksirani udarni volumen srca, sistemni i plućni vaskularni otpor, radni indeks lijeve i desne klijetke. Također je praćena incidencija sindroma niskog minutnog volumena (LCOS) i učestalost korištenja intraaortalne balon pumpe (IABP).

Mjerenjem C reaktivnog proteina (CRP), biomarkera sistemskog upalnog odgovora prije operacije i 24, 48 i 72 sata nakon operacije istražena je korelacija RIPC i sustavnog upalnog odgovora.

Poslijeoperacijska sistolička funkcija lijeve klijetke (LVEF) određivana je tijekom redovitog kontrolnog ehokardiografskog pregleda bolesnika prije otpusta iz bolnice.

Svi prikupljeni podaci upisivani su u Obrazac ispitanika (Prilog 3 i 4). Utjecaj udaljenog ishemijskog prekondicioniranja na ishod liječenja procijenjen je usporedbom prospektivno prikupljenih kliničkih podataka iz baze podataka kardiokirurških bolesnika *CardioBase* o poslijeoperacijskom tijeku (dužina mehaničke

ventilacije, trajanje boravka u jedinici intenzivnog liječenja, trajanje boravka u bolnici, učestalost komplikacija, perioperacijska smrtnost).

3.6. Statistička analiza

Normalnost razdiobe kontinuiranih varijabli je s obzirom na mali broj ispitanika analizirana pomoću Shapiro-Wilk testa. Kontinuirane varijable prikazane su kao prosječna vrijednost \pm standardna devijacija, a kontinuirane varijable s nepravilnom razdiobom kao medijan s interkvartalnim rasponom.

Kod varijabli s normalnom razdiobom, statistička usporedba skupina provedena je koristeći se nezavisnim Studentovim t-testom. Kod varijabli koje nisu pokazale normalnu distribuciju, skupine su uspoređene neparametrijskim Mann-Whitney U testom.

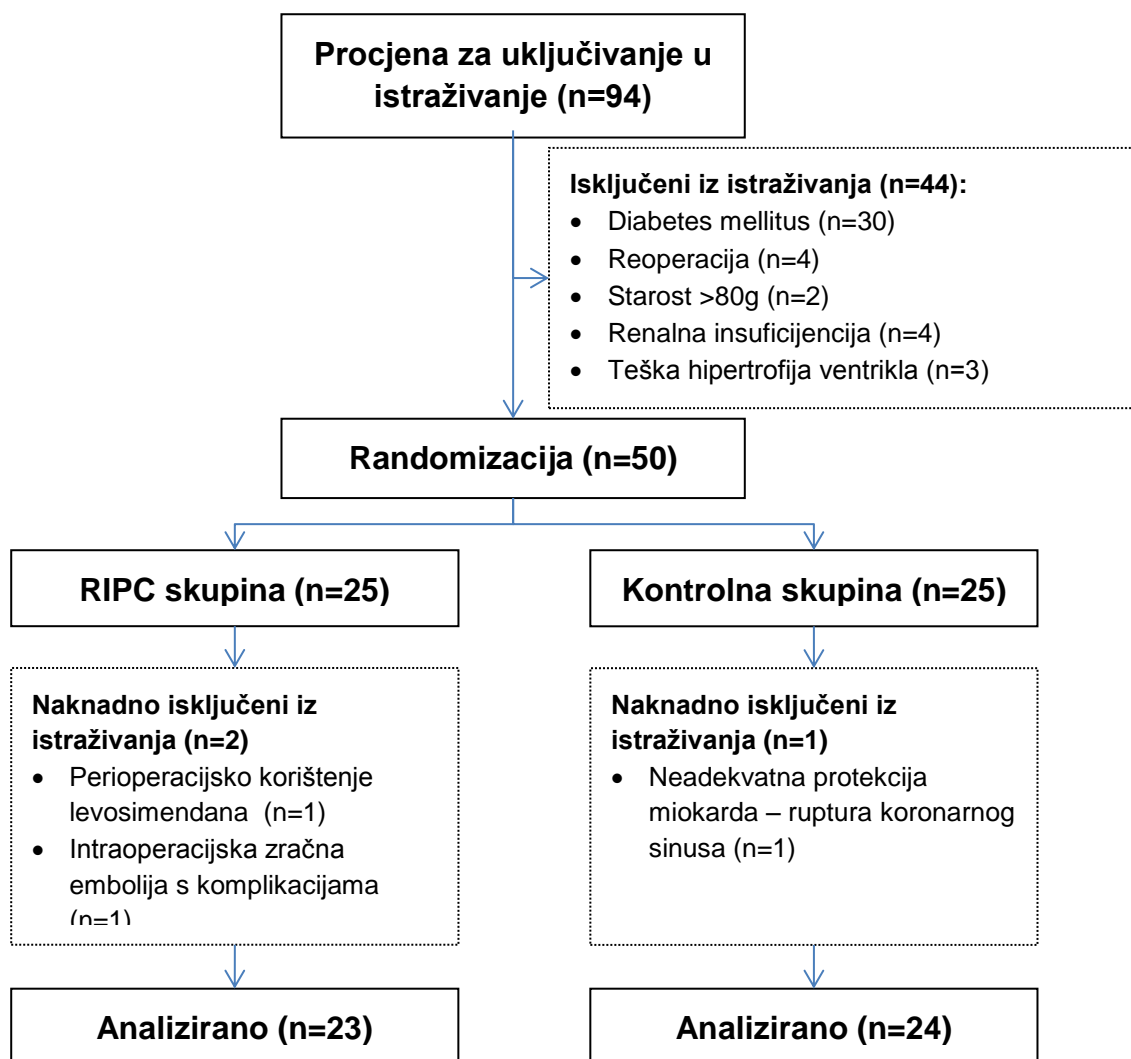
Površina pod krivuljom računata je za svakog bolesnika korištenjem trapezoidne metode. Ukupne količine cTi uspoređene su korištenjem Studentovog T-testa.

Nominalne varijable prikazane su kao broj i postotak, a za usporedbu skupina korišten je X kvadrat test ili Fisherov egzaktni test.

Svi navedeni statistički testovi provedeni su uz razinu statističke značajnosti od $p < 0,05$ uz korištenje računalnog statističkog programa Statistica (StatSoft, v11.0).

4. REZULTATI

Devedeset i četiri bolesnika planiranih za elektivni zahvat kirurške zamjene aortnog zaliska procijenjena su za uključenje u istraživanje. Pedeset bolesnika ispunilo je kriterije te je randomizirano u RPC skupinu i kontrolnu skupinu. Naknadno su iz istraživanja isključena 3 bolesnika. Kod jednog je neposredno prije operacije profilaktički u terapiju uveden levosimendan, kod jednog je tijekom operacije došlo do zračne embolije komplicirane infarktom miokarda i cerebrovaskularnim incidentom, a kod jedne bolesnice radi rupture koronarnog sinusa nije primijenjena adekvatna protekcija miokarda. Dijagram tijeka istraživanja prikazan je prema CONSORT 2010 smjernicama (Slika 1).



Slika 1. Dijagram tijeka kliničkog istraživanja (CONSORT 2010)

4.1. Prijeoperacijski podaci

Prijeoperacijske karakteristike bolesnika prikazane su u Tablici 2. Skupine su u potpunosti usporedive po pitanju starosti, spola, visine, tjelesne mase, tjelesne površine, indeksa tjelesne mase, NYHA statusa, procijenjenog kardiokirurškog rizika (logistički EuroSCORE i EuroSCORE 2), prisutnosti ekstrakardijalne arteriopatije, kronične opstruktivne bolesti pluća, otežane pokretljivosti, vrijednosti kreatinina u serumu i glomerularne filtracije.

Tablica 2. Prijeoperacijske karakteristike bolesnika

Prijeoperacijski podaci	RIPC (n=23)	kontrola (n=24)	p	
Starost (g)	67 (56; 75)	67,5 (60,5; 73)	0,841	
Ženski spol	10 (43%)	14 (58%)	0,387	
Visina (cm)	166 (156; 173)	164,5 (161; 172)	0,604	
Tjelesna masa (kg)	76 (67; 87)	76,5 (65; 83,5)	0,491	
Tjelesna površina (m ²)	1,83 (1,77; 2,03)	1,87 (1,71; 1,99)	0,710	
Indeks tjelesne mase (kg/m ²)	28,1 (24,7; 31,7)	27,9 (25,1; 29,1)	0,201	
NYHA status:	NYHA I	0 (0%)	0 (0%)	0,188
	NYHA II	2 (8%)	4 (17%)	
	NYHA III	17 (71%)	18 (78%)	
	NYHA IV	5 (21%)	1 (4%)	
EuroScore logistički (%)	3,1 (1,8; 5,8)	3,7 (2,9; 5,3)	0,588	
EuroScore 2 (%)	1,1 (0,8; 2)	1,5 (0,9; 2,1)	0,390	
Ekstrakardijalna arteriopatija	1 (4%)	2 (9%)	0,609	
Otežana pokretljivost	1 (4%)	1 (4%)	1,000	
Kronična opstruktivna bolest pluća	4 (17%)	1 (4%)	0,348	
Kreatinin u serumu (μmol/L)	92 (86; 98)	91 (78,55; 101)	0,901	
Glomerularna filtracija (mL/min)	71 (61,6; 90,3)	65,7 (54,1; 83,3)	0,292	

Vrijednosti mjerenja prijeoperacijskog ultrazvuka srca (transtorakalna ehokardiografija) prikazane su u Tablici 3. Svi bolesnici osim jednog operirani su radi aortne stenoze s manjim ili većim stupnjem aortne regurgitacije. Jedan bolesnik u RIPC skupini operiran je zbog izolirane aortne insuficijencije te se time može objasniti razlika između skupina u medijanu vršnog tlaka nad aortnim zaliskom. U svim ostalim vrijednostima (srednji gradijent nad aortnim zaliskom, stupanj aortne regurgitacije,

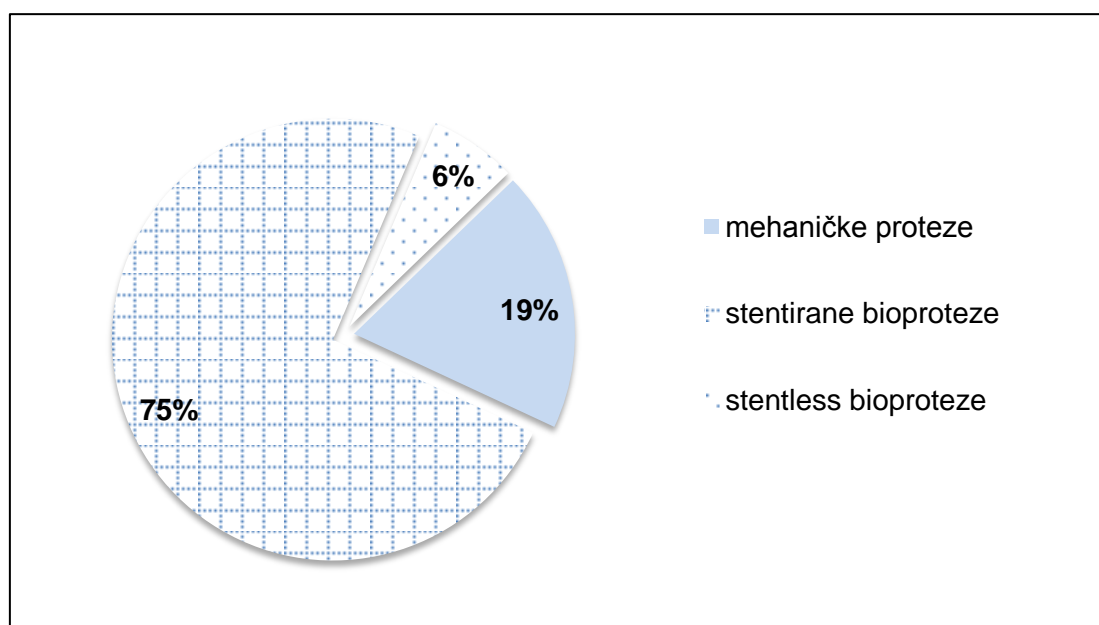
enddiastolički promjer lijeve klijetke (LVEDd), debljina interventikularnog septuma i stražnje stijenke lijeve klijetke te ejekcijska frakcija lijeve klijetke) nije bilo statistički značajne razlike između skupina.

Tablica 3. Prijeoperacijski UZV srca

Prijeoperacijski UZV srca	RIPC (n=23)	kontrola (n=24)	p
Aortna stenoza	22 (96%)	24 (100%)	0,302
Vršni gradijent nad aortnim zaliskom (mmHg)	80,5 (73; 101)	100 (87; 117)	0,053
Srednji gradijent nad aortnim zaliskom (mmHg)	49,5 (40,7; 60,5)	55 (47,5; 69)	0,278
Aortna regurgitacija: bez (0)	5 (22%)	9 (38%)	0,542
blaga (1+)	11 (48%)	6 (25%)	
umjerena (2+)	3 (13%)	5 (21%)	
teška (3+)	2 (9%)	2 (8%)	
n/a	2 (9%)	2 (8%)	
LVEDd - enddiastolički promjer lijeve klijetke (mm)	52 (46; 57)	50 (49; 53)	0,668
IVS - debljina interventikularnog septuma (mm)	15 (14; 16)	15,5 (15; 16)	0,236
LVPW - debljina stražnje stijenke lijeve klijetke (mm)	14 (13; 16)	15 (13; 16)	0,415
LVEF- ejekcijska frakcija lijeve klijetke (%)	60 (56; 70)	63 (55; 65)	0,084

4.2. Intraoperacijski podaci

Kod svih bolesnika učinjena je zamjena aortnog zaliska umjetnim. Kod jednog bolesnika je radi rascjepa stanjene aorte dodatno suprakomisuralno zamijenjena uzlazna aorta. Ugrađeno je 9 mehaničkih valvularnih proteza (19%), 35 stentiranih bioproteza (74%) i 3 *stentless* bioproteze (6,4%). Podaci o trajanju operacije, trajanju izvantjelesnog krvotoka, trajanju ishemije srca, trajanju reperfuzije te broju defibrilacija prikazani su u Tablici 4. Između promatranih skupina nije bilo statistički značajne razlike.



Slika 2. Vrste ugrađenih valvularnih proteza

Tablica 4. Intraoperacijski podaci

Intraoperacijski podaci	RIPC (n=23)	kontrola (n=24)	p
Trajanje izvantjelesnog krvotoka (min)	79 (71; 92)	76,5 (66,5; 94)	0,906
Trajanje ishemije srca (min)	50 (46; 54)	50,5 (41; 62)	0,651
Trajanje reperfuzije (min)	21 (15; 27)	20 (16; 24)	0,728
Trajanje operacije (min)	178 (167; 205)	183,5 (169; 196)	0,443
Broj defibrilacija	1 (0; 1)	1 (0; 1,5)	0,345

4.3. Ishemijsko–reperfuzijska ozljeda

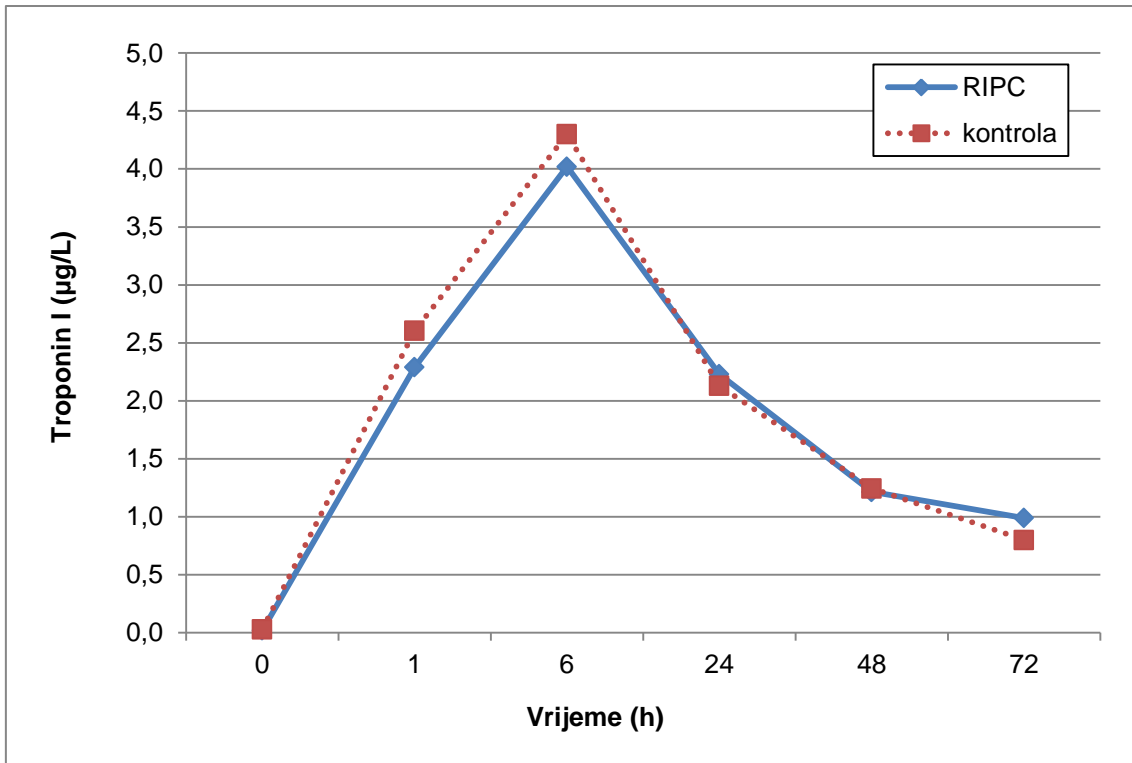
Vrijednosti pokazatelja (markera) ishemijsko-reperfuzijske ozljede miokarda prikazane su u Tablici 5 u svim vremenskim točkama uzorkovanja (T0 – prije operacije, T1 – sat vremena nakon operacije, T2 – 6h nakon operacije, T3 - 24h nakon operacije, T4 – 48h nakon operacije, T5 – 72h nakon operacije), zatim ukupna količina otpuštena tijekom 72 h i vršna vrijednost.

Vrijednosti troponina I (cT1), kreatin kinaze (CK) i izoenzima CK-MB nisu se razlikovale među promatranim skupinama u svim vremenskim točkama izmjere. Vršne vrijednosti navedenih markera ishemijsko-reperfuzijske ozljede također se nisu razlikovale među skupinama. Medijan ukupne količine troponina I tijekom 72h u skupini RIPC iznosio je 141,6 µg/L (127,3; 189,1), a u kontrolnoj skupini 156,7 µg/L (106,3; 228,9). Navedeno smanjenje u RIPC skupini od 9.6% nije statistički značajno ($p=0,976$).

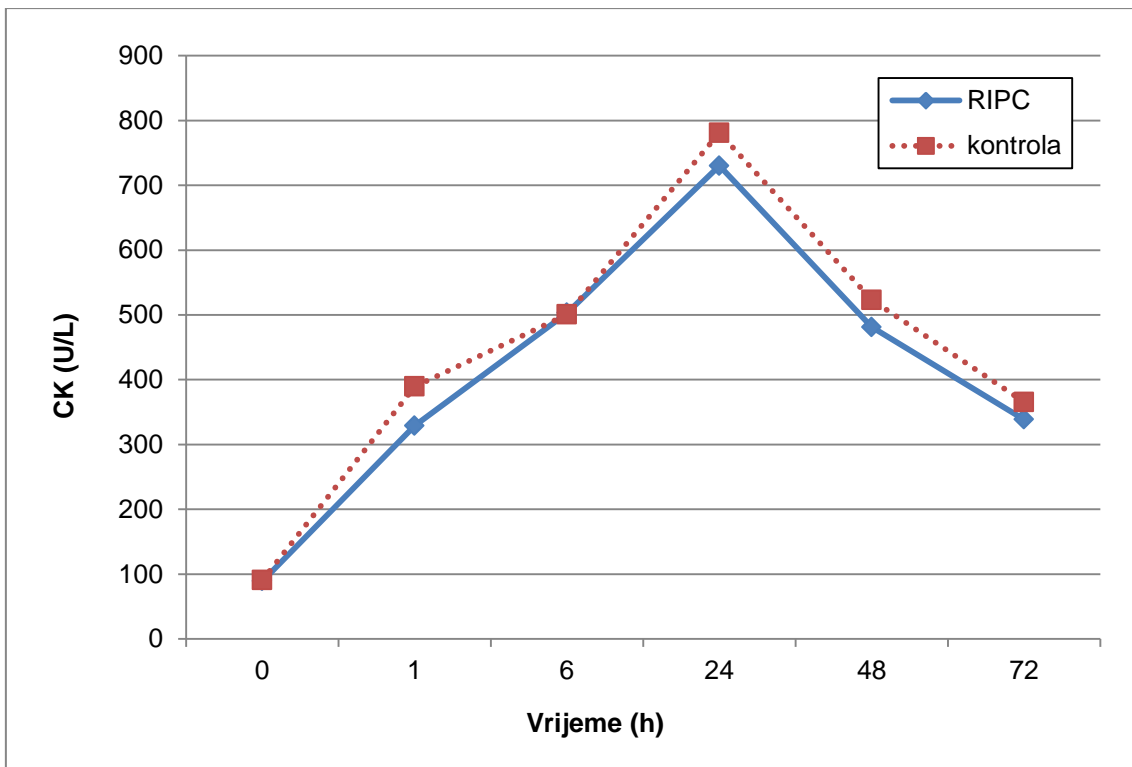
Na Slikama Slikama 3-5. grafički su prikazane vrijednosti troponina I, kreatin kinaze i MB izoenzima kreatin kinaze (CK-MB) kroz vremenski period od 72 h od operacije.

Tablica 5. Markeri ishemijsko-reperfuzijske ozljede (cTI – troponin I, CK – kreatin kinaza; CK-MB – kreatin kinaza MB izoenzim, AUC – eng. *area under curve*, površina ispod krivulje; T0 – prije operacije, T1 – sat vremena nakon operacije, T2 – 6h nakon operacije, T3 - 24h nakon operacije, T4 – 48h nakon operacije, T5 – 72h nakon operacije)

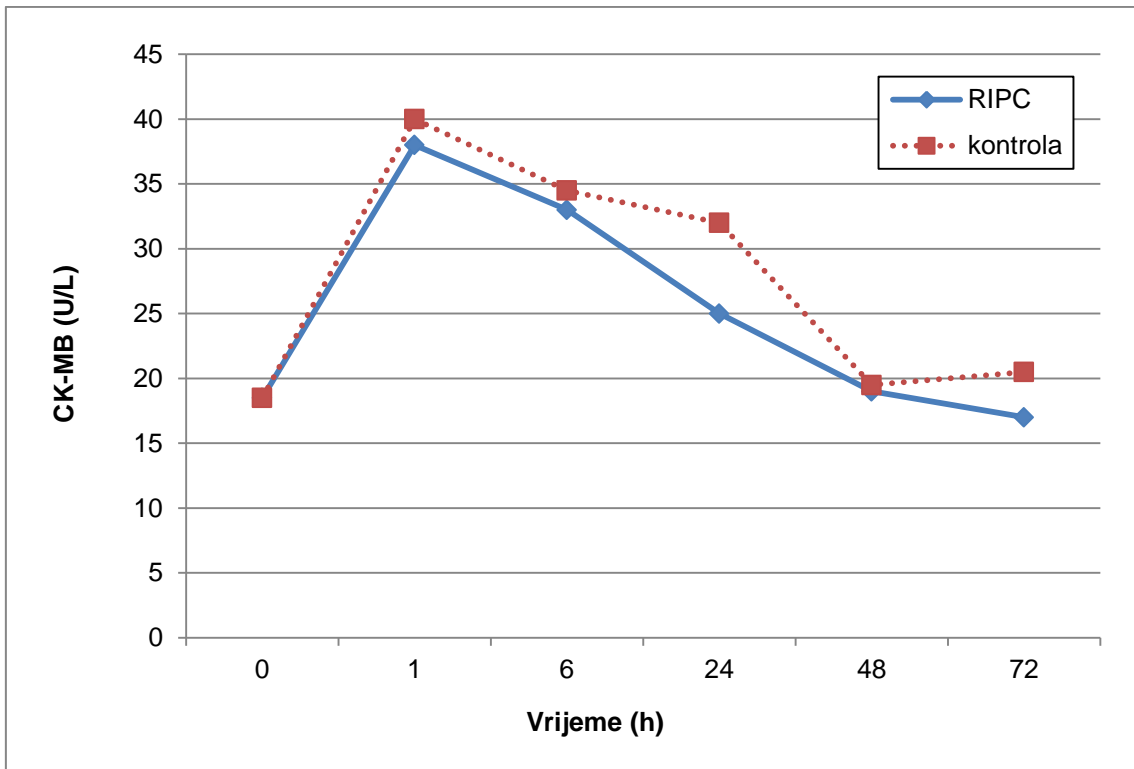
Biomarker	RIPC (n=23)	kontrola (n=24)	p
cTI - T0 (µg/L)	0,02 (0,01; 0,02)	0,03 (0,02; 0,06)	0,102
cTI - T1 (µg/L)	2,29 (1,05; 3,92)	2,61 (1,8; 3,23)	0,594
cTI - T2 (µg/L)	4,02 (2,34; 4,67)	4,3 (3,32; 6,77)	0,754
cTI - T3 (µg/L)	2,23 (1,67; 3,17)	2,13 (1,39; 3,5)	0,540
cTI - T4 (µg/L)	1,22 (1,04; 2,14)	1,25 (0,85; 1,86)	0,645
cTI - T5 (µg/L)	0,99 (0,55; 1,45)	0,8 (0,51; 1,54)	0,335
cTI - AUC (µg/L)	141,6 (127,3; 189,1)	156,65 (106,3; 228,9)	0,976
cTI - vršna vrijednost (µg/L)	4,34 (3,41; 5,15)	4,54 (3,35; 7,35)	0,940
CK - T0 (U/L)	89 (62; 172)	90,5 (64; 131,5)	0,551
CK - T1 (U/L)	329 (286; 622)	389,5 (262; 529)	0,845
CK - T2 (U/L)	503 (352; 778)	500,5 (355,5; 704,5)	0,245
CK - T3 (U/L)	730 (568; 1057)	781 (452; 1084)	0,502
CK - T4 (U/L)	481 (358; 758)	523 (306; 739,5)	0,486
CK - T5 (U/L)	338,5 (266; 586)	365,5 (217; 570)	0,749
CK - AUC (U/L)	38426 (31179,5; 73345,5)	42617 (27160,5; 57328,8)	0,429
CK - vršna vrijednost (U/L)	730 (568; 1629)	817 (632,5; 1182)	0,426
CK-MB - T0 (U/L)	18,5 (13,5; 24)	18,5 (12; 25)	0,970
CK-MB - T1 (U/L)	38 (25; 44)	40 (33; 48)	0,132
CK-MB - T2 (U/L)	33 (26; 36)	34,5 (27; 41)	0,922
CK-MB - T3 (U/L)	25 (20; 40)	32 (23; 38)	0,650
CK-MB - T4 (U/L)	19 (15; 26)	19,5 (15; 25,5)	0,496
CK-MB - T5 (U/L)	17 (13; 21)	20,5 (15; 24)	0,510
CK-MB - AUC (U/L)	1602 (1394,5; 2066)	1916,75 (1498,5; 2232,5)	0,873
CK-MB - vršna vrijednost (U/L)	42 (33; 50)	42 (35; 50)	0,524



Slika 3. Troponin I (cTI) u vremenu



Slika 4. Kreatin kinaza (CK) u vremenu



Slika 5. Kreatin kinaza - MB izoenzim u vremenu

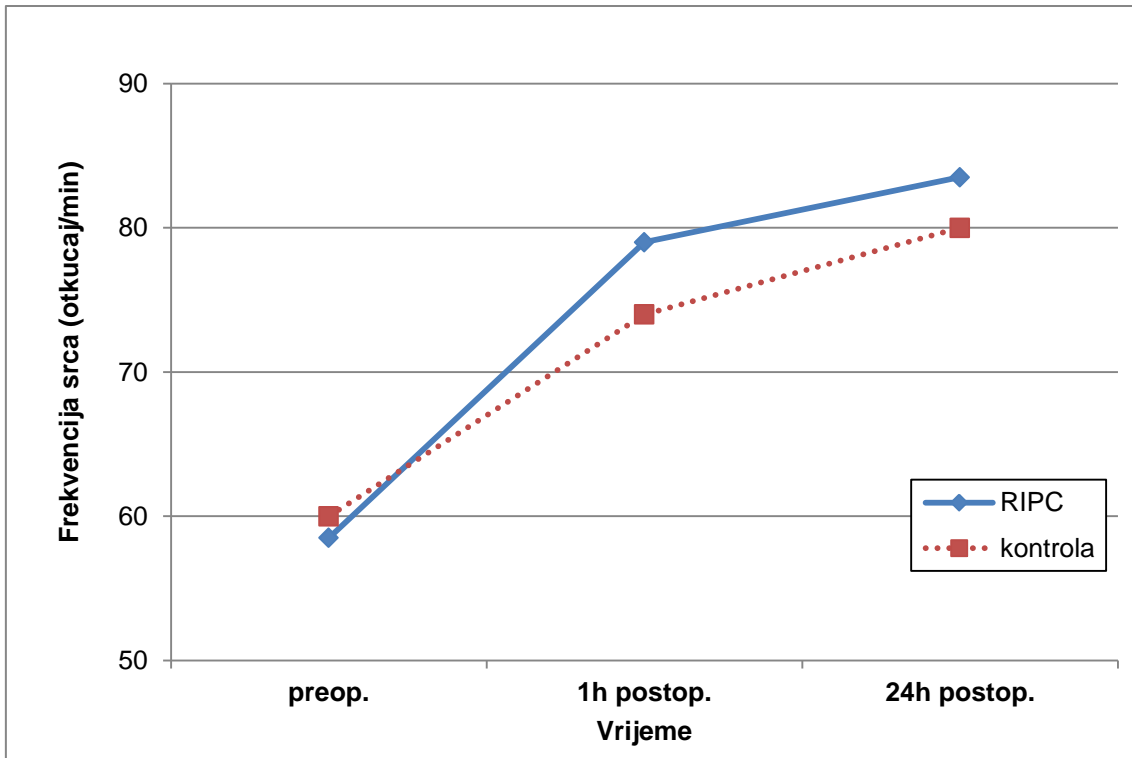
4.4. Hemodinamski pokazatelji

Hemodinamski parametri određivani su prije sternotomije (T0), u jedinici intenzivnog liječenja 1h nakon operacije (T1) i 24h nakon operacije (T2). Rezultati su prikazani u Tablici 6. te Slikama 6-15.

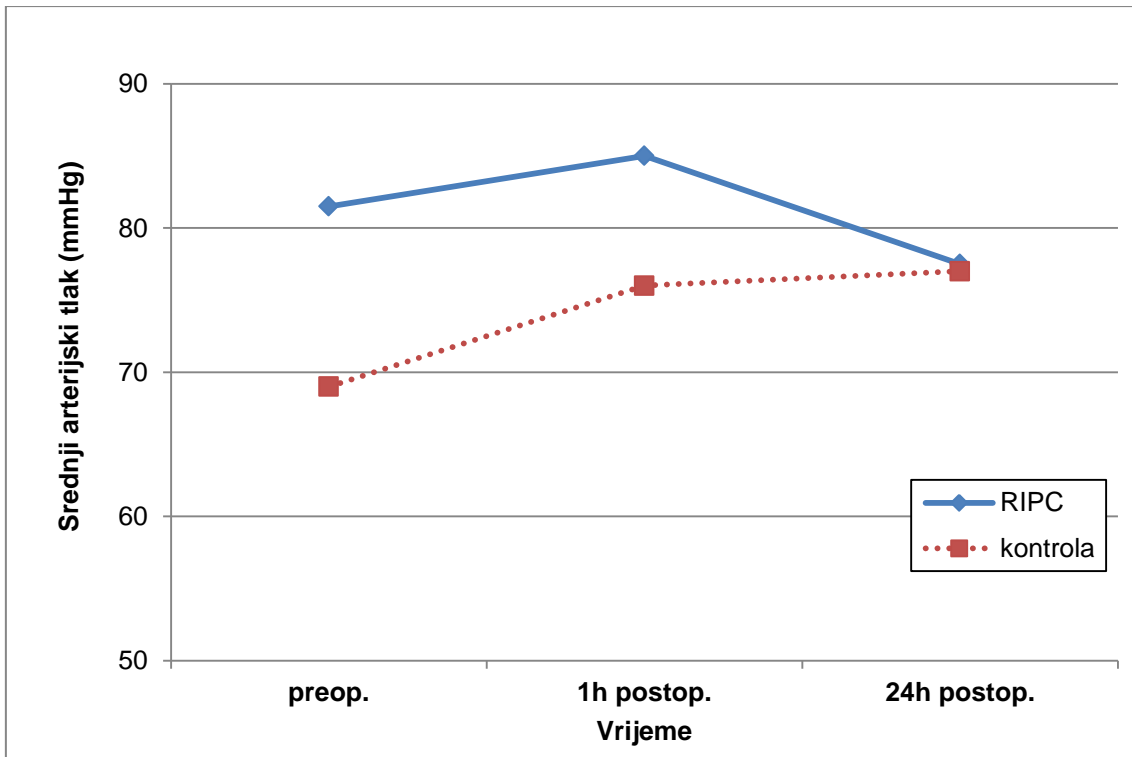
Tablica 6. Hemodinamski pokazatelji (T0 – prije operacije, T1 – 1h nakon operacije, T2 – 24h nakon operacije)

Hemodinamski pokazatelj		RIPC (n=23)	kontrola (n=24)	p
Srčana frekvencija (otkucaj/min)	T0	59 (53; 70)	60 (49; 70)	0,763
	T1	79 (65; 88)	74 (69; 83)	0,914
	T2	84 (77; 91)	80 (70; 91)	0,508
Sistolički arterijski tlak (mmHg)	T0	118 (110; 129)	107 (94; 122)	0,123
	T1	130 (112; 133)	114 (107; 135)	0,138
	T2	122 (115; 136)	118 (112; 130)	0,307
Dijastolički arterijski tlak (mmHg)	T0	60 (57; 70)	56 (50; 64)	0,162
	T1	63 (57; 71)	58 (52; 70)	0,158
	T2	57 (50; 62)	57 (53; 63)	0,752
Srednji arterijski tlak (mmHg)	T0	82 (76; 93)	69 (61; 83)	0,015
	T1	85 (73; 91)	76 (66; 87)	0,137
	T2	78 (69; 82)	77 (69; 83)	0,942
Sistolički plućni arterijski tlak (mmHg)	T0	30 (26; 35)	33 (27; 39)	0,347
	T1	30 (26; 33)	30 (27; 35)	0,575
	T2	30 (27; 34)	33 (30; 38)	0,011
Dijastolički plućni arterijski tlak (mmHg)	T0	18 (14; 21)	18 (15; 23)	0,310
	T1	16 (14; 20)	16 (13; 19)	0,613
	T2	15 (13; 17)	17 (13; 20)	0,050
Srednji plućni arterijski tlak (mmHg)	T0	23 (19; 28)	25 (20; 29)	0,268
	T1	22 (18; 24)	22 (18; 26)	0,881
	T2	21 (19; 23)	23 (20; 27)	0,023
Središnji venski tlak (mmHg)	T0	12 (11; 16)	13 (11; 15)	0,828
	T1	11 (9; 13)	11 (8; 13)	0,523
	T2	10 (7; 12)	11 (10; 14)	0,020
Plućni okluzivni kapilarni tlak (mmHg)	T0	17 (15; 22)	22 (17; 25)	0,021
	T1	17 (13; 21)	18 (14; 22)	0,641
	T2	15 (13; 17)	18 (17; 22)	0,097

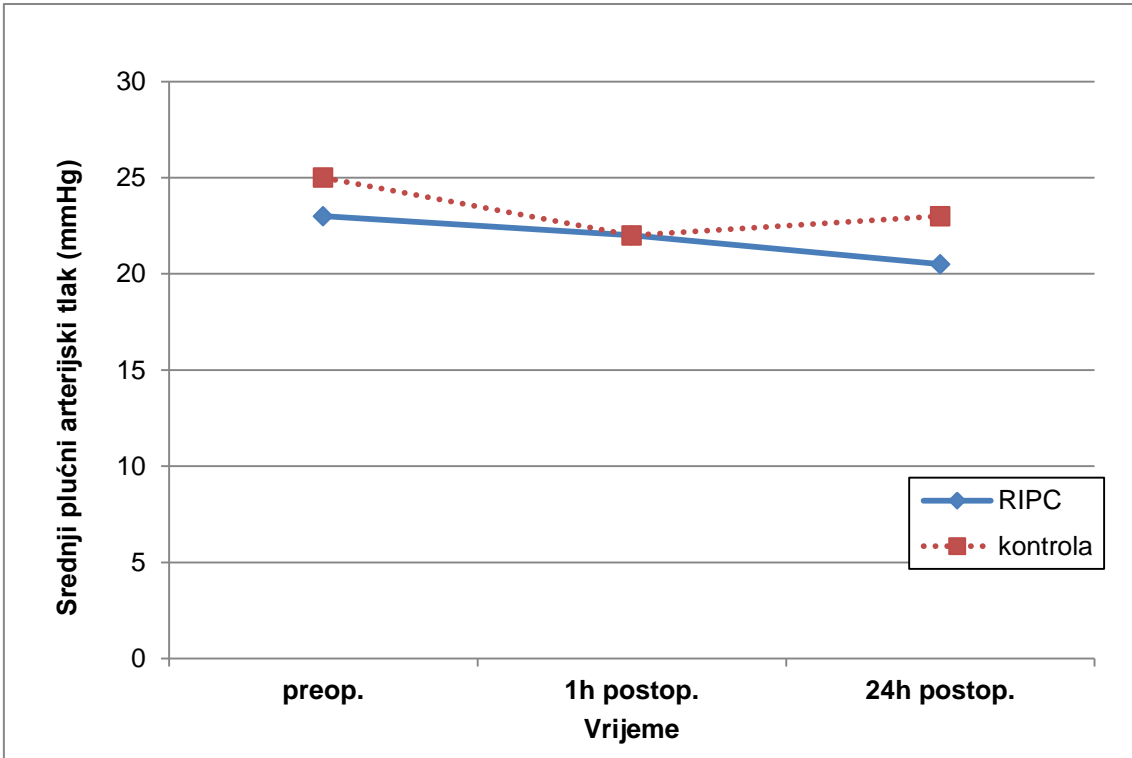
Hemodinamski pokazatelj		RIPC (n=23)	kontrola (n=24)	p
Minutni volumen srca (L/min)	T0	3 (2,5; 3,8)	3,3 (3; 4,1)	0,208
	T1	3,6 (3,1; 4,9)	3,8 (3,2; 5)	0,447
	T2	5,3 (4; 5,9)	5,2 (4,2; 6,3)	0,349
Srčani indeks (L/min/m ²)	T0	1,8 (1,5; 2)	1,9 (1,6; 2,2)	0,063
	T1	2 (1,8; 2,4)	2,1 (1,7; 2,6)	0,298
	T2	2,7 (2,3; 3)	2,9 (2,2; 3,5)	0,202
Udarni volumen srca (mL)	T0	52,9 (41,7; 72,9)	62,8 (54,1; 82,9)	0,096
	T1	53,2 (38,3; 60,4)	50 (43; 74,6)	0,212
	T2	57,9 (44,2; 74)	61,8 (51,2; 72,6)	0,693
Indeksirani udarni volumen srca (mL/m ²)	T0	30,7 (24,9; 37,2)	33,9 (27,4; 42,9)	0,137
	T1	28,5 (21,9; 32,9)	29,6 (24,6; 37)	0,087
	T2	31 (25,8; 37,6)	34,2 (30,1; 37,4)	0,237
Plućni vaskularni otpor (dynes·s/cm ⁵)	T0	133 (59; 171)	94 (28; 185)	0,543
	T1	181 (77; 233)	97 (71; 175)	0,242
	T2	87 (44; 112)	86 (46; 155)	0,377
Sistemni vaskularni otpor (dynes·s/cm ⁵)	T0	1568 (1244; 1985)	1435 (1039; 1627)	0,437
	T1	1552 (1101; 1726)	1339 (971; 1824)	0,306
	T2	1057 (835; 1207)	1038 (811; 1199)	0,532
Radni indeks lijeve klijetke (g·m/m ²)	T0	23,05 (16,8; 29,3)	24,8 (16,8; 32,2)	0,484
	T1	23 (20,6; 28,9)	25,8 (20; 32)	0,350
	T2	23,6 (19,35; 30,1)	27 (23,3; 33,1)	0,418
Radni indeks desne klijetke (g·m/m ²)	T0	3,4 (2,4; 4,4)	4,8 (3,6; 7,4)	0,014
	T1	3,55 (2,85; 4,6)	5 (3,3; 6,6)	0,011
	T2	4 (3,35; 4,5)	4,6 (3,7; 6,8)	0,059



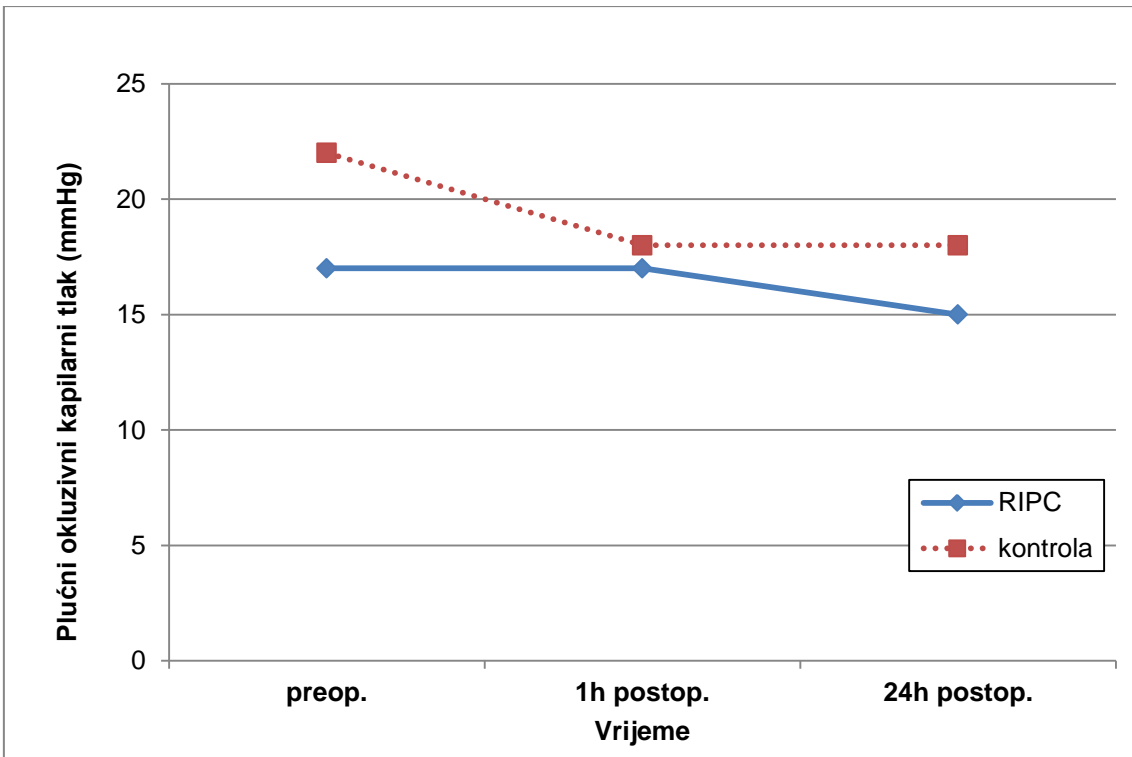
Slika 6. Srčana frekvencija



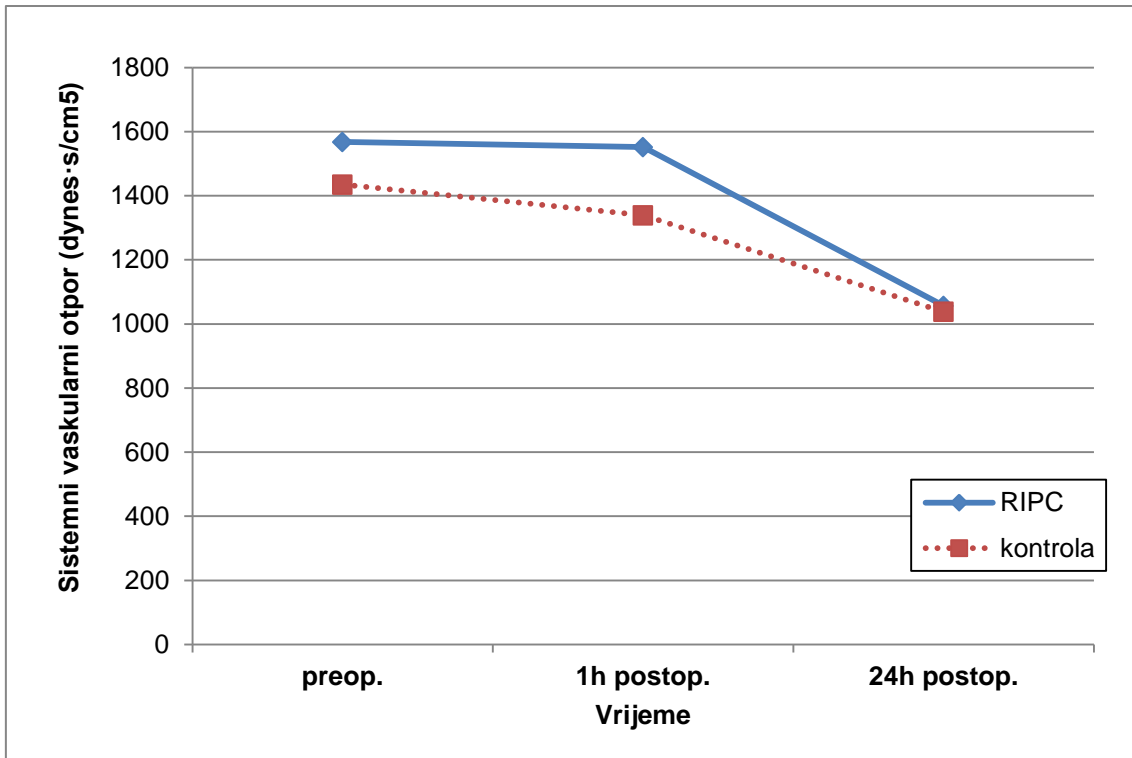
Slika 7. Srednji arterijski tlak



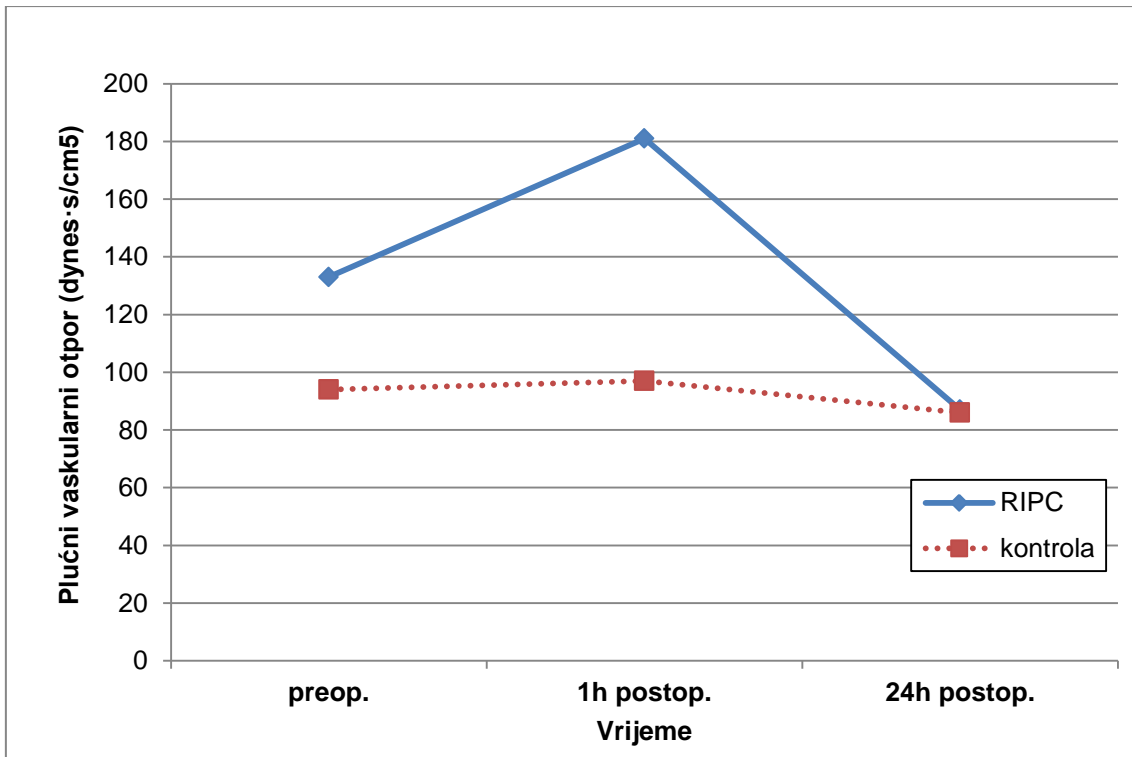
Slika 8. Srednji plućni arterijski tlak



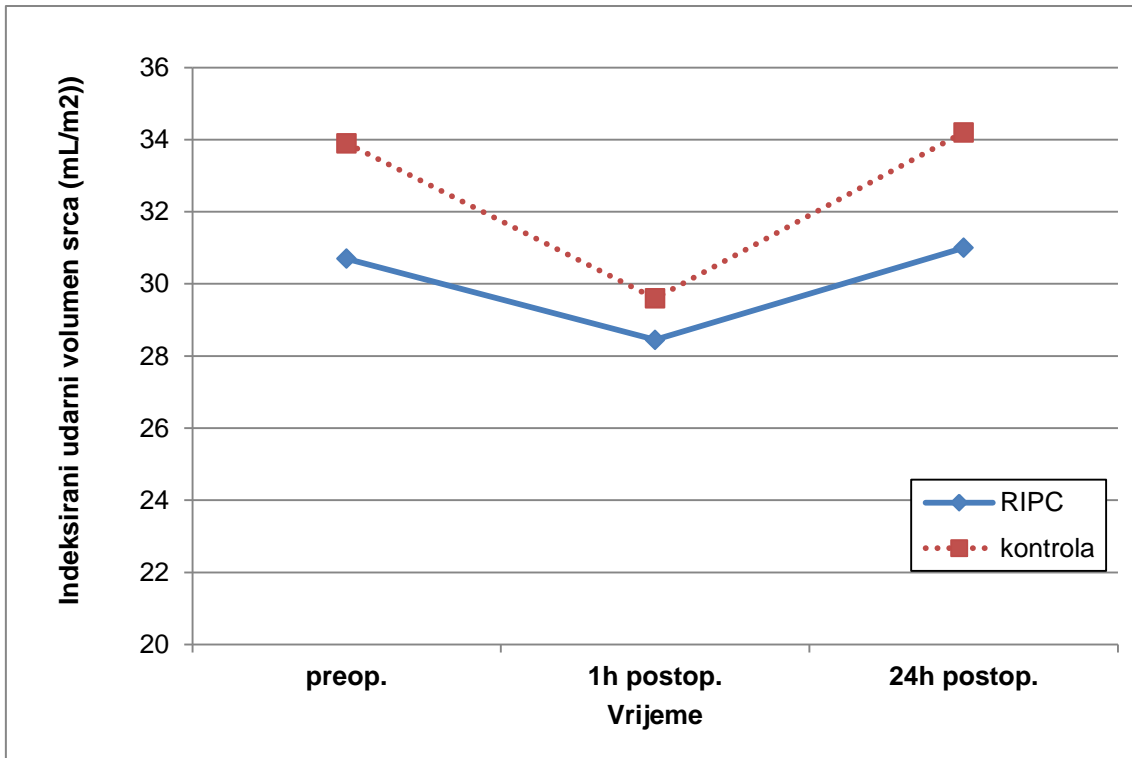
Slika 9. Plućni okluzivni kapilarni tlak



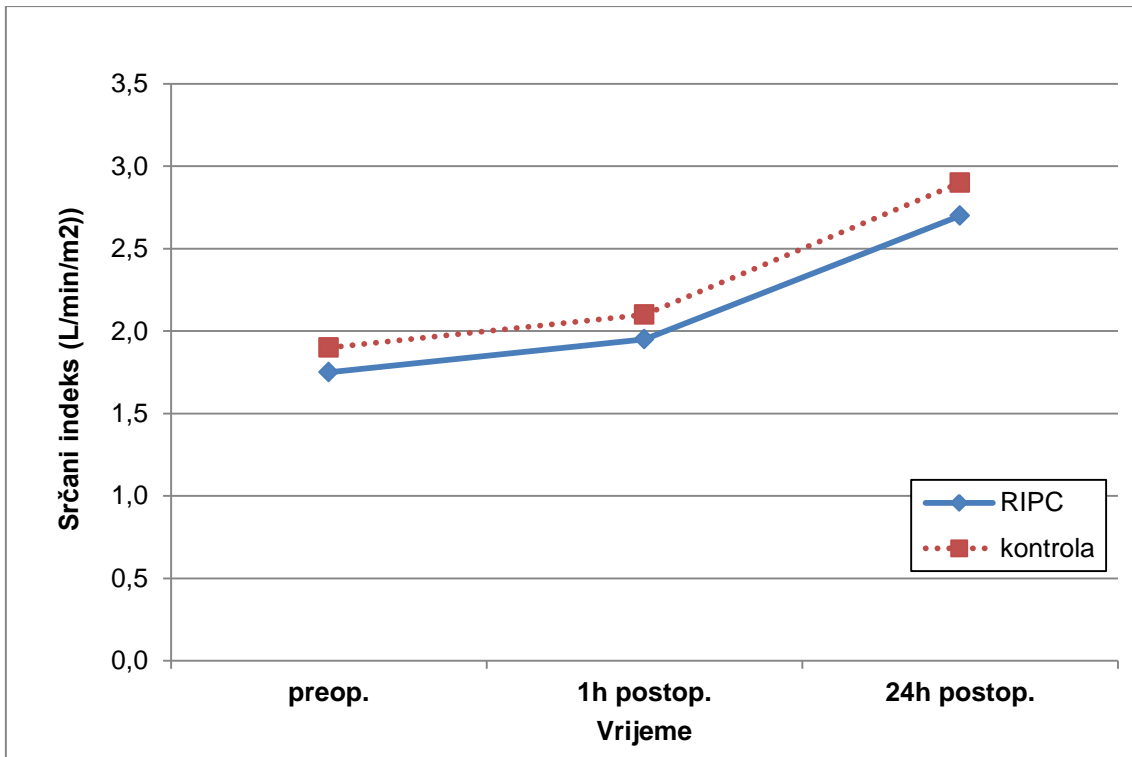
Slika 10. Sistemni vaskularni otpor



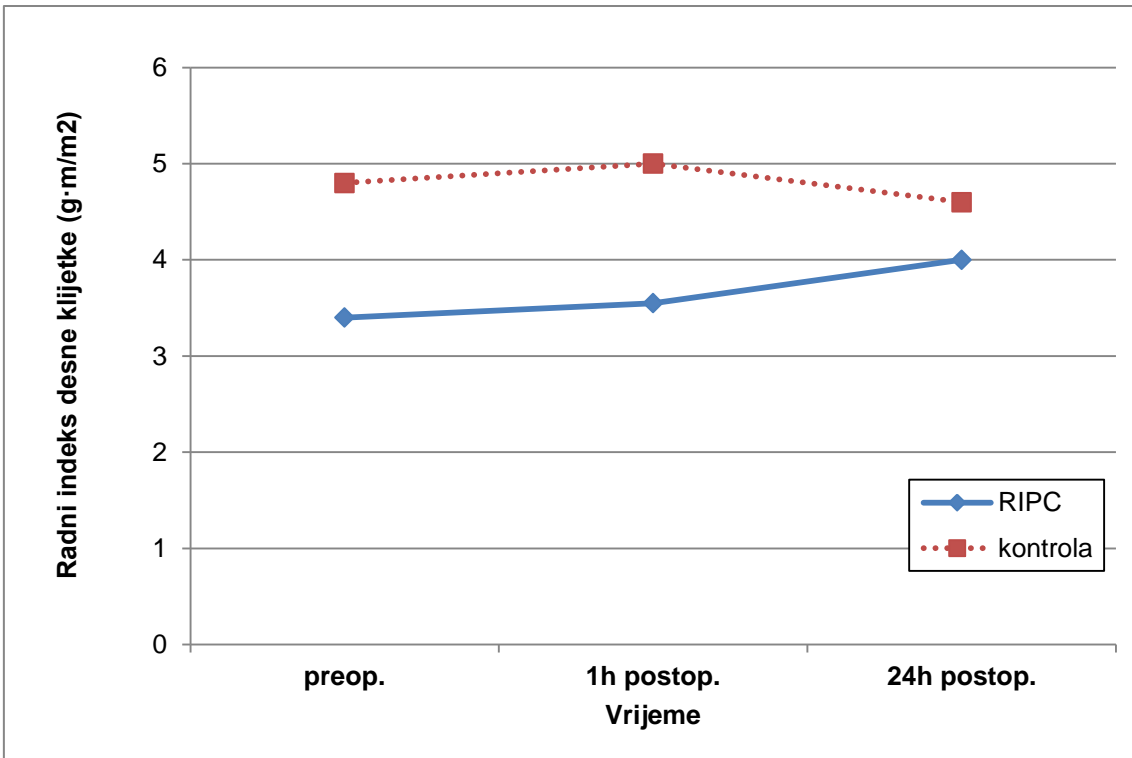
Slika 11. Plućni vaskularni otpor



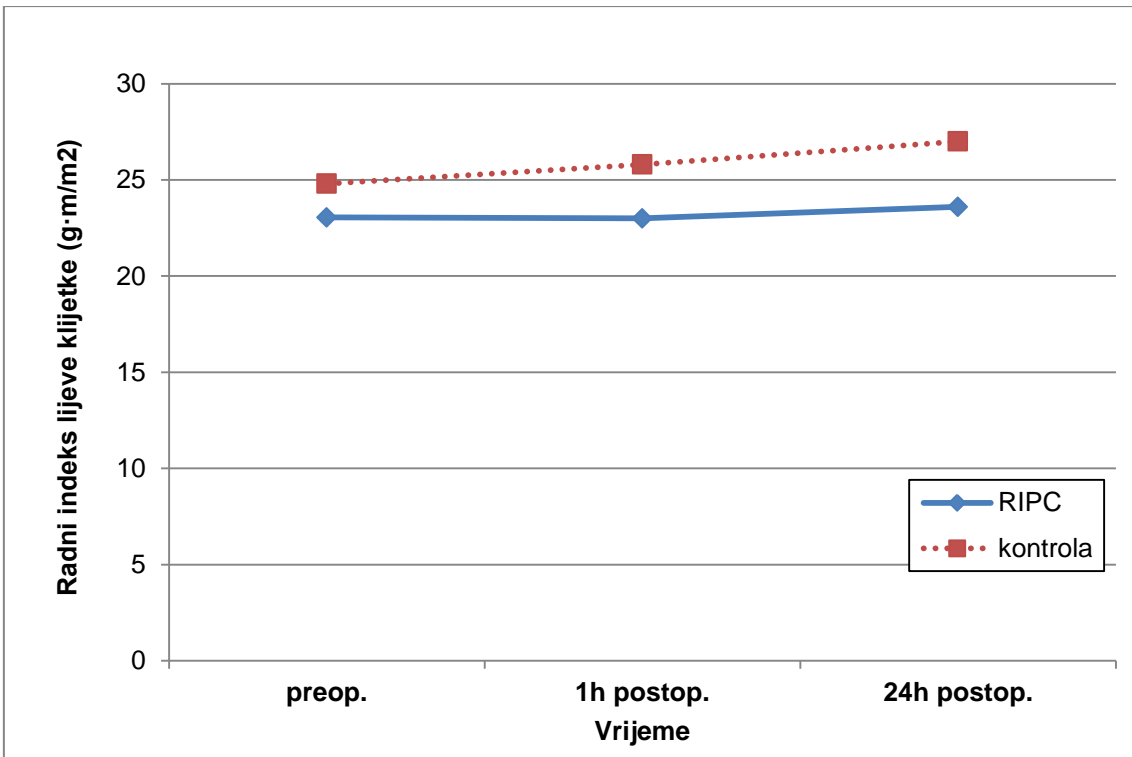
Slika 12. Indeksirani udarni volumen srca



Slika 13. Srčani indeks



Slika 14. Radni indeks desne klijetke



Slika 15. Radni indeks lijeve klijetke

4.5. Klinički ishod

Podaci o kliničkom ishodu prikazani su u Tablici 7. Zabilježen je jedan smrtni ishod: u kontrolnoj skupini bolesnica je umrla 6. poslijeoperacijskog dana pod kliničkom slikom multiorganskog zatajenja uslijed bronhopneumonije sa sepsom uzrokovane bakterijama *Pseudomonas aeruginosa* i *Escherichia coli*. Bolesnici u kontrolnoj skupini imali su duže prosječno trajanje mehaničke ventilacije u odnosu na RIPC skupinu (19.5h vs. 11.6h) i u većem postotku zahtijevali inotropnu potporu (48% vs 21%), ali te razlike nisu dosegle statistički značaj. Među promatranim skupinama nije bilo razlike po pitanju trajanja boravka u jedinici intenzivnog liječenja i ukupnog poslijeoperacijskog boravka, incidenciji sindroma niskog minutnog volumena, korištenja intraaortalne balon pumpe (IABP), mortaliteta, multiorganskog zatajenja, renalne insuficijencije, cerebrovaskularnog infarkta, delirija, revizija radi krvarenja, tamponade perikarda, septikemije, uroinfekcije, pneumonije, infekcija sternalne rane, privremenog AV bloka i fibrilacije atrijske.

Tablica 7. Podaci o kliničkom ishodu

Klinički pokazatelji	RIPC (n=23)	kontrola (n=24)	p
Trajanje mehaničke ventilacije (h)	11,6 (10,2; 20)	19,5 (10,7; 20,95)	0,095
Trajanje boravka u JIL (h)	45,5 (44,5; 46,5)	46 (45; 47,25)	0,172
Trajanje poslijeoperacijskog boravka (d)	9 (8; 13)	9,5 (8,5; 11,5)	0,560
Inotropna potpora	5 (21%)	11 (48%)	0,051
Sindrom niskog minutnog volumena (LCOS)	0 (0%)	0 (0%)	
Intraaortalna balon pumpa (IABP)	0 (0%)	0 (0%)	
Komplikacije	14 (61%)	13 (54%)	0,642
Smrt	0 (0%)	1 (4%)	0,322
Multiorgansko zatajenje	0 (0%)	1 (4%)	0,322
Renalna insuficijencija	0 (0%)	2 (8%)	0,157
CVI (trajni)	0 (0%)	0 (0%)	
CVI (prolazni)	0 (0%)	0 (0%)	
Delirij	2 (9%)	1 (4%)	0,525
Revizija radi krvarenja	1 (4%)	3 (13%)	0,317
Tamponada perikarda	0 (0%)	0 (0%)	
Septikemija	1 (4%)	1 (4%)	0,975
Uroinfekcija	2 (9%)	3 (13%)	0,672
Pneumonija	1 (4%)	1 (4%)	0,975
Infekcija sternalne rane - površinska	0 (0%)	0 (0%)	
Infekcija sternalne rane - duboka	0 (0%)	0 (0%)	
AV blok (privremeni)	1 (4%)	2 (8%)	0,576
Fibrilacija atrijska	8 (35%)	10 (42%)	0,627

4.6. Poslijeoperacijski ultrazvuk srca

Vrijednosti mjerenja poslijeoperacijskog ultrazvuka srca (transtorakalna ehokardiografija) prikazane su u Tablici 8. U vrijednostima vršnog i srednjeg gradijenta nad aornim zaliskom, stupnja aortne regurgitacije, enddiastoličkog promjera lijeve klijetke (LVEDd) te ejekcijske frakcije lijeve klijetke nije bilo statistički značajne razlike između skupina. Statistički značajna razlika postoji u debljini interventrikularnog septuma i stražnje stijenke lijeve klijetke.

Tablica 8. Poslijeoperacijski UZV srca

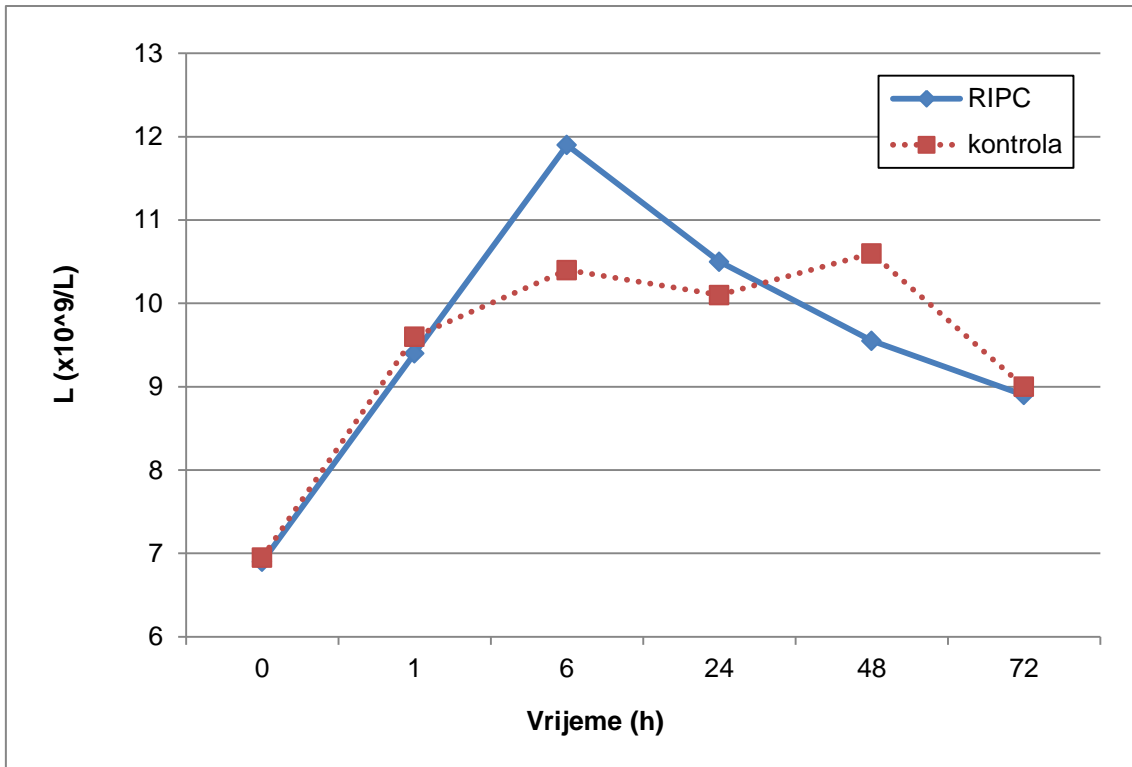
	RIPC (n=23)	kontrola (n=24)	p
Vršni gradijent nad aornim zaliskom (mmHg)	29,4 (26; 34)	30 (22; 37)	0,638
Srednji gradijent nad aornim zaliskom (mmHg)	16,1 (14; 20)	16,4 (12; 20)	0,876
Aortna regurgitacija:	bez regurgitacije (0)	21 (88%)	0,461
	blaga (1+)	3 (13%)	
	5 (22%)		
LVEDd - enddiastolički promjer lijeve klijetke (mm)	48 (43; 55)	48 (45; 52)	0,544
IVS - debljina interventrikularnog septuma (mm)	13 (12; 15)	16 (14; 17)	0,016
LVPW - debljina stražnje stijenke lijeve klijetke (mm)	13 (11; 16)	16 (14; 17)	0,009
LVEF- ejekcijska frakcija lijeve klijetke (%)	58 (52; 65)	57,5 (54,5; 61)	0,730

4.7. Sustavni upalni odgovor

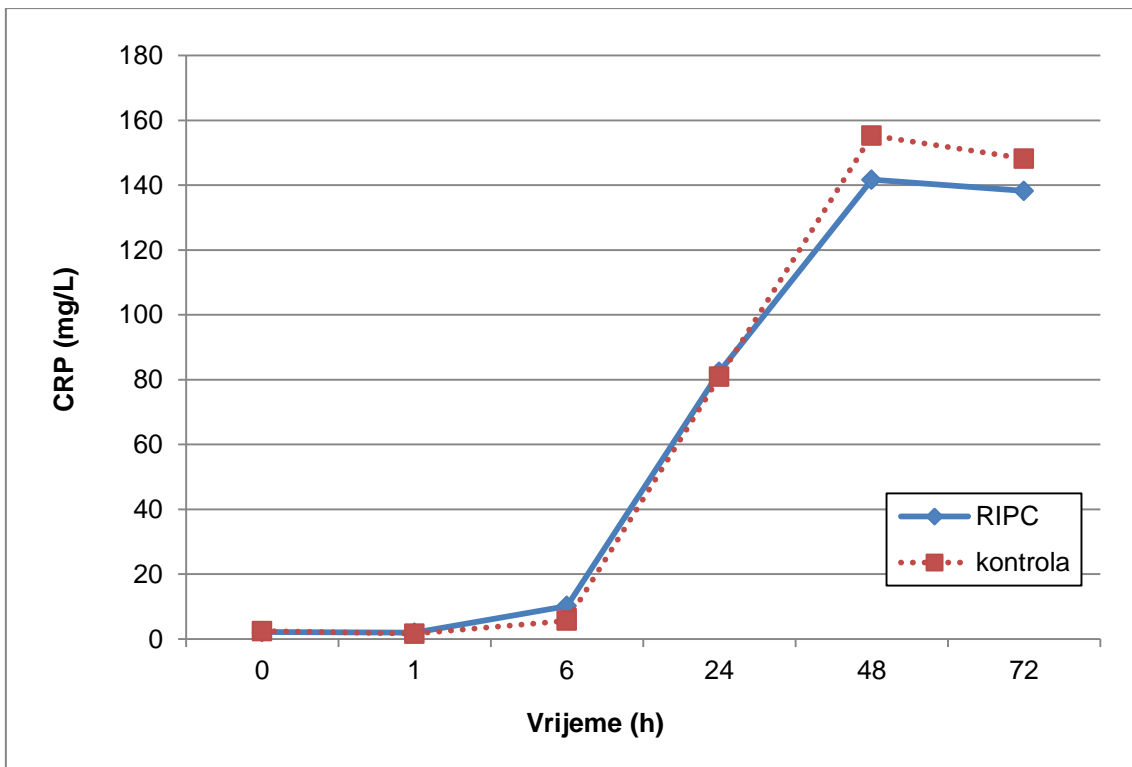
Broj leukocita i koncentracija C-reaktivnog proteina prikazani su u Tablici 9. Prikazane su vrijednosti markera u svim vremenskim točkama uzorkovanja (T0 – prije operacije, T1 – sat vremena nakon operacije, T2 – 6h nakon operacije, T3 - 24h nakon operacije, T4 – 48h nakon operacije, T5 – 72h nakon operacije) te medijan izmjerenih vršnih vrijednosti. Kretanje vrijednosti navedenih parametara u vremenu prikazani su grafički na Slikama 16 i 17.

Tablica 9. Vrijednosti upalnih parametara (T0 – prije operacije, T1 – sat vremena nakon operacije, T2 – 6h nakon operacije, T3 - 24h nakon operacije, T4 – 48h nakon operacije, T5 – 72h nakon operacije)

	RIPC (n=23)	kontrola (n=24)	p
L - T0 (x10 ⁹ /L)	6,9 (6,3; 8,1)	6,95 (5,85; 7,9)	0,970
L - T1 (x10 ⁹ /L)	9,4 (7,8; 13,7)	9,6 (8,2; 12,2)	0,529
L - T2 (x10 ⁹ /L)	11,9 (9; 12,9)	10,4 (8,85; 13,95)	0,921
L - T3 (x10 ⁹ /L)	10,5 (9,1; 13,9)	10,1 (8,35; 14)	0,957
L - T4 (x10 ⁹ /L)	9,55 (8,1; 11,4)	10,6 (8,45; 14,1)	0,137
L - T5 (x10 ⁹ /L)	8,9 (6,9; 10,4)	9 (7,9; 12,85)	0,038
L - vršna vrijednost (x10 ⁹ /L)	12,4 (11,2; 15,1)	12,55 (10,1; 15,95)	0,742
CRP - T0 (mg/L)	2,1 (1,3; 7,6)	2,4 (0,9; 4,4)	0,175
CRP - T1 (mg/L)	1,9 (0,8; 4,1)	1,6 (0,8; 3,4)	0,227
CRP - T2 (mg/L)	10,15 (4,8; 25,6)	5,6 (3,7; 10,4)	0,026
CRP - T3 (mg/L)	82,4 (69,2; 122,4)	80,85 (68,9; 104,6)	0,516
CRP - T4 (mg/L)	141,65 (87,8; 188,1)	155,3 (110,3; 179,7)	0,764
CRP - T5 (mg/L)	138,2 (106,3; 157)	148,2 (110,05; 184,25)	0,389
CRP - vršna vrijednost (mg/L)	147,1 (106,3; 189,5)	162,6 (116,85; 187,1)	0,697



Slika 16. Broj leukocita u vremenu



Slika 17. C reaktivni protein u vremenu

5. RASPRAVA

Prethodne studije

Nizu do sada objavljenih kliničkih istraživanja nije dao jednoznačan dokaz o efikasnosti udaljeno ishemijskog prekondicioniranja (RIPC) u zaštiti srčanog mišića tijekom operacija na srcu. Uz niz pozitivnih istraživanja, u više randomiziranih studija nije nađen pozitivan učinak RIPC^{146, 151, 157, 160, 162-164, 167, 168, 170}. Na učinkovitost RIPC utječe niz čimbenika zabune i oni su najvjerojatniji uzrok razlika u rezultatima dosadašnjih istraživanja. Neki od njih su: starost ispitanika, vrste operacija, primjena dodatnih lijekova, vrsta primijenjenih anestetika, pridružene bolesti i drugi čimbenici rizika¹⁸³. Stoga smo u našem istraživanju odabrali model u kojem je standardizirana vrsta operacije, anesteziološki postupak, postupak protekcije miokarda tijekom razdoblja ishemije

Model istraživanja

Cilj ovog istraživanja bio je pokazati da udaljeno ishemijsko prekondicioniranje djeluje zaštitno na srčani mišić u kontroliranim uvjetima ishemije miokarda tijekom kardiokirurške operacije. Kao promatrana skupina odabrani su bolesnici s planiranom operacijom aortnog zaliska, a isključeni bolesnici s koronarnom bolesti srca iz više razloga. Bolesnici s koronarnom bolesti (ispitanici u najvećem broju dosadašnjih istraživanja o efikasnosti IPC i RIPC) najčešće imaju vrlo uznapredovale aterosklerotske promjene na svim koronarnim arterijama te su time izloženi kroničnom oksidativnom stresu, a samim time i djelomično kronično prekondicionirani na ishemiju¹⁸⁴⁻¹⁸⁶. Sam srčani mišić kod koronarnih bolesnika može biti prožet regijama normalnog miokarda, ožiljno promijenjenog miokarda, hiberniranog miokarda i miokarda u „stunningu“¹⁸⁷⁻¹⁸⁹ u vrlo različitim omjerima. Zaštita srčanog mišića tijekom ishemije za vrijeme kirurške revaskularizacije miokarda može biti varijabilna zbog razlike u distribuciji značajnih aterosklerotskih suženja, načinu primjene i vrstama primijenjenih tehnika protekcije miokarda te učinjenim koronarnim premosnicama. Također, protok krvi kroz novostvorene premosnice je ovisan o čitavom nizu čimbenika, uključujući vrstu premosnice (venske ili arterijske), primijenjenu tehniku šivanja, kompetitivni protok kroz nativnu koronarnu arteriju¹⁹⁰,

kvalitetu stijenke native žile i drugo. S obzirom na sve navedeno, jasno je da kod koronarnih bolesnika postoji cijeli niz čimbenika zabune (eng. *confounding factors*) koji mogu utjecati na oštećenje miokarda tijekom kirurške revaskularizacije, a samim time i velika varijabilnost u biomarkerima koji se koriste kao pokazatelji ishemijskog oštećenja (troponin, kreatin kinaza, kreatin kinaza MB izoenzim). Kod bolesnika s izoliranom patologijom aortnog zaliska, navedeni problemi su izbjegnuti, a s druge strane, s obzirom na prateću koncentričnu hipertrofiju miokarda, postoji relativno velika masa miokarda pod rizikom. Bolesnici s ekstremnom hipertrofijom lijeve klijetke (širina interventrikularnog septuma >22mm) nisu bili uključivani u istraživanje. U istraživanje nisu uključivani niti bolesnici sa šećernom bolesti, s obzirom da dijabetes mellitus dokazano smanjuje učinke IPC¹⁹¹. Također, istraživanja su pokazala da derivati sulfonil-ureje koče učinak i lokalnog IPC¹⁹² i RIPC¹⁹³. Anesteziološki postupak u našem istraživanju je bio standardiziran kod svih bolesnika te u sebi nije uključivao korištenje inhalacijskih anestetika, s obzirom na poznate kardioprotektivne učinke sevoflurana i izoflurana^{148, 151}. Kod svih bolesnika korištena je identična metoda kardioprotekcije (hladna krvna kardioplegija po Buckbergu, primijenjena inicijalno antegradno, zatim intermitentno retrogradno). Korišteni protokol prekondicioniranja (3 ciklusa ishemije nedominantne ruke postignute napuhavanjem manšete tlakomjera na 200 mmHg u trajanju od 5 minuta s 5 minuta reperfuzije kod koje je manšeta bila ispuhana) pokazao se djelotvornim u nizu prethodnih istraživanja¹⁴⁷⁻¹⁴⁹.

Diskusija rezultata

Promatrane skupine bile su u potpunosti usporedive, promatrajući prijeoperacijske čimbenike rizika, težinu aortne stenoze (izraženu kroz vršni i srednji gradijent tlaka preko aortnog zaliska) te prijeoperacijsku sistoličku funkciju lijeve klijetke. Razlike nisu postojale niti u samom postupku – trajanje intraoperacijske ishemije miokarda i reperfuzije, te broj potrebnih defibrilacija nisu se razlikovali između skupina.

Analiza vrijednosti biomarkera ishemijsko-reperfuzijske ozljede (troponin I, kreatin kinaza i izoenzima CK-MB) nije potvrdila postojanje efikasnog udaljenog prekondicioniranja srčanog mišića u ovom modelu: ukupna količina troponina I

otpuštenog tijekom 72 sata od operacije nije se razlikovala među skupinama. Također, niti u jednoj točki izmjere nije bilo razlike među promatranim skupinama, kao niti u izmjerenim vršnim vrijednostima.

Analiza nekih hemodinamskih pokazatelja pokazala je razlike među skupinama: prije ishemije u RIPC skupini prisutan je viši srednji arterijski tlak, niži plućni okluzivni tlak i niži radni indeks desne klijetke u RIPC skupini. Navedene razlike su nestale u mjerenjima 1h nakon operacije i 24h nakon operacije. Manje razlike među skupinama zamijećene su u izmjeri 24h nakon zahvata u vrijednosti središnjeg venskog tlaka, dijastoličkog i srednjeg plućnog arterijskog tlaka, ali su bez kliničke važnosti.

Klinički značajne razlike između skupina uočene su samo u trajanju mehaničke ventilacije (19.5h u kontrolnoj skupini, 11.6h u RIPC skupini) i potrebi za privremenom inotropnom potporom (48% u kontrolnoj skupini, 21% u RIPC skupini), ali te razlike nisu dosegle statistički značaj.

Analiza vrijednosti broja leukocita i koncentracije C-reaktivnog proteina nije pokazala razliku između promatranih skupina, osim u nešto ranijem porastu vrijednosti CRP-a u RIPC skupini (značajno viša vrijednost 6h nakon operacije) te klinički beznačajnoj razlici u broju leukocita 72h nakon operacije. Nisu uočene razlike niti u vršnim vrijednostima između skupina.

Promatrajući rezultate poslijeoperacijskog ultrazvuka srca uočena je statistički značajna razlika u debljini interventikularnog septuma i stražnje stjenke lijeve klijetke, gdje su obje vrijednosti niže u RIPC skupini.

Razlozi neefikasnosti

Postavlja se pitanje zašto u ovom istraživanju, kao i nekolicini drugih recentnih istraživanja, nije dokazana učinkovitost udaljenog ishemijskog prekondicioniranja u zaštiti srčanog mišića. Jedan od mogućih razloga je korištenje intravenskog anestetika propofola.

Niz istraživanja pokazao je da inhalacijski anestetici kao što su izofluran ili sevofluran imaju snažna kardioprotektivna svojstva¹⁹⁴⁻¹⁹⁷, kao i neki opijati¹⁹⁸, te

moгу smanjiti veličinu infarkta i u eksperimentalnim i u kliničkim uvjetima. Mehanizam kardioprotektivnog djelovanja inhalacijskih anestetika je aktivacija mitohondrijskih K⁺ATP kanala^{199, 200}. Intravenski anestetik propofol također značajno poboljšava srčanu funkciju u eksperimentalnim modelima²⁰¹, te smanjuje posljedice ishemijsko-reperfuzijske ozljede tijekom operacija na donjim ekstremitetima²⁰².

Međudjelovanje inhalacijskih anestetika i RIPC je kontroverzno. U nekim istraživanjima^{148, 151}, anesteziološki protokol ili nije standardiziran ili su korišteni istovremeno i inhalacijski anestetici i propofol¹⁶⁴.

U istraživanju Lucchinettija i suradnika¹⁶⁴, RIPC je primijenjen kod bolesnika kod kojih je anestezija inducirana propofolom i opioidima, a održavana izofluranom. RIPC nije doveo do dodatne protekcije srčanog mišića u odnosu na kontrolnu skupinu, kao niti protekcije mozga (korišten S100 marker) ili smanjenja perioperacijskog upalnog odgovora (hsCRP). Promatrajući transkripcijske promjene u tkivu pretkljetke u korelaciji s otpuštanjem NT-proBNP, autori su zaključili da izofluran ima značajno veći učinak na gensku ekspresiju u odnosu na RIPC te da se RIPC ne dovodi do dodatne sinergijske kardioprotekcije. Također, u diskusiji su autori zaključili da propofol najvjerojatnije nije imao učinka u smislu inhibicije podražaja prekondicioniranja, iako za takav zaključak nisu imali apsolutnu potvrdu.

Usporedbu učinaka RIPC ovisnosti o vrsti anestezije istraživali su Kottenberg i suradnici. U istraživanju objavljenom 2012.godine kod ne-dijabetičkih bolesnika predviđenih za CABG¹⁵⁹, autori su pokazali da RIPC dovodi do 50%-nog smanjenja ukupne količine otpuštenog cTnI tijekom 72h kod bolesnika anesteziranih izofluranom u odnosu na kontrolnu izofluransku anesteziju bez RIPC. U skupini bolesnika anesteziranih propofolom kod kojih je primijenjen RIPC, nije zapaženo smanjenje miokardijalne ozljede u odnosu na kontrolnu skupinu. U istraživanju iz 2013. godine²⁰³, učinak RIPC je ispitivan kod bolesnika s propofolskom anestezijom, bez uporabe inhalacijskih anestetika. I u ovom istraživanju RIPC nije doveo do kardioprotektivnih učinaka. Također nije opaženo povećanje tirozin-694-fosforilacije signalnog provoditelja (eng. *signal transducer*) i aktivatora prepisivanja STAT5 (eng. *activator of transcription*) u uzorcima srčanog mišića lijeve kljetke, što se u prethodnim istraživanjima smatralo pokazateljem / mehanizmom djelovanja RIPC^{161, 204}. Autori su zaključili da propofol, za razliku od inhalacijskih anestetika, ne

dozvoljava efikasnu zaštitu miokarda putem RIPC te da vjerojatno i aktivno remeti prijenos kardioprotektivnog signala RIPC.

Sagledavajući svih 10 istraživanja u kojima RIPC nije bio efikasan, kod njih 7 je propofol korišten ili u indukciji anestezije ili u održavanju (sam ili u kombinaciji s inhalacijskim anestetima). Zaključno, dosadašnja istraživanja, a posebice recentne usporedbe između utjecaja RIPC i vrste anestezije, upućuju da inhalacijski anestetik propofol remeti udaljeno ishemijsko prekondicioniranje i da je glavni razlog zašto u našem istraživanju nije uočena razlika između ispitivanih skupina bolesnika.

Ograničenja istraživanja

Negativan učinak propofola na udaljeno ishemijsko prekondicioniranje nije bio poznat u vrijeme izrade ustroja istraživanja te je propofol primjenjivan kod svih ispitanika.

Komplikacije kod kirurške zamjene aortnog zaliska su relativno rijetke: perioperacijska smrtnost za bolesnike niskog rizika iznosi oko 1% ili manje, kao i druge kliničke komplikacije, primjerice perioperacijski infarkt miokarda, sindrom niskog minutnog volumena ili cerebrovaskularni inzult. S obzirom na broj ispitanika, jasno je da ovo istraživanje nema dovoljnu snagu za donošenje zaključaka o kliničkom ishodu te da bi za dokazivanje razlike u mortalitetu bile potrebne tisuće bolesnika.

6. ZAKLJUČAK

Ovo randomizirano, dvostruko slijepo istraživanje pokazalo je da udaljeno ishemijsko prekondicioniranje primijenjeno tijekom kirurške zamjene aortnog zaliska ne djeluje zaštitno na srčani mišić. U istraživanju su tijekom i nakon operacije praćeni pokazatelji ishemijsko-reperfuzijske ozljede, hemodinamski pokazatelji, pokazatelji sustavnog upalnog odgovora te klinički ishod, ali nisu uočene razlike između promatranih skupina. Negativni rezultat ovog istraživanja najvjerojatnije je posljedica primjene propofola u održavanju anestezije tijekom zahvata i u skladu je s recentno publiciranim istraživanjima koja proučavaju utjecaj raznih vrsta anestezije na učinak udaljenog ishemijskog prekondicioniranja u kardijalnoj kirurgiji.

7. POPIS KRATICA

IPC – ishemijsko prekondicioniranje (eng. *ischemic preconditioning*)

RIPC – udaljeno ishemijsko prekondicioniranje (eng. *remote ischemic preconditioning*)

LVEF – istisna frakcija lijeve klijetke (eng. *left ventricular ejection fraction*)

LVEDd – enddiastolički promjer lijeve klijetke

IVS – debljina interventrikularnog septuma

LVPW – debljina stražnje stijenke lijeve klijetke

LCOS – sindrom niskog minutnog volumena (eng. *low cardiac output syndrome*)

OR – omjer izgleda (eng. *odds ratio*)

AUC – površina ispod krivulje (eng. *area under the curve*)

ROS – reaktivni kisikovi spojevi (eng. *reactive oxygene species*)

PKC – protein kinaza C

CRP – C reaktivni protein

8. LITERATURA

- 1 Wheatley DJ. Protecting the damaged heart during coronary surgery. *Heart*. 2003; 89: 367-8.
- 2 Maganti MD, Rao V, Borger MA, Ivanov J, David TE. Predictors of low cardiac output syndrome after isolated aortic valve surgery. *Circulation*. 2005; 112: 1448-52.
- 3 Algarni KD, Maganti M, Yau TM. Predictors of low cardiac output syndrome after isolated coronary artery bypass surgery: trends over 20 years. *The Annals of thoracic surgery*. 2011; 92: 1678-84.
- 4 Goldhaber JI, Weiss JN. Oxygen free radicals and cardiac reperfusion abnormalities. *Hypertension*. 1992; 20: 118-27.
- 5 Bolli R, Marban E. Molecular and cellular mechanisms of myocardial stunning. *Physiological reviews*. 1999; 79: 609-34.
- 6 Braunwald E, Kloner RA. The stunned myocardium: prolonged, postischemic ventricular dysfunction. *Circulation*. 1982; 66: 1146-9.
- 7 Dhalla NS, Elmoselhi AB, Hata T, Makino N. Status of myocardial antioxidants in ischemia-reperfusion injury. *Cardiovascular research*. 2000; 47: 446-56.
- 8 Kaplan P, Lehotsky J, Racay P. Role of sarcoplasmic reticulum in the contractile dysfunction during myocardial ischaemia and reperfusion. *Physiological research / Academia Scientiarum Bohemoslovaca*. 1997; 46: 333-9.
- 9 Schnabel R, Blankenberg S. Oxidative stress in cardiovascular disease: successful translation from bench to bedside? *Circulation*. 2007; 116: 1338-40.
- 10 Ferrari R, Ceconi C, Curello S, Guarnieri C, Caldarera CM, Albertini A, *et al*. Oxygen-mediated myocardial damage during ischaemia and reperfusion: role of the cellular defences against oxygen toxicity. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 1985; 17: 937-45.
- 11 Garlick PB, Davies MJ, Hearse DJ, Slater TF. Direct detection of free radicals in the reperfused rat heart using electron spin resonance spectroscopy. *Circulation research*. 1987; 61: 757-60.
- 12 Czarnowska E, Karwatowska-Prokopczuk E. Role of oxygen free radicals in cardiocyte injury in the reperfused rat heart. *Folia histochemica et cytobiologica / Polish Academy of Sciences, Polish Histochemical and Cytochemical Society*. 1996; 34 Suppl 1: 25-6.
- 13 Carden DL, Granger DN. Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury. *The Journal of pathology*. 2000; 190: 255-66.
- 14 Dixon IM, Kaneko M, Hata T, Panagia V, Dhalla NS. Alterations in cardiac membrane Ca²⁺ transport during oxidative stress. *Molecular and cellular biochemistry*. 1990; 99: 125-33.
- 15 Dixon IM, Hata T, Dhalla NS. Sarcolemmal Na(+)-K(+)-ATPase activity in congestive heart failure due to myocardial infarction. *The American journal of physiology*. 1992; 262: C664-71.
- 16 Elmoselhi AB, Butcher A, Samson SE, Grover AK. Free radicals uncouple the sodium pump in pig coronary artery. *The American journal of physiology*. 1994; 266: C720-8.

- 17 Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*. 1980; 288: 373-6.
- 18 Forstermann U, Munzel T. Endothelial nitric oxide synthase in vascular disease: from marvel to menace. *Circulation*. 2006; 113: 1708-14.
- 19 Grech ED, Dodd NJ, Jackson MJ, Morrison WL, Faragher EB, Ramsdale DR. Evidence for free radical generation after primary percutaneous transluminal coronary angioplasty recanalization in acute myocardial infarction. *The American journal of cardiology*. 1996; 77: 122-7.
- 20 Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation*. 1986; 74: 1124-36.
- 21 Liu GS, Thornton J, Van Winkle DM, Stanley AW, Olsson RA, Downey JM. Protection against infarction afforded by preconditioning is mediated by A1 adenosine receptors in rabbit heart. *Circulation*. 1991; 84: 350-6.
- 22 Li Y, Kloner RA. The cardioprotective effects of ischemic 'preconditioning' are not mediated by adenosine receptors in rat hearts. *Circulation*. 1993; 87: 1642-8.
- 23 Sumeray MS, Yellon DM. Characterisation and validation of a murine model of global ischaemia-reperfusion injury. *Molecular and cellular biochemistry*. 1998; 186: 61-8.
- 24 Schott RJ, Rohmann S, Braun ER, Schaper W. Ischemic preconditioning reduces infarct size in swine myocardium. *Circulation research*. 1990; 66: 1133-42.
- 25 Ikonomidis JS, Tumiati LC, Weisel RD, Mickle DA, Li RK. Preconditioning human ventricular cardiomyocytes with brief periods of simulated ischaemia. *Cardiovascular research*. 1994; 28: 1285-91.
- 26 Walker DM, Walker JM, Pugsley WB, Pattison CW, Yellon DM. Preconditioning in isolated superfused human muscle. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 1995; 27: 1349-57.
- 27 Kloner RA, Yellon D. Does ischemic preconditioning occur in patients? *Journal of the American College of Cardiology*. 1994; 24: 1133-42.
- 28 Ottani F, Galvani M, Ferrini D, Sorbello F, Limonetti P, Pantoli D, *et al*. Prodromal angina limits infarct size. A role for ischemic preconditioning. *Circulation*. 1995; 91: 291-7.
- 29 Cribier A, Korsatz L, Koning R, Rath P, Gamra H, Stix G, *et al*. Improved myocardial ischemic response and enhanced collateral circulation with long repetitive coronary occlusion during angioplasty: a prospective study. *Journal of the American College of Cardiology*. 1992; 20: 578-86.
- 30 Cave AC, Hearse DJ. Ischaemic preconditioning and contractile function: studies with normothermic and hypothermic global ischaemia. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 1992; 24: 1113-23.
- 31 Shiki K, Hearse DJ. Preconditioning of ischemic myocardium: reperfusion-induced arrhythmias. *The American journal of physiology*. 1987; 253: H1470-6.
- 32 Vegh A, Komori S, Szekeres L, Parratt JR. Antiarrhythmic effects of preconditioning in anaesthetised dogs and rats. *Cardiovascular research*. 1992; 26: 487-95.

- 33 Richard V, Kaeffer N, Tron C, Thuillez C. Ischemic preconditioning protects against coronary endothelial dysfunction induced by ischemia and reperfusion. *Circulation*. 1994; 89: 1254-61.
- 34 Murry CE, Richard VJ, Reimer KA, Jennings RB. Ischemic preconditioning slows energy metabolism and delays ultrastructural damage during a sustained ischemic episode. *Circulation research*. 1990; 66: 913-31.
- 35 Piot CA, Padmanaban D, Ursell PC, Sievers RE, Wolfe CL. Ischemic preconditioning decreases apoptosis in rat hearts in vivo. *Circulation*. 1997; 96: 1598-604.
- 36 Cohen MV, Walsh RS, Goto M, Downey JM. Hypoxia preconditions rabbit myocardium via adenosine and catecholamine release. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 1995; 27: 1527-34.
- 37 Armstrong S, Ganote CE. Adenosine receptor specificity in preconditioning of isolated rabbit cardiomyocytes: evidence of A3 receptor involvement. *Cardiovascular research*. 1994; 28: 1049-56.
- 38 Van Winkle DM, Thornton JD, Downey DM, Downey JM. The natural history of preconditioning: cardioprotection depends on duration of transient ischemia and time to subsequent ischemia. *Coronary artery disease*. 1991; 2: 613-9.
- 39 Schulz R, Post H, Vahlhaus C, Heusch G. Ischemic preconditioning in pigs: a graded phenomenon: its relation to adenosine and bradykinin. *Circulation*. 1998; 98: 1022-9.
- 40 Miura T, Adachi T, Ogawa T. Myocardial infarct size-limiting effect of ischemic preconditioning: its natural decay and the effect of repetitive preconditioning. *Cardiovasc Pathol*. 1992; 1: 147-54.
- 41 Jennings RB, Sebbag L, Schwartz LM, Crago MS, Reimer KA. Metabolism of preconditioned myocardium: effect of loss and reinstatement of cardioprotection. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 2001; 33: 1571-88.
- 42 Kuzuya T, Hoshida S, Yamashita N, Fuji H, Oe H, Hori M, *et al*. Delayed effects of sublethal ischemia on the acquisition of tolerance to ischemia. *Circulation research*. 1993; 72: 1293-9.
- 43 Sandhu R, Diaz RJ, Mao GD, Wilson GJ. Ischemic preconditioning: differences in protection and susceptibility to blockade with single-cycle versus multicycle transient ischemia. *Circulation*. 1997; 96: 984-95.
- 44 Sack S, Mohri M, Arras M, Schwarz ER, Schaper W. Ischaemic preconditioning--time course of renewal in the pig. *Cardiovascular research*. 1993; 27: 551-5.
- 45 Murry CE, Richard VJ, Jennings RB, Reimer KA. Myocardial protection is lost before contractile function recovers from ischemic preconditioning. *The American journal of physiology*. 1991; 260: H796-804.
- 46 Burckhardt B, Yang XM, Tsuchida A, Mullane KM, Downey JM, Cohen MV. Adenosine extends the window of protection afforded by ischaemic preconditioning in conscious rabbits. *Cardiovascular research*. 1995; 29: 653-7.
- 47 Marber MS, Latchman DS, Walker JM, Yellon DM. Cardiac stress protein elevation 24 hours after brief ischemia or heat stress is associated with resistance to myocardial infarction. *Circulation*. 1993; 88: 1264-72.

- 48 Yellon DM, Baxter GF. A "second window of protection" or delayed preconditioning phenomenon: future horizons for myocardial protection? *Journal of molecular and cellular cardiology*. 1995; 27: 1023-34.
- 49 Bolli R. The early and late phases of preconditioning against myocardial stunning and the essential role of oxyradicals in the late phase: an overview. *Basic research in cardiology*. 1996; 91: 57-63.
- 50 Qiu Y, Ping P, Tang XL, Manchikalapudi S, Rizvi A, Zhang J, *et al*. Direct evidence that protein kinase C plays an essential role in the development of late preconditioning against myocardial stunning in conscious rabbits and that epsilon is the isoform involved. *The Journal of clinical investigation*. 1998; 101: 2182-98.
- 51 Turrens JF, Thornton J, Barnard ML, Snyder S, Liu G, Downey JM. Protection from reperfusion injury by preconditioning hearts does not involve increased antioxidant defenses. *The American journal of physiology*. 1992; 262: H585-9.
- 52 Thornton J, Striplin S, Liu GS, Swafford A, Stanley AW, Van Winkle DM, *et al*. Inhibition of protein synthesis does not block myocardial protection afforded by preconditioning. *The American journal of physiology*. 1990; 259: H1822-5.
- 53 Jennings RB, Reimer KA, Steenbergen C. Effect of inhibition of the mitochondrial ATPase on net myocardial ATP in total ischemia. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 1991; 23: 1383-95.
- 54 Lasley RD, Konyn PJ, Hegge JO, Mentzer RM, Jr. Effects of ischemic and adenosine preconditioning on interstitial fluid adenosine and myocardial infarct size. *The American journal of physiology*. 1995; 269: H1460-6.
- 55 Miura T. Adenosine and bradykinin: are they independent triggers of preconditioning? *Basic research in cardiology*. 1996; 91: 20-2.
- 56 Mei DA, Nithipatikom K, Lasley RD, Gross GJ. Myocardial preconditioning produced by ischemia, hypoxia, and a KATP channel opener: effects on interstitial adenosine in dogs. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 1998; 30: 1225-36.
- 57 Thornton JD, Liu GS, Olsson RA, Downey JM. Intravenous pretreatment with A1-selective adenosine analogues protects the heart against infarction. *Circulation*. 1992; 85: 659-65.
- 58 Lasley RD, Rhee JW, Van Wylen DG, Mentzer RM, Jr. Adenosine A1 receptor mediated protection of the globally ischemic isolated rat heart. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 1990; 22: 39-47.
- 59 Wall TM, Sheehy R, Hartman JC. Role of bradykinin in myocardial preconditioning. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 1994; 270: 681-9.
- 60 Goto M, Liu Y, Yang XM, Ardell JL, Cohen MV, Downey JM. Role of bradykinin in protection of ischemic preconditioning in rabbit hearts. *Circulation research*. 1995; 77: 611-21.
- 61 Schultz JE, Rose E, Yao Z, Gross GJ. Evidence for involvement of opioid receptors in ischemic preconditioning in rat hearts. *The American journal of physiology*. 1995; 268: H2157-61.

- 62 Schwartz LM, Jennings RB, Reimer KA. Premedication with the opioid analgesic butorphanol raises the threshold for ischemic preconditioning in dogs. *Basic research in cardiology*. 1997; 92: 106-14.
- 63 Wang GY, Wu S, Pei JM, Yu XC, Wong TM. Kappa- but not delta-opioid receptors mediate effects of ischemic preconditioning on both infarct and arrhythmia in rats. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*. 2001; 280: H384-91.
- 64 Aitchison KA, Baxter GF, Awan MM, Smith RM, Yellon DM, Opie LH. Opposing effects on infarction of delta and kappa opioid receptor activation in the isolated rat heart: implications for ischemic preconditioning. *Basic research in cardiology*. 2000; 95: 1-10; discussion 11.
- 65 Liu GS, Stanley AW, Downey J. Cyclooxygenase products are not involved in the protection against myocardial infarction afforded by preconditioning in rabbit. Cyclooxygenase pathway's involvement in preconditioning. *The American journal of cardiovascular pathology*. 1992; 4: 157-64.
- 66 Li Y, Kloner RA. Cardioprotective effects of ischaemic preconditioning are not mediated by prostanoids. *Cardiovascular research*. 1992; 26: 226-31.
- 67 Bugge E, Ytrehus K. Ischaemic preconditioning is protein kinase C dependent but not through stimulation of alpha adrenergic or adenosine receptors in the isolated rat heart. *Cardiovascular research*. 1995; 29: 401-6.
- 68 Liu Y, Tsuchida A, Cohen MV, Downey JM. Pretreatment with angiotensin II activates protein kinase C and limits myocardial infarction in isolated rabbit hearts. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 1995; 27: 883-92.
- 69 Wang P, Gallagher KP, Downey JM, Cohen MV. Pretreatment with endothelin-1 mimics ischemic preconditioning against infarction in isolated rabbit heart. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 1996; 28: 579-88.
- 70 Lochner A, Marais E, Genade S, Moolman JA. Nitric oxide: a trigger for classic preconditioning? *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*. 2000; 279: H2752-65.
- 71 Nakano A, Liu GS, Heusch G, Downey JM, Cohen MV. Exogenous nitric oxide can trigger a preconditioned state through a free radical mechanism, but endogenous nitric oxide is not a trigger of classical ischemic preconditioning. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 2000; 32: 1159-67.
- 72 Post H, Schulz R, Behrends M, Gres P, Umschlag C, Heusch G. No involvement of endogenous nitric oxide in classical ischemic preconditioning in swine. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 2000; 32: 725-33.
- 73 Cain BS, Meldrum DR, Cleveland JC, Jr., Meng X, Banerjee A, Harken AH. Clinical L-type Ca(2+) channel blockade prevents ischemic preconditioning of human myocardium. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 1999; 31: 2191-7.
- 74 Wallbridge DR, Schulz R, Braun C, Post H, Heusch G. No attenuation of ischaemic preconditioning by the calcium antagonist nisoldipine. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 1996; 28: 1801-10.

- 75 Baines CP, Goto M, Downey JM. Oxygen radicals released during ischemic preconditioning contribute to cardioprotection in the rabbit myocardium. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 1997; 29: 207-16.
- 76 Das DK, Maulik N, Sato M, Ray PS. Reactive oxygen species function as second messenger during ischemic preconditioning of heart. *Molecular and cellular biochemistry*. 1999; 196: 59-67.
- 77 Nishida M, Maruyama Y, Tanaka R, Kontani K, Nagao T, Kurose H. G alpha(i) and G alpha(o) are target proteins of reactive oxygen species. *Nature*. 2000; 408: 492-5.
- 78 Bhatnagar A, Srivastava SK, Szabo G. Oxidative stress alters specific membrane currents in isolated cardiac myocytes. *Circulation research*. 1990; 67: 535-49.
- 79 Tokube K, Kiyosue T, Arita M. Openings of cardiac KATP channel by oxygen free radicals produced by xanthine oxidase reaction. *The American journal of physiology*. 1996; 271: H478-89.
- 80 Auchampach JA, Grover GJ, Gross GJ. Blockade of ischaemic preconditioning in dogs by the novel ATP dependent potassium channel antagonist sodium 5-hydroxydecanoate. *Cardiovascular research*. 1992; 26: 1054-62.
- 81 Garlid KD, Paucek P, Yarov-Yarovoy V, Sun X, Schindler PA. The mitochondrial KATP channel as a receptor for potassium channel openers. *The Journal of biological chemistry*. 1996; 271: 8796-9.
- 82 Garlid KD, Paucek P, Yarov-Yarovoy V, Murray HN, Darbenzio RB, D'Alonzo AJ, *et al.* Cardioprotective effect of diazoxide and its interaction with mitochondrial ATP-sensitive K⁺ channels. Possible mechanism of cardioprotection. *Circulation research*. 1997; 81: 1072-82.
- 83 Pain T, Yang XM, Critz SD, Yue Y, Nakano A, Liu GS, *et al.* Opening of mitochondrial K(ATP) channels triggers the preconditioned state by generating free radicals. *Circulation research*. 2000; 87: 460-6.
- 84 Haruna T, Horie M, Kouchi I, Nawada R, Tsuchiya K, Akao M, *et al.* Coordinate interaction between ATP-sensitive K⁺ channel and Na⁺, K⁺-ATPase modulates ischemic preconditioning. *Circulation*. 1998; 98: 2905-10.
- 85 Hale SL, Kloner RA. Effect of combined K(ATP) channel activation and Na⁽⁺⁾/H⁽⁺⁾ exchange inhibition on infarct size in rabbits. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*. 2000; 279: H2673-7.
- 86 Sanada S, Kitakaze M, Asanuma H, Harada K, Ogita H, Node K, *et al.* Role of mitochondrial and sarcolemmal K(ATP) channels in ischemic preconditioning of the canine heart. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*. 2001; 280: H256-63.
- 87 Downey JM, Cohen MV. Mitochondrial K(ATP)channel opening during index ischemia and following myocardial reperfusion in ischemic rat hearts. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 2001; 33: 651-3.
- 88 Ytrehus K, Liu Y, Downey JM. Preconditioning protects ischemic rabbit heart by protein kinase C activation. *The American journal of physiology*. 1994; 266: H1145-52.

- 89 Ikonomidis JS, Shirai T, Weisel RD, Derylo B, Rao V, Whiteside CI, *et al.* Preconditioning cultured human pediatric myocytes requires adenosine and protein kinase C. *The American journal of physiology.* 1997; 272: H1220-30.
- 90 Yang XM, Sato H, Downey JM, Cohen MV. Protection of ischemic preconditioning is dependent upon a critical timing sequence of protein kinase C activation. *Journal of molecular and cellular cardiology.* 1997; 29: 991-9.
- 91 Miyamae M, Fujiwara H, Kida M, Yokota R, Tanaka M, Katsuragawa M, *et al.* Preconditioning improves energy metabolism during reperfusion but does not attenuate myocardial stunning in porcine hearts. *Circulation.* 1993; 88: 223-34.
- 92 Finegan BA, Lopaschuk GD, Gandhi M, Clanachan AS. Ischemic preconditioning inhibits glycolysis and proton production in isolated working rat hearts. *The American journal of physiology.* 1995; 269: H1767-75.
- 93 Reimer KA, Jennings RB. Ischemic preconditioning: a brief review. *Basic research in cardiology.* 1996; 91: 1-4.
- 94 Wolfe CL, Sievers RE, Visseren FL, Donnelly TJ. Loss of myocardial protection after preconditioning correlates with the time course of glycogen recovery within the preconditioned segment. *Circulation.* 1993; 87: 881-92.
- 95 McNulty PH, Darling A, Whiting JM. Glycogen depletion contributes to ischemic preconditioning in the rat heart in vivo. *The American journal of physiology.* 1996; 271: H2283-9.
- 96 Weinbrenner C, Wang P, Downey JM. Loss of glycogen during preconditioning is not a prerequisite for protection of the rabbit heart. *Basic research in cardiology.* 1996; 91: 374-81.
- 97 Meldrum DR, Dinarello CA, Shames BD, Cleveland JC, Jr., Cain BS, Banerjee A, *et al.* Ischemic preconditioning decreases postischemic myocardial tumor necrosis factor-alpha production. Potential ultimate effector mechanism of preconditioning. *Circulation.* 1998; 98: II214-8; discussion II18-9.
- 98 Belosjorow S, Schulz R, Dorge H, Schade FU, Heusch G. Endotoxin and ischemic preconditioning: TNF-alpha concentration and myocardial infarct development in rabbits. *The American journal of physiology.* 1999; 277: H2470-5.
- 99 Xiao XH, Allen DG. Activity of the Na(+)/H(+) exchanger is critical to reperfusion damage and preconditioning in the isolated rat heart. *Cardiovascular research.* 2000; 48: 244-53.
- 100 Currie RW, Karmazyn M, Kloc M, Mailer K. Heat-shock response is associated with enhanced postischemic ventricular recovery. *Circulation research.* 1988; 63: 543-9.
- 101 Kaszala K, Vegh A, Papp JG, Parratt JR. Time course of the protection against ischaemia and reperfusion-induced ventricular arrhythmias resulting from brief periods of cardiac pacing. *Journal of molecular and cellular cardiology.* 1996; 28: 2085-95.
- 102 Yamashita N, Hoshida S, Otsu K, Asahi M, Kuzuya T, Hori M. Exercise provides direct biphasic cardioprotection via manganese superoxide dismutase activation. *The Journal of experimental medicine.* 1999; 189: 1699-706.

- 103 Brown JM, Grosso MA, Terada LS, Whitman GJ, Banerjee A, White CW, *et al.* Endotoxin pretreatment increases endogenous myocardial catalase activity and decreases ischemia-reperfusion injury of isolated rat hearts. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 1989; 86: 2516-20.
- 104 Takano H, Tang XL, Qiu Y, Guo Y, French BA, Bolli R. Nitric oxide donors induce late preconditioning against myocardial stunning and infarction in conscious rabbits via an antioxidant-sensitive mechanism. *Circulation research.* 1998; 83: 73-84.
- 105 Brown JM, Anderson BO, Repine JE, Shanley PF, White CW, Grosso MA, *et al.* Neutrophils contribute to TNF induced myocardial tolerance to ischaemia. *Journal of molecular and cellular cardiology.* 1992; 24: 485-95.
- 106 Qian YZ, Bernardo NL, Nayeem MA, Chelliah J, Kukreja RC. Induction of 72-kDa heat shock protein does not produce second window of ischemic preconditioning in rat heart. *The American journal of physiology.* 1999; 276: H224-34.
- 107 Yamashita N, Nishida M, Hoshida S, Kuzuya T, Hori M, Taniguchi N, *et al.* Induction of manganese superoxide dismutase in rat cardiac myocytes increases tolerance to hypoxia 24 hours after preconditioning. *The Journal of clinical investigation.* 1994; 94: 2193-9.
- 108 Takano H, Manchikalapudi S, Tang XL, Qiu Y, Rizvi A, Jadoon AK, *et al.* Nitric oxide synthase is the mediator of late preconditioning against myocardial infarction in conscious rabbits. *Circulation.* 1998; 98: 441-9.
- 109 Shinmura K, Tang XL, Wang Y, Xuan YT, Liu SQ, Takano H, *et al.* Cyclooxygenase-2 mediates the cardioprotective effects of the late phase of ischemic preconditioning in conscious rabbits. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 2000; 97: 10197-202.
- 110 Rizvi A, Tang XL, Qiu Y, Xuan YT, Takano H, Jadoon AK, *et al.* Increased protein synthesis is necessary for the development of late preconditioning against myocardial stunning. *The American journal of physiology.* 1999; 277: H874-84.
- 111 Kaeffer N, Richard V, Thuillez C. Delayed coronary endothelial protection 24 hours after preconditioning: role of free radicals. *Circulation.* 1997; 96: 2311-6.
- 112 Tang XL, Takano H, Rizvi A, Turrens JF, Qiu Y, Wu WJ, *et al.* Oxidant species trigger late preconditioning against myocardial stunning in conscious rabbits. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology.* 2002; 282: H281-91.
- 113 Takano H, Tang XL, Qiu Y, Manchikalapudi S, Wu WJ, French BL, *et al.* Intracoronary administration of oxygen radicals induces late preconditioning against stunning in conscious rabbits. *Circulation.* 1997; 96(Suppl. I): I256-7.
- 114 Sun JZ, Tang XL, Park SW, Qiu Y, Turrens JF, Bolli R. Evidence for an essential role of reactive oxygen species in the genesis of late preconditioning against myocardial stunning in conscious pigs. *The Journal of clinical investigation.* 1996; 97: 562-76.
- 115 Bolli R, Dawn B, Tang XL, Qiu Y, Ping P, Xuan YT, *et al.* The nitric oxide hypothesis of late preconditioning. *Basic research in cardiology.* 1998; 93: 325-38.
- 116 Bolli R. The late phase of preconditioning. *Circulation research.* 2000; 87: 972-83.

- 117 Eisen A. Ischemic preconditioning: nearly two decades of research. A comprehensive review. *Atherosclerosis*. 2004; 172: 201-10.
- 118 Ishihara M, Sato H, Tateishi H, Kawagoe T, Shimatani Y, Kurisu S, *et al*. Implications of prodromal angina pectoris in anterior wall acute myocardial infarction: acute angiographic findings and long-term prognosis. *Journal of the American College of Cardiology*. 1997; 30: 970-5.
- 119 Tomai F, Perino M, Ghini AS, Crea F, Gaspardone A, Versaci F, *et al*. Exercise-induced myocardial ischemia triggers the early phase of preconditioning but not the late phase. *The American journal of cardiology*. 1999; 83: 586-8, A7-8.
- 120 Kaukoranta PK, Lepojarvi MP, Ylitalo KV, Kiviluoma KT, Peuhkurinen KJ. Normothermic retrograde blood cardioplegia with or without preceding ischemic preconditioning. *The Annals of thoracic surgery*. 1997; 63: 1268-74.
- 121 Illes RW, Swoyer KD. Prospective, randomized clinical study of ischemic preconditioning as an adjunct to intermittent cold blood cardioplegia. *The Annals of thoracic surgery*. 1998; 65: 748-52; discussion 52-3.
- 122 Luo WJ, Chen SX, Jian HH, Xu LM. A comparison of ischemic preconditioning versus terminal warm cardioplegia with controlled reperfusion in open heart operation. *The Journal of cardiovascular surgery*. 2001; 42: 193-6.
- 123 Wu ZK, Iivainen T, Pehkonen E, Laurikka J, Tarkka MR. Ischemic preconditioning suppresses ventricular tachyarrhythmias after myocardial revascularization. *Circulation*. 2002; 106: 3091-6.
- 124 Walsh SR, Tang TY, Kullar P, Jenkins DP, Dutka DP, Gaunt ME. Ischaemic preconditioning during cardiac surgery: systematic review and meta-analysis of perioperative outcomes in randomised clinical trials. *European journal of cardio-thoracic surgery : official journal of the European Association for Cardio-thoracic Surgery*. 2008; 34: 985-94.
- 125 Perrault LP, Menasche P. Preconditioning: can nature's shield be raised against surgical ischemic-reperfusion injury? *The Annals of thoracic surgery*. 1999; 68: 1988-94.
- 126 Liu Z, Valencia O, Treasure T, Murday AJ. Cold blood cardioplegia or intermittent cross-clamping in coronary artery bypass grafting? *The Annals of thoracic surgery*. 1998; 66: 462-5.
- 127 Gerola LR, Oliveira SA, Moreira LF, Dallan LA, Delgado P, da Luz PL, *et al*. Blood cardioplegia with warm reperfusion versus intermittent aortic crossclamping in myocardial revascularization. Randomized controlled trial. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*. 1993; 106: 491-6.
- 128 Alhan HC, Karabulut H, Tosun R, Karakoc F, Okar I, Demiray E, *et al*. Intermittent aortic cross-clamping and cold crystalloid cardioplegia for low-risk coronary patients. *The Annals of thoracic surgery*. 1996; 61: 834-9.
- 129 Karthik S, Grayson AD, Oo AY, Fabri BM. A survey of current myocardial protection practices during coronary artery bypass grafting. *Annals of the Royal College of Surgeons of England*. 2004; 86: 413-5.

- 130 Fujii M, Chambers DJ. Myocardial protection with intermittent cross-clamp fibrillation: does preconditioning play a role? *European journal of cardio-thoracic surgery : official journal of the European Association for Cardio-thoracic Surgery*. 2005; 28: 821-31.
- 131 Dunning J, Hunter S, Kendall SW, Wallis J, Owens WA. Coronary bypass grafting using crossclamp fibrillation does not result in reliable reperfusion of the myocardium when the crossclamp is intermittently released: a prospective cohort study. *Journal of cardiothoracic surgery*. 2006; 1: 45.
- 132 Vaage J, Valen G. Preconditioning and cardiac surgery. *The Annals of thoracic surgery*. 2003; 75: S709-14.
- 133 Burns PG, Krukenkamp IB, Caldarone CA, Gaudette GR, Bukhari EA, Levitsky S. Does cardiopulmonary bypass alone elicit myoprotective preconditioning? *Circulation*. 1995; 92: II447-51.
- 134 Burns PG, Krunkenkamp IB, Calderone CA, Kirvaitis RJ, Gaudette GR, Levitsky S. Is the preconditioning response conserved in senescent myocardium? *The Annals of thoracic surgery*. 1996; 61: 925-9.
- 135 Przyklenk K, Bauer B, Ovize M, Kloner RA, Whittaker P. Regional ischemic 'preconditioning' protects remote virgin myocardium from subsequent sustained coronary occlusion. *Circulation*. 1993; 87: 893-9.
- 136 McClanahan TB, Nao BS, Wolke LJ, Martin BJ, Mertz TE, Gallagher KP. Brief renal occlusion and reperfusion reduces myocardial infarct size in rabbits. *FASEB J*. 1993; 7: A118.
- 137 Gho BC, Schoemaker RG, van den Doel MA, Duncker DJ, Verdouw PD. Myocardial protection by brief ischemia in noncardiac tissue. *Circulation*. 1996; 94: 2193-200.
- 138 Liauw SK, Rubin BB, Lindsay TF, Romaschin AD, Walker PM. Sequential ischemia/reperfusion results in contralateral skeletal muscle salvage. *The American journal of physiology*. 1996; 270: H1407-13.
- 139 Birnbaum Y, Hale SL, Kloner RA. Ischemic preconditioning at a distance: reduction of myocardial infarct size by partial reduction of blood supply combined with rapid stimulation of the gastrocnemius muscle in the rabbit. *Circulation*. 1997; 96: 1641-6.
- 140 Kharbanda RK. Transient Limb Ischemia Induces Remote Ischemic Preconditioning In Vivo. *Circulation*. 2002; 106: 2881-83.
- 141 Hausenloy DJ, Yellon DM. Preconditioning and postconditioning: underlying mechanisms and clinical application. *Atherosclerosis*. 2009; 204: 334-41.
- 142 Konstantinov IE, Li J, Cheung MM, Shimizu M, Stokoe J, Kharbanda RK, *et al*. Remote ischemic preconditioning of the recipient reduces myocardial ischemia-reperfusion injury of the denervated donor heart via a Katp channel-dependent mechanism. *Transplantation*. 2005; 79: 1691-5.
- 143 Pell TJ, Baxter GF, Yellon DM, Drew GM. Renal ischemia preconditions myocardium: role of adenosine receptors and ATP-sensitive potassium channels. *The American journal of physiology*. 1998; 275: H1542-7.

- 144 Schoemaker RG, van Heijningen CL. Bradykinin mediates cardiac preconditioning at a distance. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*. 2000; 278: H1571-6.
- 145 Addison PD, Neligan PC, Ashrafpour H, Khan A, Zhong A, Moses M, *et al*. Noninvasive remote ischemic preconditioning for global protection of skeletal muscle against infarction. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*. 2003; 285: H1435-43.
- 146 Gunaydin B, Cakici I, Soncul H, Kalaycioglu S, Cevik C, Sancak B, *et al*. Does remote organ ischaemia trigger cardiac preconditioning during coronary artery surgery? *Pharmacological research : the official journal of the Italian Pharmacological Society*. 2000; 41: 493-6.
- 147 Cheung MM, Kharbanda RK, Konstantinov IE, Shimizu M, Frndova H, Li J, *et al*. Randomized controlled trial of the effects of remote ischemic preconditioning on children undergoing cardiac surgery: first clinical application in humans. *Journal of the American College of Cardiology*. 2006; 47: 2277-82.
- 148 Hausenloy DJ, Mwamure PK, Venugopal V, Harris J, Barnard M, Grundy E, *et al*. Effect of remote ischaemic preconditioning on myocardial injury in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery: a randomised controlled trial. *The Lancet*. 2007; 370: 575-79.
- 149 Venugopal V, Hausenloy DJ, Ludman A, Di Salvo C, Kolvekar S, Yap J, *et al*. Remote ischaemic preconditioning reduces myocardial injury in patients undergoing cardiac surgery with cold-blood cardioplegia: a randomised controlled trial. *Heart*. 2009; 95: 1567-71.
- 150 Hong DM, Mint JJ, Kim JH, Sohn IS, Lim TW, Lim YJ, *et al*. The effect of remote ischaemic preconditioning on myocardial injury in patients undergoing off-pump coronary artery bypass graft surgery. *Anaesthesia and intensive care*. 2010; 38: 924-9.
- 151 Rahman IA, Mascaro JG, Steeds RP, Frenneaux MP, Nightingale P, Gosling P, *et al*. Remote ischemic preconditioning in human coronary artery bypass surgery: from promise to disappointment? *Circulation*. 2010; 122: S53-9.
- 152 Thielmann M, Kottenberg E, Boengler K, Raffelsieper C, Neuhaeuser M, Peters J, *et al*. Remote ischemic preconditioning reduces myocardial injury after coronary artery bypass surgery with crystalloid cardioplegic arrest. *Basic research in cardiology*. 2010; 105: 657-64.
- 153 Li L, Luo W, Huang L, Zhang W, Gao Y, Jiang H, *et al*. Remote perconditioning reduces myocardial injury in adult valve replacement: a randomized controlled trial. *The Journal of surgical research*. 2010; 164: e21-6.
- 154 Zhou W, Zeng D, Chen R, Liu J, Yang G, Liu P, *et al*. Limb ischemic preconditioning reduces heart and lung injury after an open heart operation in infants. *Pediatric cardiology*. 2010; 31: 22-9.
- 155 Wagner R, Piler P, Bedanova H, Adamek P, Grodecka L, Freiburger T. Myocardial injury is decreased by late remote ischaemic preconditioning and aggravated by tramadol in patients undergoing cardiac surgery: a randomised controlled trial. *Interactive cardiovascular and thoracic surgery*. 2010; 11: 758-62.

- 156 Ali N, Rizwi F, Iqbal A, Rashid A. Induced remote ischemic pre-conditioning on ischemia-reperfusion injury in patients undergoing coronary artery bypass. *Journal of the College of Physicians and Surgeons--Pakistan : JCPSP*. 2010; 20: 427-31.
- 157 Karuppasamy P, Chaubey S, Dew T, Musto R, Sherwood R, Desai J, *et al*. Remote intermittent ischemia before coronary artery bypass graft surgery: a strategy to reduce injury and inflammation? *Basic research in cardiology*. 2011; 106: 511-9.
- 158 Wu Q, Gui P, Wu J, Ding D, Purusram G, Dong N, *et al*. Effect of limb ischemic preconditioning on myocardial injury in patients undergoing mitral valve replacement surgery. - A randomized controlled trial. *Circulation journal : official journal of the Japanese Circulation Society*. 2011; 75: 1885-9.
- 159 Kottenberg E, Thielmann M, Bergmann L, Heine T, Jakob H, Heusch G, *et al*. Protection by remote ischemic preconditioning during coronary artery bypass graft surgery with isoflurane but not propofol - a clinical trial. *Acta anaesthesiologica Scandinavica*. 2012; 56: 30-8.
- 160 Young PJ, Dalley P, Garden A, Horrocks C, La Flamme A, Mahon B, *et al*. A pilot study investigating the effects of remote ischemic preconditioning in high-risk cardiac surgery using a randomised controlled double-blind protocol. *Basic research in cardiology*. 2012; 107: 256.
- 161 Heusch G, Musiolik J, Kottenberg E, Peters J, Jakob H, Thielmann M. STAT5 activation and cardioprotection by remote ischemic preconditioning in humans: short communication. *Circulation research*. 2012; 110: 111-5.
- 162 Lee JH, Park YH, Byon HJ, Kim HS, Kim CS, Kim JT. Effect of remote ischaemic preconditioning on ischaemic-reperfusion injury in pulmonary hypertensive infants receiving ventricular septal defect repair. *British journal of anaesthesia*. 2012; 108: 223-8.
- 163 Pavione MA, Carmona F, de Castro M, Carlotti AP. Late remote ischemic preconditioning in children undergoing cardiopulmonary bypass: a randomized controlled trial. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*. 2012; 144: 178-83.
- 164 Lucchinetti E, Bestmann L, Feng J, Freidank H, Clanachan AS, Finegan BA, *et al*. Remote ischemic preconditioning applied during isoflurane inhalation provides no benefit to the myocardium of patients undergoing on-pump coronary artery bypass graft surgery: lack of synergy or evidence of antagonism in cardioprotection? *Anesthesiology*. 2012; 116: 296-310.
- 165 Xie JJ, Liao XL, Chen WG, Huang DD, Chang FJ, Chen W, *et al*. Remote ischaemic preconditioning reduces myocardial injury in patients undergoing heart valve surgery: randomised controlled trial. *Heart*. 2012; 98: 384-8.
- 166 Thielmann M, Kottenberg E, Kleinbongard P, Wendt D, Gedik N, Pasa S, *et al*. Cardioprotective and prognostic effects of remote ischaemic preconditioning in patients undergoing coronary artery bypass surgery: a single-centre randomised, double-blind, controlled trial. *Lancet*. 2013; 382: 597-604.
- 167 Ahmad AM, Ali GS, Tariq W. Remote ischemic preconditioning is a safe adjuvant technique to myocardial protection but adds no clinical benefit after on-pump coronary artery bypass grafting. *The heart surgery forum*. 2014; 17: E220-3.

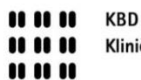
- 168 Hong DM, Lee EH, Kim HJ, Min JJ, Chin JH, Choi DK, *et al.* Does remote ischaemic preconditioning with postconditioning improve clinical outcomes of patients undergoing cardiac surgery? Remote Ischaemic Preconditioning with Postconditioning Outcome Trial. *European heart journal.* 2014; 35: 176-83.
- 169 Slagsvold KH, Rognmo O, Hoydal M, Wisloff U, Wahba A. Remote ischemic preconditioning preserves mitochondrial function and influences myocardial microRNA expression in atrial myocardium during coronary bypass surgery. *Circulation research.* 2014; 114: 851-9.
- 170 McCrindle BW, Clarizia NA, Khaikin S, Holtby HM, Manlhiot C, Schwartz SM, *et al.* Remote ischemic preconditioning in children undergoing cardiac surgery with cardiopulmonary bypass: a single-center double-blinded randomized trial. *Journal of the American Heart Association.* 2014; 3.
- 171 Candilio L, Malik A, Ariti C, Barnard M, Di Salvo C, Lawrence D, *et al.* Effect of remote ischaemic preconditioning on clinical outcomes in patients undergoing cardiac bypass surgery: a randomised controlled clinical trial. *Heart.* 2014.
- 172 Holmberg FE, Ottas KA, Andreassen C, Perko MJ, Moller CH, Engstrom T, *et al.* Conditioning techniques and ischemic reperfusion injury in relation to on-pump cardiac surgery. *Scandinavian cardiovascular journal : SCJ.* 2014; 48: 241-8.
- 173 Candilio L, Malik A, Ariti C, Barnard M, Di Salvo C, Lawrence D, *et al.* Effect of remote ischaemic preconditioning on clinical outcomes in patients undergoing cardiac bypass surgery: a randomised controlled clinical trial. *Heart.* 2015; 101: 185-92.
- 174 Takagi H, Manabe H, Kawai N, Goto SN, Umemoto T. Review and meta-analysis of randomized controlled clinical trials of remote ischemic preconditioning in cardiovascular surgery. *The American journal of cardiology.* 2008; 102: 1487-8.
- 175 Ali ZA, Callaghan CJ, Lim E, Ali AA, Nouraei SA, Akthar AM, *et al.* Remote ischemic preconditioning reduces myocardial and renal injury after elective abdominal aortic aneurysm repair: a randomized controlled trial. *Circulation.* 2007; 116: 198-105.
- 176 D'Ascenzo F, Cavallero E, Moretti C, Omede P, Sciuto F, Rahman IA, *et al.* Remote ischaemic preconditioning in coronary artery bypass surgery: a meta-analysis. *Heart.* 2012; 98: 1267-71.
- 177 Brevoord D, Kranke P, Kuijpers M, Weber N, Hollmann M, Preckel B. Remote ischemic conditioning to protect against ischemia-reperfusion injury: a systematic review and meta-analysis. *PloS one.* 2012; 7: e42179.
- 178 Schulz KF, Altman DG, Moher D, Group C. CONSORT 2010 statement: updated guidelines for reporting parallel group randomised trials. *Bmj.* 2010; 340: c332.
- 179 Bian ZX, Shang HC. CONSORT 2010 statement: updated guidelines for reporting parallel group randomized trials. *Annals of internal medicine.* 2011; 154: 290-1; author reply 91-2.
- 180 Clavien PA, Lillmoe KD. A new policy to implement CONSORT guidelines for surgical randomized controlled trials. *Annals of surgery.* 2014; 260: 947-8.
- 181 Buckberg GD. Update on current techniques of myocardial protection. *The Annals of thoracic surgery.* 1995; 60: 805-14.

- 182 Lim CC, Cuculi F, van Gaal WJ, Testa L, Arnold JR, Karamitsos T, *et al.* Early diagnosis of perioperative myocardial infarction after coronary bypass grafting: a study using biomarkers and cardiac magnetic resonance imaging. *The Annals of thoracic surgery.* 2011; 92: 2046-53.
- 183 Ferdinandy P, Hausenloy DJ, Heusch G, Baxter GF, Schulz R. Interaction of Risk Factors, Comorbidities, and Comedications with Ischemia/Reperfusion Injury and Cardioprotection by Preconditioning, Postconditioning, and Remote Conditioning. *Pharmacological Reviews.* 2014; 66: 1142-74.
- 184 Neckar J, Papousek F, Novakova O, Ost'adal B, Kolar F. Cardioprotective effects of chronic hypoxia and ischaemic preconditioning are not additive. *Basic research in cardiology.* 2002; 97: 161-7.
- 185 Crawford RM, Jovanovic S, Budas GR, Davies AM, Lad H, Wenger RH, *et al.* Chronic mild hypoxia protects heart-derived H9c2 cells against acute hypoxia/reoxygenation by regulating expression of the SUR2A subunit of the ATP-sensitive K⁺ channel. *The Journal of biological chemistry.* 2003; 278: 31444-55.
- 186 Guo HC, Zhang Z, Zhang LN, Xiong C, Feng C, Liu Q, *et al.* Chronic intermittent hypobaric hypoxia protects the heart against ischemia/reperfusion injury through upregulation of antioxidant enzymes in adult guinea pigs. *Acta pharmacologica Sinica.* 2009; 30: 947-55.
- 187 Gbur CJ, Jr. Stunned vs hibernating myocardium. *JAMA : the journal of the American Medical Association.* 1990; 264: 455-6.
- 188 Conti CR. The stunned and hibernating myocardium: a brief review. *Clinical cardiology.* 1991; 14: 708-12.
- 189 Fernandes VB, Ben Freedman S, Allman KC, Bautovich GJ, Hutton BF, McLaughlin AF, *et al.* Detection of myocardial viability in stunned or hibernating myocardium by delayed emptying on radionuclide ventriculography. *The American journal of cardiology.* 1991; 67: 529-32.
- 190 Sabik JF, 3rd, Blackstone EH. Coronary artery bypass graft patency and competitive flow. *Journal of the American College of Cardiology.* 2008; 51: 126-8.
- 191 Kristiansen SB, Løfgren B, Støttrup NB, Khatir D, Nielsen-Kudsk JE, Nielsen TT, *et al.* Ischaemic preconditioning does not protect the heart in obese and lean animal models of Type 2 diabetes. *Diabetologia.* 2004; 47: 1716-21.
- 192 Engler RL, Yellon DM. Sulfonylurea KATP blockade in type II diabetes and preconditioning in cardiovascular disease. Time for reconsideration. *Circulation.* 1996; 94: 2297-301.
- 193 Kottenberg E, Thielmann M, Kleinbongard P, Frey UH, Heine T, Jakob H, *et al.* Myocardial protection by remote ischaemic pre-conditioning is abolished in sulphonylurea-treated diabetics undergoing coronary revascularisation. *Acta anaesthesiologica Scandinavica.* 2014; 58: 453-62.
- 194 Haroun-Bizri S, Houry SS, Chehab IR, Kassas CM, Baraka A. Does isoflurane optimize myocardial protection during cardiopulmonary bypass? *Journal of cardiothoracic and vascular anaesthesia.* 2001; 15: 418-21.
- 195 Landoni G, Fochi O, Torri G. Cardiac protection by volatile anaesthetics: a review. *Current vascular pharmacology.* 2008; 6: 108-11.

- 196 Lee MC, Chen CH, Kuo MC, Kang PL, Lo A, Liu K. Isoflurane preconditioning-induced cardioprotection in patients undergoing coronary artery bypass grafting. *European journal of anaesthesiology*. 2006; 23: 841-7.
- 197 Julier K, da Silva R, Garcia C, Bestmann L, Frascarolo P, Zollinger A, *et al*. Preconditioning by sevoflurane decreases biochemical markers for myocardial and renal dysfunction in coronary artery bypass graft surgery: a double-blinded, placebo-controlled, multicenter study. *Anesthesiology*. 2003; 98: 1315-27.
- 198 Schultz JE, Hsu AK, Gross GJ. Morphine mimics the cardioprotective effect of ischemic preconditioning via a glibenclamide-sensitive mechanism in the rat heart. *Circulation research*. 1996; 78: 1100-4.
- 199 Kersten JR, Schmeling TJ, Pagel PS, Gross GJ, Wartier DC. Isoflurane mimics ischemic preconditioning via activation of K(ATP) channels: reduction of myocardial infarct size with an acute memory phase. *Anesthesiology*. 1997; 87: 361-70.
- 200 Zaugg M, Lucchinetti E, Spahn DR, Pasch T, Schaub MC. Volatile anesthetics mimic cardiac preconditioning by priming the activation of mitochondrial K(ATP) channels via multiple signaling pathways. *Anesthesiology*. 2002; 97: 4-14.
- 201 Kokita N, Hara A, Abiko Y, Arakawa J, Hashizume H, Namiki A. Propofol improves functional and metabolic recovery in ischemic reperfused isolated rat hearts. *Anesthesia and analgesia*. 1998; 86: 252-8.
- 202 Turan R, Yagmurdur H, Kavutcu M, Dikmen B. Propofol and tourniquet induced ischaemia reperfusion injury in lower extremity operations. *European journal of anaesthesiology*. 2007; 24: 185-9.
- 203 Kottenberg E, Musiolik J, Thielmann M, Jakob H, Peters J, Heusch G. Interference of propofol with signal transducer and activator of transcription 5 activation and cardioprotection by remote ischemic preconditioning during coronary artery bypass grafting. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*. 2014; 147: 376-82.
- 204 Heusch G, Boengler K, Schulz R. Cardioprotection: nitric oxide, protein kinases, and mitochondria. *Circulation*. 2008; 118: 1915-9.

PRILOZI

Prilog 1. Informirani pristanak



KBD
Klinička bolnica Dubrava

KLINIKA ZA KIRURGIJU
Zavod za kardijalnu i transplantacijsku kirurgiju

Av. Gojka Šuška 6, 10000 Zagreb, Hrvatska, Tel. 01/290 2518, 290 3523; Fax. 01/290 3819; Email: kardkir@kbd.hr, www.kbd.hr/kardkir

INFORMIRANI PRISTANAK ISPITANIKA ZA SUDJELOVANJE U ISTRAŽIVANJU

Naziv istraživanja	Udaljeno ishemijsko prekondicioniranje kao metoda zaštite srčanog mišića od ishemije
Glavni istraživač	Mr.sc. Davor Barić, dr.med.
Šifra istraživanja	0001/10

Svojim potpisom potvrđujem slijedeće:

Pročitao sam i razumio *Obavijest ispitanika o istraživanju*, te mi je liječnik odgovorio na sva pitanja u vezi samog istraživanja.

Imao sam dovoljno vremena razmisliti o svom sudjelovanju u istraživanju i svjestan sam činjenice da je sudjelovanje u cijelosti dobrovoljno. Znam da mogu u svakom trenutku odustati od daljnjeg sudjelovanja, a da time ne utječem na kvalitetu svoga liječenja ili odnosa sa svojim liječnikom.

Shvaćam i pristajem da se koriste potrebni podaci iz moje medicinske dokumentacije, te da se obrađuju od strane ovlaštenih sudionika u ovom istraživanju.

Shvaćam da imam pravo pristupa svojim osobnim podacima te da u njima mogu ispraviti možebitne netočnosti.

Primio sam primjerak *Obavijesti ispitanika o istraživanju* te ovime potvrđujem da sam voljan dobrovoljno sudjelovati u opisanom istraživanju.

Potvrđujem svoje sudjelovanje ovoj studiji.

Ispitanik

Ime i Prezime Potpis Datum

ili

Ovlašteni zastupnik

Ime i Prezime Potpis Datum

Istraživač

Mr.sc. Davor Barić, dr.med. 

Ime i Prezime Potpis Datum

Prilog 2. Obavijest o istraživanju



KBD

Klinička bolnica Dubrava

Av. Gojka Šuška 6, 10000 Zagreb, Hrvatska, Tel. 01/290 2518, 290 3523; Fax. 01/290 3819; Email: kardkir@kdb.hr, www.kdb.hr/kardkir

KLINIKA ZA KIRURGIJU
Zavod za kardijalnu i transplantacijsku kirurgiju

OBAVIJEST O ISTRAŽIVANJU

Naziv istraživanja	Udaljeno ishemijsko prekondicioniranje kao metoda zaštite srčanog mišića od ishemije
Glavni istraživač	Mr.sc. Davor Barić, dr.med.
Šifra istraživanja	0001/10

Pozivamo Vas da sudjelujete u istraživanju čija je svrha prikupiti podatke vezane za dodatni način zaštite srca tijekom kardiokirurških operacija. Molimo Vas da ovu obavijest pažljivo pročitate i, ako to želite, porazgovarajte o njoj s drugima. Ukoliko mislite da nešto nije dovoljno jasno objašnjeno ili biste željeli doznati više podataka, molimo da nam to kažete.

Cilj ovog istraživanja je utvrditi u kolikoj mjeri tzv. **udaljeno ishemijsko prekondicioniranje** dodatno štiti srce tijekom predstojeće srčane operacije. Navedeni postupak sastoji se od napuhavanja manšete tlakomjera postavljene na desnoj ruci u trajanju od po 5 minuta u tri navrata. Postupak se obavlja tijekom opće anestezije te će za vas biti u potpunosti bezbolan i neškodljiv. Dosadašnja istraživanja pokazuju da se ovim postupkom može dodatno smanjiti rizik vaše operacije. Rezultati ovog istraživanja ponudit će nam dodatne odgovore o učinkovitosti ovog postupka.

Ispitanici koji su pozvani da sudjeluju u istraživanju su bolesnici kod kojih je planirana operacija na srčanim zaliscima. U istraživanje neće biti uključivani bolesnici koji imaju pridruženu bolest koronarnih arterija, kod kojih je riječ o hitnoj operaciji, bolesnici stariji od 80 godina, bolesnici s poznatom bubrenom ili jetrenom bolesti, bolesnici s perifernom vaskularnom bolesti gornjih ekstremiteta te dijabetičari na inzulinskoj terapiji.

Isključivo o Vama ovisi hoćete li sudjelovati u ovom istraživanju ili ne. Ukoliko odlučite sudjelovati, potpisat ćete obrazac kojim potvrđujete svoj pristanak. Međutim, sve do termina za koji je zakazana Vaša operacija, možete od istraživanja odustati, a da za to ne morate navoditi razloge. Odlučite li ne sudjelovati u ovom istraživanju ili se predomislite i odustanete prije operacije, bit će Vam osigurani isti standardi liječničkih usluga koje biste primili i da niste odustali.

Ukoliko pristanete sudjelovati, biti ćete nasumično svrstani u jednu od dvije skupine te biti izloženi postupku udaljenog ishemijskog prekondicioniranja ili biti u tzv. kontrolnoj skupini.

Ukoliko pristanete sudjelovati, za potrebe istraživanja koristit će se podaci iz Vaše medicinske dokumentacije. Sve informacije u potpunosti su anonimne. Vi osobno imate pravo pristupa svojim osobnim podacima prikupljenim za potrebe predmetnog istraživanja, kao i ispravke možebitnih netočnosti u njima. Podaci će biti prikazivani na medicinskim/znanstvenim skupovima, a mogu se prosljediti za objavljivanje u medicinskim časopisima. Vaš identitet neće se objaviti ni u jednom od prikaza ili publikacija.

Ovu studiju organizira Zavod za kardijalnu i transplantacijsku kirurgiju KB Dubrava. Kao ispitanik u ovom istraživanju, za svoje sudjelovanje u njemu nećete primiti nikakvu financijsku naknadu. Liječnik koji vas uključuje u predmetno istraživanje također za to ne prima nikakvu novčanu naknadu. Predmetno istraživanje pregledalo je i odobrilo Etičko povjerenstvo Kliničke bolnice Dubrava.

Zahvaljujemo Vam što ste pročitali ovu obavijest.

Odlučite li sudjelovati u predmetnoj studiji, dobit ćete primjerak ove obavijesti kao i vlastiti potpisani primjerak obrasca kojim potvrđujete svoj pristanak na sudjelovanje u njoj.

Istraživač

Mr.sc. Davor Barić, dr.med.

Ime i Prezime

Potpis

7.01.2013.

Datum

Prilog 3. Obrazac ispitanika

00 00 00 KBD

00 00 00 Klinička bolnica Dubrava

00 00 00

Zavod za kardijalnu i transplantacijsku kirurgiju
Klinika za anesteziju, reanimatologiju i intenzivno liječenje

Av. Gojka Šuška 6, 10000 Zagreb, Hrvatska, Tel. 01/290 2518, 290 3523; Fax. 01/290 3819; Email: kardkir@kdb.hr, www.kdb.hr/kardkir

Udaljeno ishemijsko prekondicioniranje kao metoda zaštite srčanog mišića od ishemije

BROJ	GRUPA*

*ispunjava se naknadno

OBRAZAC ISPITANIKA (CASE REPORT FORM)

BOLESNIK							
Dob (g)		Težina (kg)		Visina (cm)		BMI (kg/m ²)	

ISKLUČENJE IZ STUDIJE		
Pridružena bolest koronarnih arterija	ne	da
Planiran dodatni zahvat na mitralnom zalisku	ne	da
Hitna operacija ili reoperacija	ne	da
Starost >80 godina	ne	da
Poznata bubrežna ili jetrena bolest	ne	da
Šećerna bolest (IDDM ili NIDDM)	ne	da
Periferna vaskularna bolesti gornjih ekstremiteta	ne	da
Teška hipertrofija lijeve klijetke (IVS > 22mm)	ne	da
U prijeoperacijskom razdoblju korišten levosimendan	ne	da

TTE	Preoperativno	Postoperativno
DATUM		
AV grad. (peak)		
AV grad. (mean)		
AV regurgitacija		
LVEDd (mm)		
IVS (mm)		
LVPW (stražnja stijenka)		
EF (%)		

OPERACIJA					
Trajanje ishemije		Reperfuzija		Dodatna reperfuzija	
Retrogr. kardiopl.	ne da	Kardiopl. primjena	kontin. interm.	Broj defibrilacija	
IABP	ne da	LCOS	ne da		

OKK-OB-52/1
OKK-ZD3-PSK-4-RU-3-3

1 od 2

Prilog 4. Obrazac ispitanika (nastavak)

00 00 00 KBD

00 00 00 Klinička bolnica Dubrava

00 00 00

Zavod za kardijalnu i transplantacijsku kirurgiju
Klinika za anesteziju, reanimatologiju i intenzivno liječenje

Av. Gojka Šuška 6, 10000 Zagreb, Hrvatska, Tel. 01/290 2518, 290 3523; Fax. 01/290 3819; Email: kardkir@kdb.hr, www.kbd.hr/kardkir

JIL	Datum	Vrijeme	Trajanje
Dolazak			
Ekstubacija			
Premještaj			

HEMODINAMIKA	Prije OP	Nakon OP	24h nakon OP
Datum / vrijeme			
HR			
BP (sist/diast/mean)			
PAP (sist/diast/mean)			
CVP			
PCWP			
CO			
CI			
SV			
SVI			
PVR			
SVR			
LVSWI			
RVSWI			
Vazoaktivni lijekovi*			

* molim koristiti kratice: DOB, DOP, NA, A, NTG, MIL, LEV i dozu u $\mu\text{g/kg/min}$

LAB	Datum	Vrijeme	Troponin I	CK	CK-MB	L	CRP
Prije OP							
1h nakon op							
6h nakon OP							
24h nakon OP							
48h nakon OP							
72h nakon OP							

NAPOMENA

OKK-OB-52/1
OKK-ZD3-PSK-4-RU-3-3

2 od 2

9. ŽIVOTOPIS

- rođen 6. kolovoza 1972. godine u Zagrebu

Edukacija

- lipanj 1991. maturirao u Matematičko-informatičkom obrazovnom centru u Zagrebu
- lipanj 1997: diplomirao na Medicinskom fakultetu u Zagrebu s prosječnom ocjenom 4.6
- 28.01.1999. položio državni ispit pred komisijom Ministarstva zdravstva Republike Hrvatske
- listopad 2005: položio specijalistički ispit iz opće kirurgije
- svibanj 2010: položio ispit iz uže specijalnosti iz kardijalne kirurgije

Radno iskustvo

- srpanj 1997 – siječanj 1999: obavezni staž na Odjelu za kardijalnu kirurgiju KB “Dubrava”
- veljača 1999 – listopad 1999: odslužio obavezni vojni rok radeći kao liječnik
- studeni 1999 – srpanj 2000: radio na Odjelu za kardijalnu kirurgiju KB “Dubrava” u svojstvu volontera
- kolovoz 2000 – rujan 2005: specijalizacije iz opće kirurgije za KB “Dubrava”
- studeni 2000 - studeni 2001: studijski boravak u Klinici za kardijalnu, torakalnu i vaskularnu kirurgiju Medicinskog fakulteta u Hannoveru u sklopu stipendije Europskog uruženja za kardiorakalnu kirurgiju
- listopad 2005 – danas: kirurg na Zavodu za kardijalnu kirurgiju Kliničke bolnice Dubrava

Znanstvena djelatnost

- veljača 2002: upisao poslijediplomski studij na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, smjer Biologija, predmet Imunologija i fiziologija
- 27.4.2010. stekao naziv magistra znanosti na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu u Zagrebu obranivši temu "Primjene traneksamične kiseline u smanjenju krvarenja nakon kardiokirurških operacija"
- 14.9.2012. na Medicinskom fakultetu u Zagrebu obranio temu doktorske disertacije pod nazivom "Udaljeno ishemijsko prekondicioniranje kao metoda zaštite srčanog mišića od ishemije"
- autor i koautor 28 znanstvenih radova (14 CC indeksiranih)

Nastavna djelatnost

- listopad 2003: izabran u suradničko zvanje stručnog suradnika na Katedri za kirurgiju pri Visokoj zdravstvenoj školi u Zagrebu
- od 2005 u kumulativnom radnom odnosu na Zdravstvenom veleučilištu Zagrebu
- u studenom 2007. izabran u nastavno zvanje predavača pri Katedri za kirurgiju Zdravstvenog veleučilišta u Zagrebu
- u svibnju 2012. izabran u nastavno zvanje višeg predavača u području medicine i zdravstva, polje kliničke medicinske znanosti, grana kirurgija
- predavač na kolegiju "Upravljanje rizicima" poslijediplomskih studija Medicinskog fakulteta, Zdravstvenog veleučilišta i Škole narodnog zdravlja "A. Štampar"

Stručna djelatnost

- autor poglavlja "Informatika u kirurgiji, analiza ishoda i medicinska dokumentacija" u udžbeniku "Kirurgija" (T. Šoša i suradnici, Naklada Ljevak, 2007) Medicinskog fakulteta u Zagrebu
- autor poglavlja "Upravljanje kvalitetom u kliničkoj medicini" u udžbeniku "Medicinska informatika" (Josipa Kern, Mladen Petrovečki, Medicinska naklada, Zagreb;2009) Medicinskog fakulteta u Zagrebu

- organizator “Brano Radovancevic’s End Stage Heart Failure Summer Workshop” tijekom 61th Annual Meeting of European Society for Cardiovascular and Endovascular Surgery u Dubrovniku 25-28.4.2012. s 20 vodećih stručnjaka iz područja mehaničke potpore cirkulaciji
- voditelj tima koji je na Odjel za kardijalnu kirurgiju KB "Dubrava" uveo sustav upravljanja kvalitetom i 2005. proveo certifikaciju prema normi ISO9001:2000; licencirani interni auditor za normu ISO 9001:2000 (IRCA certified)
- autor računalne baze podataka "CardioBase" koja je u redovitoj uporabi na Odjelu za kardijalnu kirurgiju KB Dubrava od 1997.
- područja stručnog interesa:
 - osiguranje kvalitete u kirurgiji
 - mehanička potpora cirkulaciji
 - kirurško liječenje aneurizmi lijeve klijetke
 - hemostatski management u kardijalnoj kirurgiji

POPIS PUBLIKACIJA

1. Unić D, Barić D, Brkić K, Planinc M, Jonjić D, Rudež I et al. Off-pump myocardial revascularization attenuates endothelin-1 expression in systemic, pulmonary, and coronary circulation. *Wien Klin Wochenschr* 2014;126:710-717
2. Baric D. Why pulsatility still matters: a review of current knowledge. *Croat Med J.* 2014;55(6):609-620
3. Rudez I, Planinc M, Unic D, Baric D, Blazekovic R, Radolovic P et al. Concomitant heart transplantation and replacement of ascending aorta and proximal aortic arch. *Journal of Cardiovascular Surgery (Torino)* 2013;54(5):661-2
4. Unic D, Starcevic B, Sicaja M, Baric D, Rudez I, Biocic S et al. Aortic Valve Endocarditis in a Transplanted Heart After Urethral Instrumentation. *Ann Thorac Surg* 2013;96:e61-2
5. Sutlic Z, Baric D, Sikic J, Kristović D, Rudez I, Unic D, Planinc M, Jonjic D, Mrkonjic R. Oporavak nakon dugotrajne mehaničke cirkulatorne potpore u bolesnika s kroničnim zatajivanjem srca: prikaz bolesnika. *Liječ Vjesn* 2012;134:90-93
6. Skrlin J, Sutlic Z, Baric D, Rudez I, Unic D. Antimicrobial prophylaxis and infection control in case of mechanical cardiac support devices. *Rad Hrvatske akademije znanosti i umjetnosti, Medicinske znanosti* 2011;509(Suppl.
7. Sutlic Z, Cekol Z, Baric D, Rudez I, Unic D, Planinc M et al. Overview of New Mechanical Circulatory Support Devices. *Rad Hrvatske akademije znanosti i umjetnosti, Medicinske znanosti* 2011;509(Suppl. 36):123-132
8. Planinc M, Sutlic Z, Baric D, Sikic J, Bradic N, Rudez I et al. The First Clinical Use of Heart Mate II Left Ventricular Assist System in Croatia as a Bridge-to-Transplant: A Case Report. *Rad Hrvatske akademije znanosti i umjetnosti, Medicinske znanosti* 2011;509(Suppl. 36):93-99
9. Jonjic D, Planinc M, Sutlic Z, Baric D, Rudez I, Unic D et al. Long-term Mechanical Circulatory Support for Patients with Terminal Stage of Congestive Heart Failure: A Case Report. *Rad Hrvatske akademije znanosti i umjetnosti, Medicinske znanosti* 2011;506(Suppl. 36):61-66
10. Baric D, Sutlic Z, Rudez I, Unic D, Planinc M, Jonjic D et al. Long-term Mechanical Circulatory Support: Surgical Techniques. *Rad Hrvatske akademije znanosti i umjetnosti, Medicinske znanosti* 2011;509(Suppl. 36):13-17
11. Rudez I, Legac A, Baric D, Manojlović S, Unic D, Sutlic Z. Asymptomatic Calcifying Fibrous Pseudotumor Compressing Heart Cavities. *Ann Thorac Surg* 2011;91:291-293

12. Unić D, Barić D, Sutlić Ž, Rudež I, Ivković M, Planinc M et al. Long-term results after reconstructive surgery for aneurysms of the left ventricle. *Heart Surgery Forum* 2009;12:354-6
13. Rudež I, Unić D, Sutlić Ž, Biočina B, Barić D, Ivković M et al. Endoscopic radial artery harvesting reduces postoperative pain and neurologic complications. *Heart Surgery Forum* 2007;10(5):E363-5
14. Barić D, Brkić K, Sutlić Ž, Nikić N, Grubišić M, Devčić-Jeras A. Implementation and future development of quality management system according to ISO 9001:2000 standard at the Department of Cardiac Surgery, Dubrava University Hospital. *Business Excellence* 2007;1:11-21
15. Barić D, Biočina B, Unić D. Reply to Bidstrup and Yellowlees.. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2007;32(4):682-3
16. Barić D, Biočina B, Unić D, Sutlić Z, Rudež I, Bacić-Vrca V et al. Topical use of antifibrinolytic agents reduces postoperative bleeding: a double-blind, prospective, randomized study. *Eur J Cardiothorac Surg* 2007;31:366-371
17. Brkić K, Unić D, Sutlić Ž, Biočina B, Rudež I, Barić D et al. Neopterin kinetics after cardiac surgery with or without cardiopulmonary bypass. *Collegium Antropologicum* 2006;30(2):395-400
18. Vergles D, Sutlić Ž, Biočina B, Rudež I, Barić D, Unić D. Specifičnost kirurškog zahvata revaskularizacije miokarda u žena. *Acta med Croat* 2006;60(1):67-69
19. Štambuk B, Sutlić Ž, Biočina B, Rudež I, Barić D, Unić D i sur. Uznapredovala ishemija miokarda kod bolesnika sa šećernom bolešću - rani rezultati kirurškog liječenja. *Liječ Vjesn* 2005;127:112-115
20. Barić D, Cebotari S, Mertching H, Leyh R, Haverich A. Could 37 degrees C storage temperature extend homovital valve allograft viability?. *J Heart Valve Dis*. 2004;13(3):494-500
21. Biočina B, Sutlić Ž, Rudež I, Barić D, Unić D, Štambuk B. Multiple Arterial Off-Pump Coronary Artery Bypass Grafting: A 5-Year Experience with Clinical Results. *The Heart Surgery Forum* 2003;6(Suppl. 3):132-4
22. Maraković J, Biočina B, Sutlić Ž, Rudež I, Kolovrat M, Barić D et al. Surgical Treatment of Mediastinal Parathyroid Adenoma. *Acta med Croat* 2002;56:65-8
23. Sutlić Z, Unić D, Rudež I, Biočina B, Barić D, Kontić M. Implantation of aortic stentless bioprosthesis: case series. *Croat Med J*. 2002;43:649-51
24. Kallenbach K, Pethig H, Leyh R, Barić D, Haverich A, Harringer W. Acute dissection of the ascending aorta: first results of emergency valve sparing aortic root reconstruction. *Eur J Cardiothorac Surg* 2002;22:218-222

25. Barić D, Sutlić Ž, Biočina B, Rudež I. Informatička obrada podataka kao sredstvo osiguranja kontrole u kardijalnoj kirurgiji. *Acta med Croat* 2000;54(Suppl. 1):83-97
26. Škrilin J, Sutlić Ž, Biočina B, Nikić N, Barić D. Infekcije i kardijalna kirurgija – prevencija, nadzor i liječenje. *Acta med Croat* 2000;54(Suppl. 1):81-92
27. Sutlić Ž, Biočina B, Rudež I, Barić D, Cvjetko I. Minimalna invazivna koronarna kirurgija – stanje 2000. *Acta med Croat* 2000;54(Suppl. 1):57-65
28. Barić D, Biočina B, Sutlić Ž, Rudež I, Nikić N, Husedžinović I. Ekstenzivna primjena radijalne arterije u potpunoj arterijskog revaskularizaciji miokarda – naša iskustva. *Acta med Croat* 2000;54(Suppl. 1):71-75