

Expertos Invitados

OTRAS TÉCNICAS DIAGNÓSTICAS PARA EL ESTUDIO DE LAS DISTROFIAS MUSCULARES DE DUCHENNE/BECKER



Columnista Experto de SIIC
Dra. Yuset Montejo Pujadas

Investigador Agregado. Campo de especialización: Biología molecular y genética. Departamento de Neurogenética. Instituto de Neurología & Neurocirugía

Introducción

Las distrofias musculares de Duchenne/Becker (DMD/B) se encuentran entre las miopatías hereditarias más graves, con una incidencia de 1:3500 varones nacidos vivos¹ y un patrón de herencia recesivo ligado al sexo.² Sus principales características son la debilidad muscular, la hipertrofia de gemelos, así como la maniobra de Gower positiva. Estos síntomas provocan la invalidez en la primera década de vida y luego la muerte por insuficiencia respiratoria o cardíaca.³ Los pacientes aquejados por esta enfermedad presentan valores de fosfocreatinquinasa (CPK) en sangre muy elevados. El gen causante de la enfermedad se conoce como gen DMD, y se localiza en el brazo corto del cromosoma X en la región Xp21.1- 21.3.⁴

Por años se conoció la existencia de otra miopatía, muy parecida a la de Duchenne pero con síntomas menos severos; no fue sino hasta 1955 que Becker descubrió que tanto la DMD como la DMB son formas alélicas de un mismo gen.⁵ El gen DMD está constituido por 79 exones. Las mutaciones más frecuentes encontradas en éste son las deleciones, aunque pueden existir duplicaciones, mutaciones puntuales o traslocaciones.⁶

La proteína distrofina, codificada por este gen, fue aislada por primera vez en 1987. Presenta un PM = 427 kDa y está formada por 3685 aminoácidos.⁷ Su función se ha visto relacionada con la estabilidad que es capaz de proporcionarle a la membrana del músculo durante los ciclos de contracción y relajación y, además, con el anclaje de otras proteínas musculares citoplasmáticas a la membrana celular.⁸

El análisis de estas enfermedades se hace un poco complejo debido a la extensión y tasa de mutación del gen DMD. Las numerosas técnicas moleculares existentes para su estudio han contribuido a mejorar la calidad de vida de los pacientes y las familias portadoras; entre ellas se cuentan el Southern Blot, fragmentos de restricción de longitud Polimórficos (RFLP), Western Blot (WB) para el estudio de la proteína, y -la más utilizada por todos- la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).⁹ Sin embargo, existen otras técnicas que han permitido también la realización de otros estudios entre las que podemos citar:

1. Cromatografía líquida desnaturizante de alta resolución (DHPLC).
2. Método de secuenciación directa.
3. Amplificación y secuenciación simple utilizando oligonucleótidos internos (SCAIP).
4. Amplificación múltiple por sondas hibridadas.
5. Electroforesis por microchip.

Desarrollo

1. **Cromatografía líquida desnaturalizante de alta resolución (DHPLC)**

Este método permite detectar alteraciones de diferentes tamaños en el gen DMD. Aunque hay un ligero incremento en el costo, la técnica es, sin embargo, útil porque podemos encontrar hasta 92% de las mutaciones existentes en pacientes con DMD y DMB.¹⁰ Se trabaja con oligonucleótidos diseñados para una región determinada. Se fundamenta en la separación de fragmentos de ADN homodúplex y heterodúplex utilizando cromatografía líquida de fase reversa.¹¹ No se requiere la utilización de radioisótopos ni bromuro de etidio para la visualización de los resultados en esta técnica.

2. **Método de secuenciación directa**

Este método ha sido considerado demasiado caro y extenso, pero existe una forma más directa del estudio de deleciones a través de secuenciación de fragmentos específicos utilizando polimorfismo conformacional de simple cadena (SSCP). Los SSCP permiten detectar otras mutaciones que no sean deleciones, pero luego se necesita secuenciar para poder determinar donde se encuentra la mutación patogénica.¹² Por otro lado hay muchos gastos de tiempo, reactivos y personales.

3. **Amplificación y secuenciación simple utilizando oligonucleótidos internos (SCAIP).**

Se amplifican simultáneamente gran cantidad de exones y luego se procede a la secuenciación de la región amplificada por medio de un set interno de oligos. Esto garantiza el estudio de las dos cadenas y siete de los ocho promotores que presenta este gen. Por medio de este método se puede determinar el polimorfismo existente en la región de intrones estudiados y detectar el 2% de los pacientes con deleciones exónicas que no son detectadas por los métodos del PCR múltiple conocidos. Además, permite analizar a un gran número de pacientes de forma rápida, económica y eficiente al permitir la secuenciación de una gran parte del gen.¹³

4. **Amplificación múltiple por sondas hibridadas**

Se fundamenta en la recuperación de la sonda después de su hibridación por el ADN inmovilizado. Cada sonda es amplificada solamente con un juego de oligos. Al aplicar esta técnica, es posible determinar las deleciones o duplicaciones que pueden estar presentes en los 79 exones del gen DMD de un paciente afectado. La prueba tiene como ventaja que puede emplearse en diferentes laboratorios, ya que utiliza métodos tradicionales tales como southern blot y reacción en cadena de la polimerasa (PCR).¹⁴

5. **Electroforesis por microchip**

Constituye un método más rápido y menos trabajoso que el southern blot para determinar las mutaciones presentes en el gen DMD y realizar estudios de portadoras. Además, no se trabaja con radiactividad, que siempre conlleva algún riesgo para la salud, con la consiguiente protección al personal que realiza la prueba. Se utilizan instrumentos y reactivos comerciales, por lo que puede ser aplicado en laboratorios dedicados al diagnóstico de la enfermedad.¹⁵

Terapia génica

En los últimos años han adquirido desarrollo diferentes tipos de terapia: la génica, imposible de aplicar al hombre por problemas éticos y técnicos; y la de células somáticas, que utiliza genes previamente clonados y asociados con una determinada enfermedad.¹⁶ En el caso de la DMD, se ha utilizado la terapia de genes convencionales entre los que se encuentran vectores virales, plásmidos desnudos y trasplante de células, los cuales tienen problemas por los bajos resultados obtenidos en la mejoría de estos los pacientes afectados.

En estos momentos, se está trabajando con vectores de adenovirus y se ha modificado el proceso de maduración del ARN que participa en la síntesis de la proteína distrofina.¹⁷

Otro tipo de terapia sería aumentar la producción de utrofina, proteína presente en todas células musculares, que podría sustituir las funciones de la distrofina. Esta proteína se puede encontrar en la región donde hace contacto el nervio con el músculo, conocida como unión neuromuscular. La fibra muscular produce utrofina durante todo el período de vida fetal. Una vez que el feto está desarrollado, la utrofina es sustituida por la distrofina, de manera que es una vía muy prometedora para el tratamiento de esta patología.

Conclusiones

Cada día las técnicas moleculares utilizadas para el estudio de numerosas enfermedades que hasta estos momentos no tienen una terapia certera contribuyen a mejorar la calidad de vida de familias afectadas. En el caso de la DMD, se han podido realizar estudios de portadoras así como diagnósticos prenatales, y todos ellos han contribuido en algún grado al esclarecimiento de la enfermedad desde el punto de vista molecular.

BIBLIOGRAFÍA

1. Muller U, Grabel MB, Haberhausen G, Kohler A. Molecular basic and diagnosis of neurogenetic disorder. *Jof Neurological Sciences* 1994; 124:119-122.
2. Matsumo, Masafumi. Duchenne / Becker Muscular Dystrophy: From Molecular Diagnosis to Gene Therapy. *Brain and Development* 1996; 18:167-172.
3. Duchenne GA. Recherches sur la paralysie musculaire pseudohypertrophique or paralysie myosclerosique. *Arch Gen Med* 1868; 5(25):179-209.
4. Davies KE, Pearson PL et. al. Linkage analysis of two cloned DNA sequences flankling the DMD locus on the short arm of the human X chromosome. *Nucleic Acid* 1983; 8:2303.
5. Becker, PE. Two new families of bening sex- linked recessive muscular dystrophy. *Rewiew of Canadian Biology* 1962; 21: 551-566.
6. Abbs S. Prenatal diagnosis of DMD/B. *Prenatal Diagnosis* 1996; 16:1187-1198.
7. Hoffman EP, Brow RH, Kunkel LM. Dystrophin: the protein product of the DMD locus. *Cell*1987; 51:919-928.
8. Koenig M, Monaco AP, Kunkel LM. The complete sequence of dystrophin predicts rod- shaped cytoskeletal protein. *Cell* 1988; 53:219-228.
9. Montejo Yuset, Zaldivar Tatiana, Acevedo Ana María. Técnicas diagnósticas descritas en el estudio de la Distrofia Muscular de Duchenne/ Becker. *Rev. Neurol* 2002; 34(3): 278-281.
10. Bennett RR, den Dunnen J, O'Brien KF, Darras BT, Kunkel LM. Detection of mutations in the dystrophin gene via automated DHPLC screening and direct sequencing. *BMC Genet.* 2001; 2(1):17.
11. Emery AE. Population frequencies of inherited neuromuscular diseases. *Neuromuscular Disord* 1991, 1:1929.
12. Mendell Jr, Buzin CH, Feng J, Yan J, Serrano C, Sangani DS, Prior TW, Sommer SS. Diagnosis of Duchenne Muscular Dystrophy by enhanced detection of small mutations. *Neurology* 2001, 57:645- 650.
13. Flanigan KM, von Niederhausen A, Dunn DM, Alder J, Mendell JR, Weiss RB. Rapid direct sequence analysis of the dystrophin gene. *Am J Hum Genet* 2003; 72(4):931-939.
14. Armour JA, Sismani C, Patsalis PC, Croos G. Measurement of locus copy number by hybridisation with amplifiable probes. *Nucleic Acids Res* 2000, 28Ñ304-311.
15. Ferrance J, Snow K, Landers JP. Evaluation of microchip electrophoresis as a molecular diagnostic method for Duchenne muscular dystrophy. *Clin Chem.* 2002 Feb;48(2):380-3.
16. Yang L, Lochmuler H, Luo J, Massie B, Nalbantoglu J, Karpate G, Petrof BJ. Adenovirus- mediated dystrophin minigene transfer improves muscle strength in adult dystrophic (MDX) mice. *Gen Ther* 1998; 5(3):369-379.
17. Judith CT, Van Deutekom, Gert-Jan B, Van Ommen. Advance in Duchenne Muscular Dystrophy gene therapy. *Nature Rewiews Genetics* 2003, 4:774-783.

SINDROME COMPARTIMENTAL



Columnista Experto de SIIC
Dr. Constantinos Constantinou

Research Fellow Surgery.

Las extremidades superiores e inferiores son una compilación de compartimientos que contienen músculos, nervios y vasos envueltos por fascias o tensas. El síndrome compartimental se asocia con un aumento en la presión dentro de estos envoltorios tensos, y pone en riesgo la viabilidad de las estructuras incluidas.^{1,2}

Fisiopatología Isquemia:

La lesión de una arteria dominante de una extremidad causa la hinchazón o el agrandamiento posisquémico del tejido debido a la trasudación de líquido a través de los capilares de las membranas basales.^{3,4} Esto conduce a la compresión de los capilares y a la isquemia tisular.

Reperusión: Resulta en la producción de radicales libres que potencian la agresión a las membranas celulares ya dañadas y promueven la agregación plaquetaria y la coagulación de microvasos.^{5,6} La coagulación intravascular crea mayor anoxia y el círculo vicioso continúa.

Oclusión venosa: Aunque es poco común, la lesión y la trombosis ulterior de venas mayores de las extremidades pueden inducir anoxia por sí mismas debido a ectasia venosa, agrandamiento masivo agudo y compresión capilar.^{7,8} Es más común luego de la ligadura de las venas dañadas en lesiones combinadas arteriales y venosas.

Síntomas y signos

El pilar diagnóstico del síndrome compartimental es sospecharlo y diagnosticarlo tempranamente. Las seis P (*pain* [dolor], presión, parestesias, parálisis, ausencia de pulsos y palidez) se utilizan como regla mnemotécnica fácil para el diagnóstico clínico.⁹ El dolor es probablemente el síntoma más sensible porque es informado en forma invariable por todos los pacientes conscientes con una extremidad lesionada. Es el dolor desproporcionado con respecto a la lesión existente lo que alertará al facultativo experimentado. La presión se refiere a la sensación de tensión durante la palpación de la extremidad comprometida. Es probable que las parestesias sean los primeros síntomas en aparecer debido a que los nervios son muy sensibles a la lesión. La parálisis es causada tanto por compresión nerviosa prolongada como por daño muscular irreversible. Es casi siempre una manifestación tardía y una indicación de que el diagnóstico se retrasó. La ausencia de pulsos es en realidad otro síntoma que nunca debería estar presente si el diagnóstico del síndrome compartimental fue realizado a tiempo. El mismo principio previamente descrito se aplica a la palidez. Así, en ubicación distal a los compartimientos involucrados, la perfusión se conserva debido al flujo sanguíneo inalterado a través de las arterias mayores, el color de la piel debería ser normal (rosado y no pálido).

Medición de las presiones y pruebas de laboratorio

Monitoreo de la presión intracompartimental

La presión en el compartimiento puede medirse directamente mediante la introducción de una aguja conectada a un transductor de presión. El dispositivo más usado es el sistema de monitoreo de presión intracompartimental de Stryker. Es importante medir todos los compartimientos en el área de la extremidad de interés. Las presiones menores a 20 mm Hg son aceptables, mientras que las mayores a 30 mm Hg generalmente indican la presencia de un síndrome compartimental. Los valores comprendidos entre ambos pertenecen a la "zona gris".^{1,2,10} No existe un umbral absoluto de presión que esté confiablemente asociado con el síndrome compartimental. Un examen clínico minucioso es más importante. La combinación de hallazgos clínicos y las mediciones de presión establecerán el diagnóstico. Más que la presión intracompartimental absoluta, se ha sugerido la presión de perfusión como indicador más fiable del síndrome compartimental: es la diferencia entre la presión arterial media y la presión intracompartimental, también conocida como delta p (ΔP). Luego de fractura tibial se mostró que si la ΔP permanece satisfactoria, los pacientes con presiones intramusculares no tienen mayor incidencia de síndrome

compartimental que aquellos con presiones bajas.¹¹

Creatina fosfoquinasa sérica y mioglobina

La creatina fosfoquinasa sérica (CPK) ha sido utilizada como marcador del síndrome compartimental.^{12,13} Esta enzima indica necrosis muscular.^{13,14} Así, las elevaciones más allá de los niveles normales equivalen a daño permanente de fibras musculares. La CPK no es apropiada para la detección temprana, pero sus tendencias son útiles para monitorear la progresión de síndromes equívocos o de compartimientos recientemente descomprimidos. Cuando el diagnóstico del síndrome no es claro la determinación de la CPK puede utilizarse como herramienta adicional para tomar una decisión. Los niveles de más de 520 U son anormales y los superiores a 5 000 U se asocian con daño muscular importante y colocan al paciente con riesgo elevado de falla renal. En pacientes críticamente lesionados, el pico de CPK se produce dentro de las 96 horas y un nuevo aumento o persistencia de valores elevados luego de su pico pueden indicar nuevo daño muscular o daño muscular en curso. De forma similar, luego de la descompresión, los niveles de CPK deberían mostrar tendencia al descenso. La mioglobinuria es también otro marcador de lisis de células musculares.^{15,16} Puede ser diagnosticada en forma errónea y confundida con hematuria. Una prueba urinaria de benzidina para sangre oculta en ausencia de eritrocitos es la clave para el diagnóstico. Otros hallazgos de laboratorio, como anemia, hiperkalemia, hipocalcemia, hiperfosfatemia, trombocitopenia, uremia y acidosis metabólica sirven sólo para indicar la carencia de tratamiento temprano de síndrome compartimental.^{15,16}

Oximetría de pulso y espectroscopia cercana al infrarrojo

Se propuso la oximetría de pulso como ayuda para el monitoreo del aumento de las presiones intracompartimentales pero no resultó confiable. La espectroscopia cercana al infrarrojo es un método nuevo que puede evaluar el nivel de oxihemoglobina muscular.^{17,18} La saturación de la oxihemoglobina normal del músculo es aproximadamente 85%. Los valores menores a 60% se correlacionan con el síndrome compartimental. La limitada investigación realizada hasta la fecha con esta técnica no permite obtener conclusiones seguras sobre su uso.

Tratamiento

El estándar actual de cuidado obliga a la descompresión quirúrgica para los síndromes compartimentales establecidos.^{1,2,13,18,19-22} La fasciotomía realizada a lo largo del eje longitudinal del compartimiento entero libera la presión y restaura la microperfusión. Los elementos más importantes de una fasciotomía exitosa son las incisiones adecuadas de la piel y de las fascias.

Extremidades inferiores

Para completar una fasciotomía de la pierna en cuatro compartimientos se utiliza una incisión lateral y una medial (Figuras 1 y 2). En forma alternativa, una única incisión lateral puede usarse para descomprimir los cuatro compartimientos²³ (Figura 3). En el muslo se utiliza una incisión lateral y una medial (Figura 4), y en las circunstancias infrecuentes de síndrome compartimental del pie. Una incisión cutánea lateral semicircular se emplea para los glúteos.



Figure 1. Lateral and medial leg incisions for a four-compartment fasciotomy. The lateral and anterior compartments are decompressed through the lateral incision and the superficial and deep posterior compartments through the medial incision.

Figura 1. Incisiones mediales y laterales de la pierna para una fasciotomía de cuatro compartimientos. Los compartimientos anterior y lateral se descomprimen a través de la incisión lateral y los compartimientos superficial y profundo posterior a través de la incisión medial.

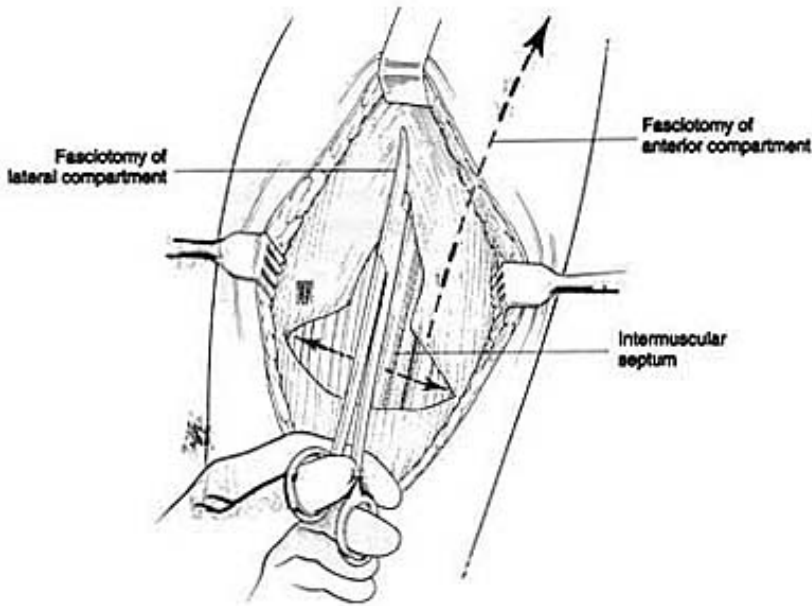


Figure 2. A lateral incision. When in doubt on the location of the compartments, a horizontal incision helps identify the intermuscular septum. The anterior compartment lies anteriorly to it and the lateral compartment posteriorly to it.

Figura 2. Incisión lateral. Cuando se tienen dudas acerca de la localización de un compartimiento, una incisión horizontal ayuda a identificar el tabique intermuscular. El compartimiento anterior descansa en posición anterior a ésta y el compartimiento lateral lo hace en forma posterior.

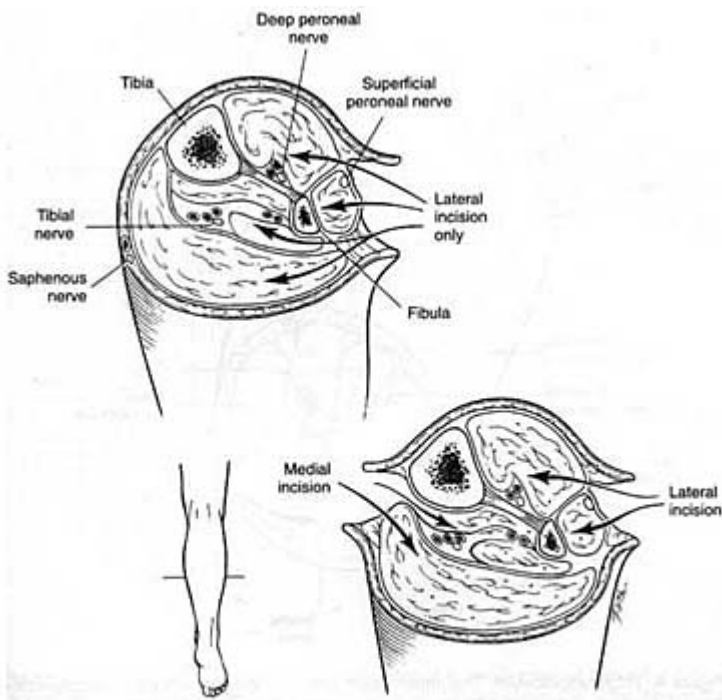


Figure 3. Four-compartment fasciotomy can be accomplished by two incisions (a medial and a lateral) or a single lateral incision.

Figura 3. Fasciotomía de cuatro compartimientos que puede lograrse mediante dos incisiones (una medial y una lateral) o una sola incisión lateral.

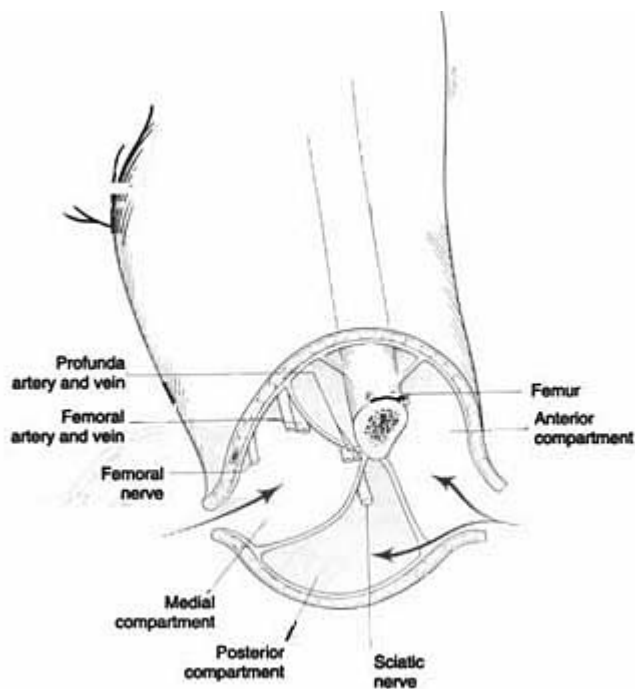


Figure 4. Thigh fasciotomies. The anterior and posterior compartments are decompressed through a lateral incision and the medial compartment through a medial incision.

Figura 4. Fasciotomías del muslo. Los compartimientos anterior y posterior se descomprimen a través de una incisión lateral y el medial a través de una incisión medial.

Extremidades superiores Las incisiones rectas laterales y mediales se utilizan para descomprimir los compartimientos anteriores y posteriores del brazo, respectivamente (Figura 5). Una incisión cutánea dorsal y volar se utiliza para el antebrazo (Figura 6). La incisión dorsal es recta pero la volar debería formar preferentemente una "S- lenta" o, de forma alternativa, se puede utilizar una incisión volar recta (Figura 7). Para descomprimir los compartimientos de la mano se utilizan cinco

incisiones cortas.

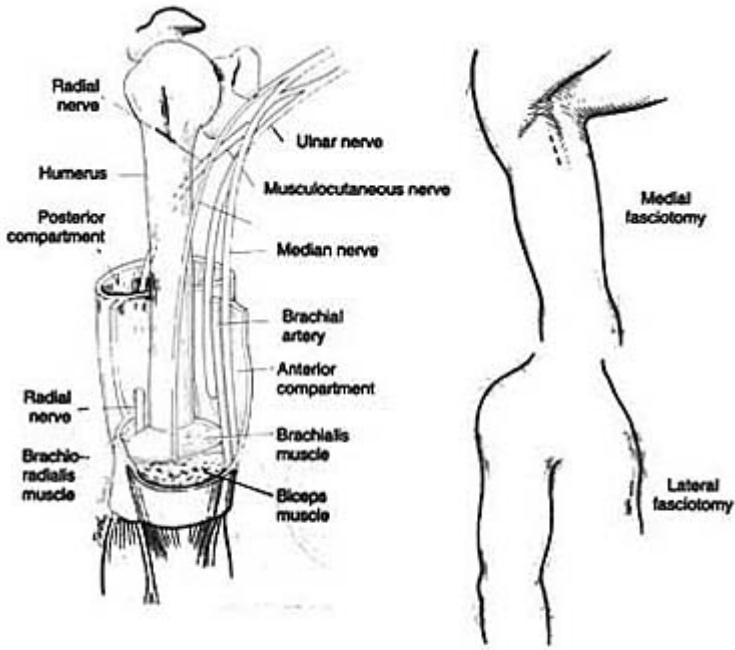


Figure 5. Arm fasciotomies. The anterior compartment is decompressed through a medial incision and the posterior through a lateral incision. Observe that the ulnar and radial nerves travel in both compartments; therefore, increase in pressure in any of the two will produce symptoms along the distribution of both nerves.

Figura 5. Fasciotomías del brazo. El compartimiento anterior se descomprime a través de una incisión medial y el posterior a través de una incisión lateral. Obsérvese que los nervios cubital y radial viajan a través de ambos compartimientos. Así, el incremento en la presión en alguno de los dos producirá síntomas a lo largo del territorio de distribución de los nervios.

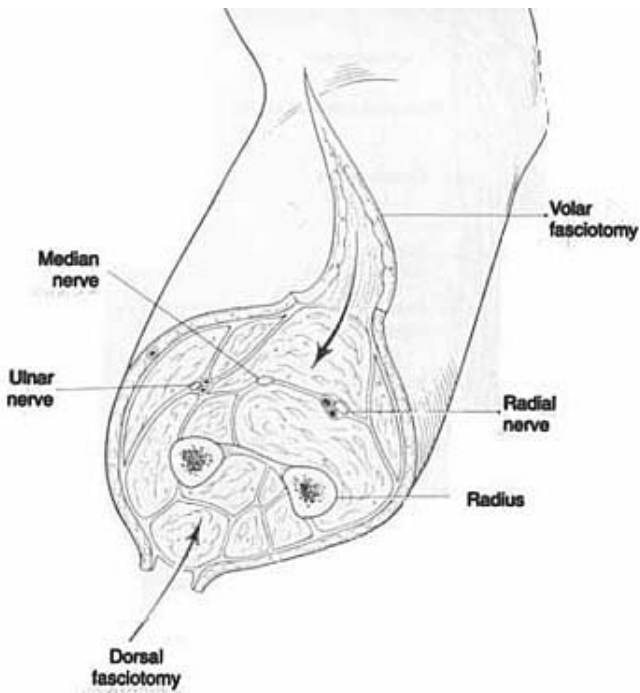


Figure 6. Decompression of compartments of the forearm.

Figura 6. Descompresión de los compartimientos del antebrazo.

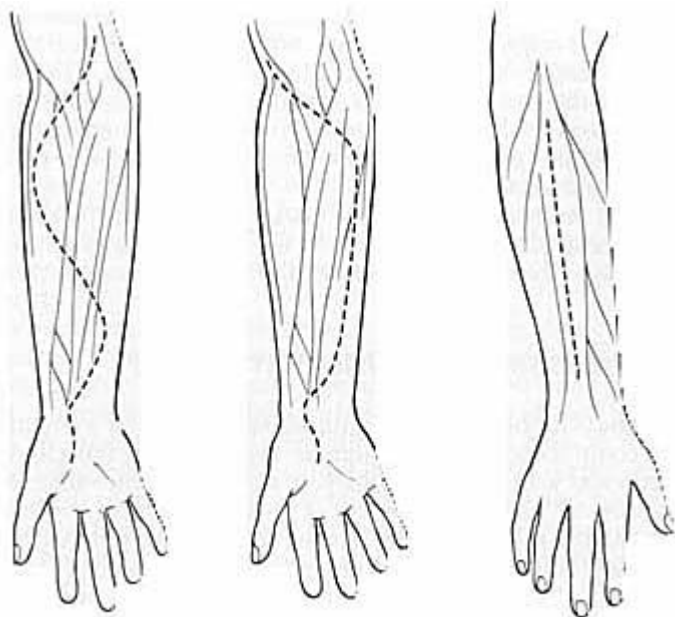


Figure 7. Volar (S-type or straight) and dorsal (straight) incisions for forearm fasciotomies

Figura 7. Incisiones volar (forma de S o recta) y dorsal (recta) para las fasciotomías del antebrazo.

Intervenciones farmacológicas

Un número variado de agentes farmacológicos han sido diseñados para eliminar los radicales libres de oxígeno, para revertir la producción de citoquinas dañinas y aliviar la lesión por isquemia-reperusión⁶. A pesar de sus ventajas hipotéticas no existe un beneficio establecido en ensayos humanos. El manitol se utilizó para prevenir el síndrome compartimental debido a sus propiedades de reducción de edema y de eliminación de radicales libres.

Prevención de la falla renal

Para prevenir la insuficiencia renal secundaria a rhabdomiólisis en pacientes con síndrome compartimental se emplean la hidratación enérgica junto con manitol y bicarbonato. La expansión volumétrica temprana es el factor más significativo para la prevención de la insuficiencia renal aguda.²⁴ En un estudio pequeño de Homsy y col. no hubo diferencias en los resultados entre la expansión de volumen con solución salina o con el agregado de manitol o bicarbonato.²⁵ El manitol contrarresta los tres mecanismos que se piensa son causantes del deterioro renal en la rhabdomiólisis: dilata y disminuye la viscosidad de los vasos renales incrementando la presión de perfusión renal; tiene efecto diurético al eliminar acúmulos de los túbulos y tiene acción antioxidante al eliminando el efecto de los radicales libres de la nefrona. Se piensa que el bicarbonato previene la insuficiencia renal al evitar la precipitación de los productos de degradación de la mioglobina en los túbulos mediante la alcalinización de la orina. A pesar de la ventaja hipotética del manitol/bicarbonato para prevenir la insuficiencia renal, su acción protectora no está apoyada por la literatura. Aunque los valores de CPK mayores a 5 000 U incrementan el riesgo de falla renal, la experiencia con casi 2 000 pacientes con valores anormales de CPK que fueron internados en la Unidad de Cuidados Intensivos de nuestro centro mostró que el tratamiento con manitol/bicarbonato no redujo ese riesgo, como tampoco evitó la necesidad de diálisis ni redujo la mortalidad. Aunque existen algunas indicaciones de que podría ser beneficioso en pacientes con valores de CPK mayores a 30 000 U.²⁶

Complicaciones del síndrome compartimental

Se podría pensar en complicaciones locales o sistémicas.^{1,2,9,16,23} Las locales incluyen infección y necrosis muscular. Para prevenir las infecciones, las fasciotomías y los siguientes cambios de vendajes deberían realizarse de forma estéril. El músculo necrótico se convierte gradualmente en tejido rígido, lo que genera contracturas de Volkmann si se dejan sin terapia física. Las complicaciones sistémicas pueden estar dirigidas hacia cualquier órgano. La insuficiencia renal, el síndrome de distrés respiratorio del adulto, la insuficiencia cardíaca y la coagulación intravascular diseminada son las complicaciones sistémicas más frecuentemente halladas. El riesgo para su desarrollo es proporcional a la cantidad de sustancias tóxicas liberadas a partir del músculo

isquémico, lo que es proporcional a la masa muscular y a la duración de la isquemia. Los autores no manifiestan conflictos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Matsen FA III. Compartmental syndromes. New York, Grune and Stratton, 1980;pp 1-162.
2. Mubarak SJ, Hargens AR. Compartment syndromes and Volkmann's contracture. Philadelphia, WB Saunders, 1981, pp 1-232.
3. Harris K, Walker PM, Mickle DAG, et al. Metabolic response of skeletal muscle to ischemia. *Am J Physiol* 1986;250:213-20.
4. Moore RE, III, Friedman RJ. Current concepts in pathophysiology and diagnosis of compartment syndrome. *J Emerg Med* 1989;7:657-62.
5. Davies MG, Hagen PO. The vascular endothelium. A new horizon. *Ann Surg* 1993;218:593-609.
6. Allen DM, Chen L, Seaber AV, et al. Pathophysiology and related studies of the no reflow phenomenon in skeletal muscle. *Clin Orthop* 1995;314:122-33.
7. Ames A, Wright RL, Kowada M, et al. Cerebral ischemia – the no reflow phenomenon. *Am J Pathol* 1968;52:437-53.
8. Granger DN. Role of xanthine oxidase and granulocytes in ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol* 1988;1363-6135:H1269-H1275.
9. Grishame MB, Jefferson MM, Thomas EL. Role of monochloramine in the oxidation of erythrocyte hemoglobin by stimulated neutrophils. *J Biol Chem* 1984;259:6757-65.
10. Petrone WF, English DK, Wong K, et al. Free radicals and inflammation: Superoxide-dependent activation of a neutrophil chemotactic factor in plasma. *Proc Natl Acad Sci* 1979;77:1159-63.
11. Hofmeister EP, Shin AY. The role of prophylactic fasciotomy and medical treatment in limb ischemia and revascularization. *Hand Clin N Am* 1998;14:457-65.
12. Yassin MM, Harkin DW, Barros D'Sa AA, et al. Lower limb ischemia-reperfusion injury triggers a systemic inflammatory response and multiple organ dysfunction. *World J Surg.* 2002;1:115-21.
13. Cywes S, Louw JG. Phlegmasia cerulea dolens: successful treatment by relieving fasciotomy. *Surgery* 1962;51:169-72.
14. Dennis C. Disaster following femoral vein ligation for thrombophlebitis: relief by fasciotomy. *Surgery* 1945;17:264-9.
15. Gulli B, Templeman D. Compartment syndrome of the lower extremity. *Orthop Clin N Am* 1994;25:677-84.
16. Hill SL, Bianchi J. The gluteal compartment syndrome. *Am Surg* 1997;9:823-6.
17. Doyle J. Anatomy of the upper extremity muscle compartments. *Hand Clin N Am* 1998;14:343-64.
18. Velmahos GC, Vassiliu P. Extremity compartment syndrome. In: *Trauma Management*. D Demetriades, JA Asensio (eds). Landes Bioscience 2000, pp 405- 12.
19. Hargens AR, Akeson WH, Mubarak SJ, et al. Interstitial fluid pressure in muscle and compartment syndrome in man. *Microvasc Res* 1977;14:1-10.
20. Matsen FA, III, Mayo KA, Sheridan GW, Krugmire RB, Jr. Monitoring of intramuscular pressure. *Surgery* 1976;79:702-9.
21. Rorabek CH, Clarke KM. The pathophysiology of the anterior tibial compartment syndrome: an experimental investigation. *J Trauma* 1978;18:299-304.
22. Sheridan GW, Matsen FA, III, Krugmire RB, Jr. Further investigation on the pathophysiology of the compartmental syndrome. *Clin Orthop Relat Res* 1977;123:266-70.
23. Hargens AR, Mubarak SJ. Current concepts in the pathophysiology, evaluation, and diagnosis of compartment syndrome. *Hand Clin N Am* 1998;14:371-83.
24. White TO, Howell GE, Will EM, et al. Elevated intramuscular compartment pressures do not influence outcome after tibial fracture. *J Trauma.* 2003;55:1133- 8.
25. Robbs JV, Baker LW. Late revascularization of the lower limb following acute arterial occlusion. *Br J Surg* 1979;78:490-3.
26. Oda J, Tanaka H, Yoshioka T, et al. Analysis of 372 patients with crush syndrome caused by the Hanshin-Awaji earthquake. *J Trauma* 1997;42:470-6.
27. Vanholder R, Sever MS, Ereke E, et al. Rhabdomyolysis. *J Am Soc Nephrol.* 2000;11:1553-61
28. Lappalainen H, Tiula E, Uotila L, et al. Elimination kinetics of myoglobin and creatine kinase in rhabdomyolysis: implications for follow-up. *Crit Care Med.* 2002;30:2212-5.
29. Ward MM. Factors predictive of acute renal failure in rhabdomyolysis. *Arch Inten Med* 1988;148:15537.
30. Knottenbelt JD. Traumatic rhabdomyolysis from severe beating-Experience of volume diuresis in 200 patients. *J Trauma* 1994;37:214-9.
31. Nimmo GR, Lambie AT, Cumming AD. Rhabdomyolysis and acute renal failure. *Intens Care Med* 1989;15:486-7.
32. Mars M, Hadley GP. Failure of pulse oximetry in the assessment of raised limb intracompartmental pressure. *Injury* 1994;25:379-81.
33. Giannotti G, Cohn SM, Brown M, et al. Utility of near-infrared spectroscopy in the diagnosis of lower extremity compartment syndrome. *J Trauma* 2000;48:396- 401.
34. Garr JL, Gentilello LM, Cole PA, et al. Monitoring for compartmental syndrome using near-I spectroscopy: A noninvasive, continuous, transcutaneous monitoring technique. *J Trauma* 1999;46:613-8.

35. Gentilello LM, Sanzone A, Wang L, et al. Near-infrared spectroscopy versus compartment pressure for the diagnosis of lower extremity compartmental syndrome using electromyography-determined measurements of neuromuscular function. *J Trauma*. 2001;51:1-8.
36. Shah PM, Wapnir I, Babu S, et al. Compartment syndrome in combined arterial and venous injury of the lower extremity. *Am J Surg* 1989;158:136-41.
37. McGee DL, Dalsey WC. The mangled extremity. Compartment syndrome and amputations. *Emerg Clin N Am* 1992;10:783-800.
38. Perry MO. Compartment syndromes and reperfusion injury. *Surg Clin N Am* 1988;68:853-68.
39. Velmahos GC, Theodorou D, Demetriades D, et al. Complications and nonclosure rates of fasciotomy for trauma and related risk factors. *World J Surg* 1997;21:247-53.
40. Matsen FA, Krugmire RB. Compartment syndromes. *Surg Gynecol Obstet* 1978;147:943-9.
41. Hallock GG. An endoscopic technique for decompressive fasciotomy. *Ann Plast Surg* 1999;43:668-7
42. Herbert KJ, Hickey MJ, Lepore DA, et al. Effects of the endothelin receptor antagonist Bosentan on ischaemia/reperfusion injury in rat skeletal muscle. *Eur J Pharmacol*. 2001 Jul 13;424:59-67.
43. Ron D, Taitelman U, Michaelson M, et al. Prevention of acute renal failure in traumatic rhabdomyolysis. *Arch Intern Med*. 1984 Feb;144:277-80.
44. Homsí E, Barreiro MF, Orlando JM, et al. Prophylaxis of acute renal failure in patients with rhabdomyolysis. *Ren Fail*. 1997 Mar;19:283-8.
45. Brown CV, Rhee P, Chan L, et al. Preventing renal failure in patients with rhabdomyolysis: Do bicarbonate and mannitol make a difference? *J Trauma* (in press).
46. Lagerstorm CF, Reed LR, Rowlands BJ, et al. Early fasciotomy for acute clinically evident post-traumatic compartment syndrome. *Am J Surg* 1989;158:36-40.
47. Fiedl CK, Senkowsky J, Hollier LH, et al. Fasciotomy for vascular trauma: is it too much, too often? *Am Surg* 1994;60:409-13.
48. Fitzgerald AM, Gaston P, Wilson Y, et al. Long-term sequelae of fasciotomy wounds. *Br J Plast Surg* 2000;53:690-3.
49. Harris I. Gradual closure of fasciotomy wounds using a vessel loop shoelace. *Injury* 1993;24:565-7.
50. Almekinders LC. Gradual closure of fasciotomy wounds. *Orthop Rev* 1991;20:82-4.
51. Hirvensalo E, Tuominen H, Lapinsuo M, et al. Compartment syndrome of the lower limb caused by a tourniquet: A report of two cases. *J Orthop Trauma* 1992;4:469-72.