

Köpeklerde deneysel myokard reperfüzyonunun morfolojik bulguları*

(Işık mikroskopik gözlemler)

Dr. N. Engin Aydın** Dr. Hikmet Koçak*** Dr. Fatma Şimşekli**
Dr. Mustafa Cerrahoğlu** Dr. Murat Demiriz**

ÖZET

Genel aneztesi altında sol koroner arterin ön inen dalı bağlanan ve 60 dakika sonra açılarak tekrar kanlanmanın sağlandığı köpek myokardındaki ışık mikroskopik bulgular incelendi. Reperfüzyon öncesi, myokard zedelenmesini azaltmak amacıyla verilen superoksid dismutaz ve indirgenmiş glutatyonun kalp hemodinamiğini olumlu yönde etkilemesine karşın ışık mikroskopik farklılık doğurmadığı görüldü. Bulguların bu konuda ileriye dönük detaylı çalışmaları desteklediği izlendi.

Anahtar kelimeler: reperfüzyon zedelenmesi, myokard, deneysel.

Deney hayvanlarında ana koroner arterlerin tıkanmasını takiben oluşturulan reperfüzyonun insandaki myokard iskemisine benzerliği ve değişik parametreler altında incelenebilmesi geçerli bir deneysel modeldir.^{1,4} İskemik bölgenin reperfüzyonu sonucu elde edilen bulgular burada tekrar kanlanma ile doku hasarının oluşabileceğini göstermiştir.^{2,5,6} Reperfüzyon zedelenmesi olarak bilinen bu durumun oluşmasındaki başlıca etkenler; tekrar akımın engellenebileceği mikrosirkülasyon bozuklukları ve oksijen serbest radikallerinin (OSR) toksik etkisi söz konusudur. Bu çalışmada OSR temizleyicisi olarak bilinen superoksid dismutaz (SOD) ve indirgenmiş glutatyon (GSH) tekrar kanlanma öncesi verilerek etkileri gözlemlendi.

GEREÇ VE YÖNTEM

Deneyde ortalama ağırlıkları 16,5 kg olan melez cins köpekler kullanıldı. Pentotal anestezisi sağlandıktan sonra, %35 oksijen ve %65 azot karışımı ile ventilasyon sağlandı. Gerekli ön hazırlıklardan sonra sol koroner arterin ön inen dalı birinci diagonalden hemen sonra bağlandı, 60 dakikalık bağlamadan sonra damar tekrar açılarak gene aynı sürede reperfüzyon sağlandı ve deney lethal dozda potasyum klorür verilerek sonlandırıldı. Deneyde

* IX. Ulusal Patoloji Kongresi, 1990 İzmir'de serbest bildiri olarak sunulmuştur.

** Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji

*** Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi GKDC

SUMMARY

Light microscopic findings of reperfused canine myocardium after a 60 minute occlusion of left anterior descending branch of left coronary artery were evaluated. Though the infusion of superoxide dismutase and reduced glutathione was beneficial to cardiac performance, there was not any light microscopic difference. Our findings give support to further detailed investigation of this model.

Key words: reperfusion injury, myocardium, experimental.

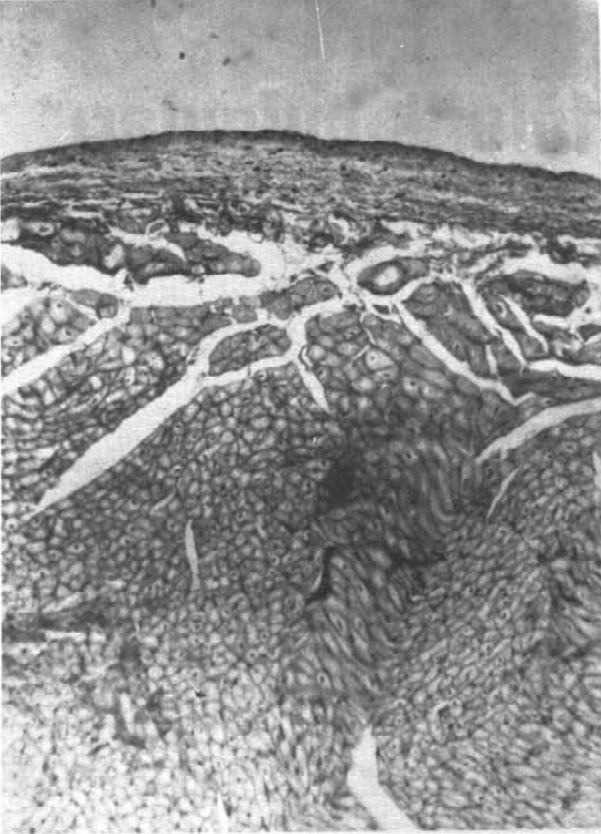
reperfüzyon öncesi superoksid dismutaz (SOD) 300,000 ü/lt ve indirgenmiş glutatyon (GSH) 0,1 mmol/lt infüzyonu yapılan bir grup oluşturuldu. Hemodinamik inceleme için her iki grupta yedişer köpek sağlandıysa da çeşitli nedenlerle (gecikmiş tespit vb.) parafin doku takibi ile ışık mikroskopu incelemesi üçer köpekte yapılabildi. Bağlamanın hemen distalinden apekse dek ve apeksden aort köküne dek kesitler alınarak parafin bloklama sonrası Hematoksilen-eosin, ayrıca diazotaz öncesi ve sonrası Periyodik asit Schiff reaksiyonu ile ışık mikroskopik kesitler incelendi.

Gereç ve yöntemin ayrıntıları kalp hemodinamiğine ait verilerin detaylı şekilde bulunduğu yazıdadır.⁶

BULGULAR

Reperfüzyon döneminde 30 ve 60'ıncı dakikalarda kalp debisi, ortalama arteriel basınç, koroner perfüzyon basıncının SOD ve GSH verilmiş grupta daha yüksek, kalp hızı, "rate pressure product" ve "triple index" in daha düşük olduğu gözlenerek kardiyak performansın düzeldiği görüldü.⁶

Deney sonunda tespit öncesi ve sonrası makroskopik olarak incelenen kalplerde belirgin bir bulgu saptanmadı. Gerek Hematoksilen-eosin gerekse PAS reaksiyonu ile incelenen kesitlerde myokard içinde kapiller damarların seçilemediği ve tüm tabakada soluk PAS reaksiyonu bulunduğu görüldü (Resim 1).



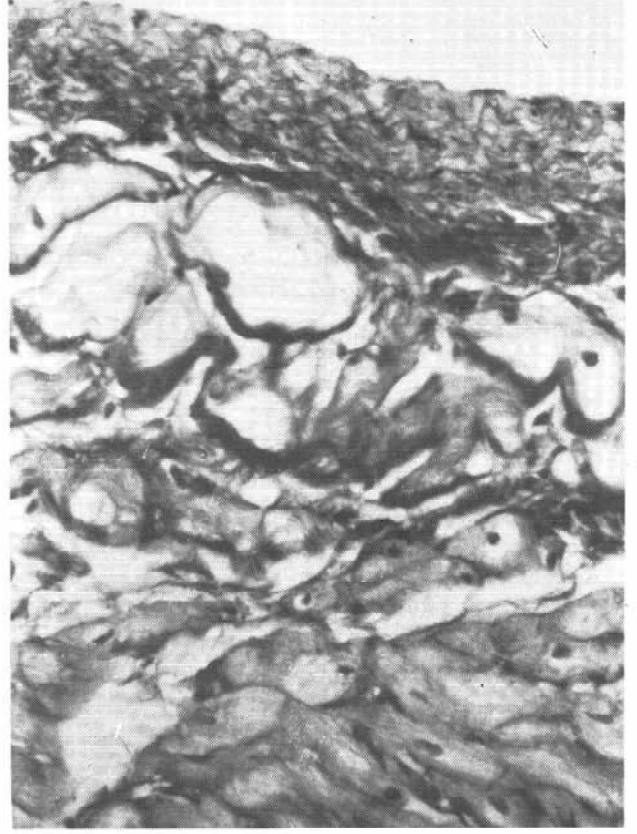
Resim 1: Myokard liflerinin soluk PAS reaksiyonu, (Diastazsız PAS, x100)

Subendokardial myokard liflerinde daha belirgin şişme ve soluk PAS pozitif sitoplazmanın periferde izlendiği dikkati çekti (Resim 2). Bu görünüm her iki grupta da izlendi.

SOD ve GSH verilmemiş olan gruptaki bir myokard kesitinde belirgin şekilde kapiller içi lökosit yığılması bulunduysa da hiçbirinde myokard içi lökosit infiltrasyonu görülmedi. Kontraksiyon bandı nekrozu veya hemorajik bir gelişme izlenmedi.

TARTIŞMA

Hipoksinin ilk etki ettiği nokta hücresel oksijenli solunum sistemi yani mitokondrial oksidatif fosforilasyondur.^{7,8} Böylece ortaya çıkan ATP kaybı hücre içi bir çok sisteme yaygın olarak etki eder. ATP/AMP oranının düşmesi sonucu fosfofruktokinaz ve fosforilaz enzimlerindeki aktivite artışıyla anaerob glikoliz yoluyla glikojenden ATP sağlanmaya çalışılır. Böylece glikojen hızlı fakat verimsiz bir şekilde tüketilmiş olur. Bu durum mikroskopik kesitlerde soluk PAS reaksiyonu olarak yansıyan bir bulgu verir. Böylesi bir zedelenmenin erken dönem bir bulgusu da hücre zarında ATP'ye bağımlı Na-K pompasının yetersiz kalması yani hücre içi Na birikmesi, buna bağlı olarak su-



Resim 2: Subendokardial hücrelerin daha büyük büyütmede görünümü, (Diastazsız PAS, x400).

yun katılmasıyla akut hücre şişmesi (veya ödemi)nin oluşmasıdır.^{1,7,8} İnorganik fosfatlar, laktatlar ve purin nükleositlerinin de hücre için birikmesi bu bulguyu daha da artırır. Bu değişiklikler reversibl olup hipoksinin uzaması halinde irreversibl olarak tanımlanan değişiklikler ortaya çıkar. Bu noktada gene kritik seviyede bir ATP azalmasına bağlı olarak hücre zarı harabiyetinin anahtar rol oynadığına inanılmaktadır. Bu noktada oksijen serbest radikallerinin önemli bir etkisi vardır.^{4,5,7,9,10} Bu bileşikler başlıca superoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri olup myokard iskemisinde az miktarda açığa çıkmaktaysa da kan akımının tekrar sağlanmasında, yani reperfüzyonda artmaktadır. Reperfüzyon esnasında artan bu OSR'lerinin temel kaynakları olarak mikrosirkülasyonun tıkanması, bu bölgeye lökositlerin sızması düşünülmektedir.^{3,5}

Toksik OSR'lerinin organizmada enzimatik yolla ortadan kaldırılabilmesi superoksidi hidrojen peroksit'e çeviren SOD, hidrojen peroksidi parçalayan katalaz ve GSH kullanarak hidroksil radikalini veya hidrojen peroksidi su molekülüne dönüştüren glutatyon peroksidaz enzimleriyle olabilmektedir.^{4,6} Deneyimizde reperfüzyonun hemen öncesinde verilen SOD ve GSH infüzyonunun kardiyak

performansı düzeltileceği görüldü.⁶ Işık mikroskobu seviyesinde hücre şişmesi ve glikojen azalmasına bağlı bulgular izlendi. Buna karşın toksik OSR'lerinin önemli bir kaynağını oluşturduğu düşünülen lökosit infiltrasyonu görülemedi. Bir myokard kesitinde mikrosirkülasyonu tıkayabilecek tarzda, "no-reflow" fenomeni olarak bilinen 5 sonuca yol açabilecek lökosit yığılması gözlemlendi.

Deneyimizde reperfüzyon süresinin kısalığı ile açıklanabilecek şekilde kontraksiyon bandı nekrozu ve kanama görülmedi.^{2,5,10} Hemodinamik korelaysonlara olanak sağlayabilecek EM gibi yöntemlerin kullanılmasının yararlı olacağı ve reperfüzyon zedelenmesi patogeneze katkıda bulunacağı kanısındayız.^{2,3,1}

KAYNAKLAR

- 1 Whalen JrDA, Hamilton DG, Ganote CE, Jennings RB. Effect of a transient period of ischemia on myocardial cells, I. Effects on cell volume regulation. *Am J Path* 1974; 74: 381.
- 2 Mrak RE, Carry M, Murphy ML, Peng CF, Straub KD. Reperfusion injury in ischemic myocardium: protective effect of controlled reperfusion. *Am J Cardiovasc Pathol* 1990; 3: 217-224.
- 3 de Lorgeril M, Rousseau G, Basmadjian A, St, Jean G, Tran DC, Latour JG. Special and temporal profiles of neutrophil accumulation in the reperfused ischemic myocardium. *Am J Cardiovasc Pathol* 1990; 3: 143-154.
- 4 Ferrari R, Ceconi C, Curello S, Cargnoni A, Alfieri O, Pardini A, et al. Oxygen free radicals and myocardial damage, protective role of thiol-containing agents. *Am J Med* 1991; 91: 958-1058.
- 5 Fishbein MC. Reperfusion injury. *Clin Cardiol* 1990; 13:313.
- 6 Koçak H, Yekeler İ, Yüksek Ş. Süperoxide dismutase ve indirgenmiş glutathion'un kardiyak performans üzerine etkisi. *Türkiye Klinikleri Kardioloji* 1990; 3: 253-256.
- 7 Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. Robbins Pathologic Basis of Disease. 4th edition, Philadelphia: Saunders, 1989; 1-17.
- 8 Jennings RB. Symposium on the pre-hospital phase of acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1969; 24: 753.
- 9 Svendsen JH, Host NB, Haunso S. Reperfusionsskade i myokardiet betydnngen af oxygenderiverede frie radikaler. *Ugeskr Laeger* 1991; 153: 1717-1720.
- 10 Reimer KA, Tamaka M, Murry CE, Richard VJ, Jennings RB. Evaluation of free radical injury in myocardium. *Toxicol Pathol* 1990; 18: 470-480.