

Semmelweis Orvostudományi Egyetem Igazságügyi Orvostani Intézete  
Dr. Balogh István, az orvostudományok kandidátusa

## A szívizom toxikus, hipoxiás—izkémias károsodásainak hisztopatológiája

Érkezett: 1985. augusztus 9.

Kulcsszavak: szívizom, izkémia, kalcium-paradox, oxigén-paradox

Az izkémias, anoxiás és hipoxiás károsodások nem pillanatszerűek, hanem dinamikus folyamatot képeznek. Az oxigénhiány a sejtanyagcsere folyamatos felborulásához, majd a makromolekuláknak a sejtből való kiáramlásához és sejthalálhoz vezet. A sejtek irreverzibilis károsodása a reperfüzió hatásának vagy a biokémiai változások megfigyelésével vizsgálható. Előbbi módszer több információt nyújt.

Két fontos, újonnan feltárt mechanizmus a kalcium-paradox és az oxigén-paradox. Előbbi lényege, hogy a károsodott sejtben a sejtbe beáramló kalcium károsítja a sejtmembránt. Nem tisztázott még, hogy a kalcium beáramlása oka-e vagy következménye-e a membránkárosodásnak. A tanulmány ennek részleteit feltáró hipotéziseket tárgyalja.

*Black, Parry, Jenner* alapvető vizsgálatai óta hosszú utat tett meg az izkémias, hipoxiás szívelváltozásokkal foglalkozó tudomány. Kifejlődött egy új kutatási ág, amely az experimentális kardiopatológiával foglalkozik, de nem szorítkozik csak a struktúra vagy csak a funkció vizsgálatára, hanem dialektikus egységben, funkcionális-morfológiai szemlélet alapján kíván ismereteket szerezni a szívről. Ezen diszciplína jelentősége nem csekély, ha figyelembe vesszük, hogy napjainkban a vezető halálokok egyike a kardiális megbetegedések, főleg az izkémias szívelváltozások csoportja.

A fixálási, citokémiai és nem utolsósorban a szívbiopsziás technika fejlődésével párhuzamosan mikroanalitikai, rtg-diffrakciós, rtg-energia diszperzív analitikai módszerek álltak a vizsgálok rendelkezésére, hogy megfigyelhessék a szívizom sejt működését „normális” és kóros körülmények között.

Az utóbbi években a szívizom-kutatásra vonatkozó irodalom hatványozódott. Egyre többet tudunk — óhatatlanul — egyre kevesebbről. Nem utolsósorban a mindennapi gyakorlat szempontjából is szükségesnek látszik azokat az újabb ismereteket áttekinteni, melyek az izkémias, hipoxiás és toxikus szívizom-károsodások lehetséges

patomechanizmusainak jobb megértését szolgálják. Ezek az alapvető ismeretek nemcsak a kísérletes kardiopatológus, hanem adott esetben a belgyógyász, az intenzivista, de a gyakorló általános orvos érdeklődését is felkelthetik.

A továbbiakban a szívizomsejttel mint a lehetséges iszkémiás, hipoxiás és toxikus károsodások célszervével szeretnénk foglalkozni, ismertetni, felsorolni azokat a károsító hatásokat, ágenseket, melyek valamilyen szinten elváltozásokat hozhatnak létre — természetesen részletezés nélkül, mivel ez messze meghaladná egy összefoglaló cikk kereteit is. (A folyamatokat illusztráló félvékony, elektronmikroszkópos és elektronmikroszkópos citokémiai felvételeket szerző a Semmelweis Orvostudományi Egyetem Igazságügyi Orvostani Intézete Elektronmikroszkópos Laboratóriumában (vezető: prof. dr. Somogyi Endre) készítette JEOL 100B elektronmikroszkóppal.)

A szívsebészet rohamos fejlődésével, valamint a szívizom-károsodások kivédésével, a kardioprotekcióval foglalkozó tudomány hatására bővültek ismereteink a hipoxiáról. A hipoxia tankönyvi adatként jól ismert felosztása (arteriás, anémiás, stagnáló és hisztotoxikus) óta az újabb kutatások alapján finomabb metabolikus különbségeket tártak fel (14, 19, 20, 24.). Regionális iszkémiában bizonyos oxigénkínálat és így reziduális oxidatív anyagcsere kimutatható, míg anoxiában (de hipoxiában nem) oxigénkínálat nincs és az oxidatív metabolizmus megszakad. Iszkémiában a redukált, de folyamatos oxidatív metabolizmus és a redukált koronária kimosási szint következtében szöveti  $\text{CO}_2$ -akkumuláció alakul ki. Anoxiában azonban amennyi  $\text{CO}_2$  keletkezik az oxidatív metabolizmusban nem kapcsolódó dekarboxilációs reakciók során, az ki is mosódik a koronária áramlással. A koronária áramlásbeli különbségek is magyarázzák az iszkémiában bekövetkező proton-akkumulációt és a súlyos acidozís kifejlődését, míg anoxiában a protoneltávolítás folyamatos és az acidozís kevésbé súlyos. A szöveti laktátszintek is különbözhetnek iszkémiában és anoxiában. A különbség egyrészt a koronária áramlással, másrészt a glikolitikus aktivitás szabályozásával kapcsolatos. Anoxiában a glikózkínálat normális, de a felvétel és ilyenformán a glikolitikus fluxus fokozott. A glikózis hosszabb időn át történő stimulációjáért a foszfofruktokináz tehető felelőssé. Iszkémiában a glukózkínálat és a felvétel csökken, a glikolízis átmeneti, és kimutathatóan kevesebb, mint anoxiában. Regionális iszkémiában a koronária áramlása az infarktus centrumában mért közel nulla értékről a környező szöveti szupranormális értékig széles határok között változhat. Ezzel szemben globális iszkémiás *in situ* modellen a nem-koronáriás kollaterális áramlás relatíve azonos szintű szöveti perfúziót biztosít. Metabolikus különbséget jelent, hogy globális iszkémiában a glicerinaldehid-3-foszfát-dehidrogenáz, regionális iszkémiában a foszfofruktokináz ellenőrzi a glikolitikus áramlást (11, 26).

Az iszkémiás, anoxiás és hipoxiás károsodások nem statikusak, hanem dinamikus folyamatot képeznek. Az iszkémiás szövetben előbb reverzibilis, majd irreverzibilis sejtkárosodások, ezt követően sejthalál, illetve szöveti nekrozis lép fel. Regionális iszkémiában mind a reverzibilis, mind az irreverzibilis folyamatok egyidőben lehetnek jelen, erre a legszemléletesebb példa a miokardiális infarktus.

Az iszkémia kezdetén a kontraktilis erő azonnal csökken. Az oxigénkínálat csökkenését követően a transzmembrán ionegyensúly felborul. Az oldott oxigén felhasználása fokozódik, majd cianózis alakul ki. A mitokondriális aktivitás és az oxidatív metabolizmus csökken, ezzel egyidejűleg csökken az ATP produkció is. A kreatin foszfát raktárak kiürülnek. Az akciós potenciál amplitúdója és időtartama csökken, megkezdődik a kalcium elfolyás. Az EKG-n ST szakasz elváltozások alakulnak ki. A nátrium és klorid ionok akkumulálódnak. Katekolamin kiáramlás jön létre, amely a sejtmembránon levő adenilciklázt aktiválja. A cAMP rendszerrel kapcsolatosan foszforiláz aktiválódás alakul ki. A glikogénolízis stimulációját a nagy energiájú fosz-

fátok felhasználódása követi. Protonok,  $\text{CO}_2$  és anorganikus foszfátok akkumulációja, majd a foszfofruktokináz aktiválódásának fokozódása alakul ki, amely fokozza a glikolitikus áramlást. A fokozott glikolízis energetikailag előnytelen módon, a pirofoszfátázhidrogenáz és NPD-NADH rendszer közti szétkapcsolás miatt nem aerob módon megy tovább, hanem laktát termeléshez vezet. Így a hipoxiás (iszkémiás) szív laktát utilizáció helyett laktátot termel, és a súlyos kórállapotokban (pl. sokk) a magas szérumlaktát szint energiaként nem hasznosul a szívben. A mitokondriális elektrontranszport csökken vagy blokkolódik, a zsírsav-oxidációval együtt; a glikogén felhasználódás fokozódik, majd megindul az anorganikus foszfátok elfolyása. A NADH akkumulációt a laktátdehidrogenáz és az alfa-glicerofoszfát dehidrogenáz aktivitás fokozódása követi. Ezután laktát és alfa-glicerofoszfát akkumuláció jön létre. Megindul a laktát elfolyás. A zsíracil CoA derivátumok akkumulációját kreatin foszfát depleció kíséri. Adenozin, inozin és egyéb metabolitok hagyják el a sejtet, vazodilatáció alakul ki. Az adenin nukleotid transzferáz gátlása után a triglicerid szintézis és degradáció fokozódik. Növekszik a celluláris acidózis. A foszfofruktokináz és a gliceraldehid-3-foszfát dehidrogenáz aktivitás csökken, ami a glikolitikus fluxus lassulását okozza. Fokozódik az energiaraktárak kiürülése. Kialakul a sejtduzzadás, és fokozódik a citoplazma kalciumion-tartalma. A magnéziumionok elhagyják a sejtet. A glikogén raktárak kimerülnek. Mitokondriális károsodások alakulnak ki. A glikolízis teljes gátlása befejeződik. Veszélyesen csökken az ATP. Kisebb ultrastrukturális elváltozások fedezhetők fel konvencionális elektronmikroszkópos vizsgálattal (pl. mitokondriális duzzadás). Kezdetét veszi a kontraktúra.

Az irreverzibilis károsodások kezdetét feltehetően a lizoszomális elváltozások és a hidrolázok aktiválódása jelenti. A lipoprotein lipázok aktiválódásával egyidejűleg fokozódik a celluláris vízenyő. Megszűnik a mitokondriális légzési kontroll. Az EKG-n ez idő tájt nem-specifikus elváltozások mutatkoznak. Elektronmikroszkóposan a mitokondriumokban és a miofibrillumokban kiterjedt károsodásokat figyelhetünk meg. Az energiaraktárak teljes kiürülését a mitokondriális alkotórészek eltávolítása kíséri. Makromolekulák kiáramlása alakul ki az intersticiumban és a nyirokrendszerben. Súlyos ultrastrukturális károsodások mutatkoznak. A sejtmembrán megszakad, az enzimekfolyás fokozódik, miofibrilláris dezintegráció és a sejt autolízis következik be, amely sejthalálhoz és szöveti nekrozisshoz vezet (15, 18, 19, 21, 31, 32).

Mint fentebb említettük, a súlyosan károsodott szívizomsejtekben kontrakciós csíkokat lehet találni, ezek makroszkóposan bevérzett, foltosn vérelosztott területekben láthatók, fénymikroszkópos szinten PTAH (foszfor-wolframsav-hematoxin) festéssel követhetők. Legjobban azonban félvékony vagy elektronmikroszkópos technikával tanulmányozhatók. A kontrakciós területek dezorganizált aktin és miozin filamentumok aggregációjából alakulnak ki. Emberen a hiperkontrakciós csíkok általában az irreverzibilis károsodást jelzik, és szorosan kapcsolódnak a sejt halálához. Míg a sejthalál állapotában levő szívizomsejtben kontrakciós csíkok alakulnak ki, ezek hiányoznak a nagy infarktusok központi részében, valamint a totális vagy közel totális iszkémia területeiben. Kontrakciós csíkok észlelhetők akkor is, amikor a miokardiumot irreverzibilis, időleges iszkémiát követően reperfundáljuk (24), valamint tireotoxikózis, katekolaminok, antraciklinek, malignus hipertermia, elektromos áram-sújtás okozta metabolikus sejt-károsodásban, illetve az infarktusz perifériáján. Kísérletesen iszkémiás miokardium reperfúziójakor a miokardium hipoxiás károsodás utáni reoxidációjakor, valamint kalcium-paradoxban alakulhat ki hiperkontrakciós nekrozis. A kísérletes munkák két fontos patomechanizmust tártak fel egyrészt a kalcium-

paradox, másrészt az oxigén-paradox mechanizmust. Az előbbinél a szarkolemma kezdeti ruptúrája, a másíknál a membrán-ruptúra az irreverzibilis anoxiát követő reoxigenizáció során lép fel.

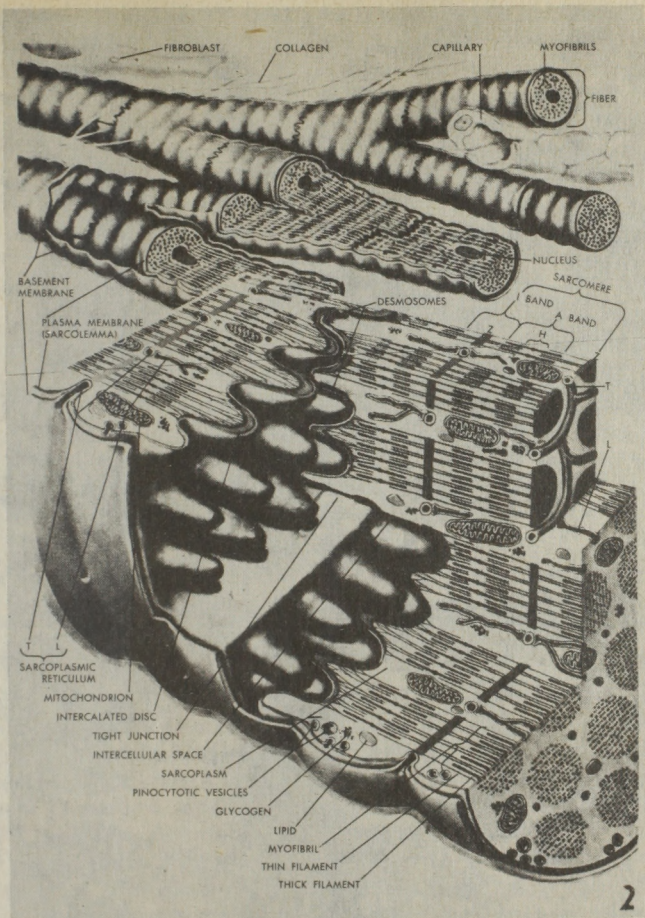
A szarkolemma kettős lipidrétegét glikoproteinekből, glikolipidből és mukopoliszaharidákból álló réteg fedi, amelyet glikokalixnak nevezünk. A glikokalix két részre osztható: az ún. felszíni réteg („surface coat”), melyen kívül a külső lemez (lamina externa) helyezkedik el. A glikokalix fontos komponense a szíálsav, melyet eltávolítva, jelentősen megnő a membrán kalciumion-permeabilitása. Ezt *nem* kíséri a kálium-permeabilitás fokozódása. A kalcium-paradox jelensége szintén alátámasztja a glikokalix szerepét (27). Ennek alapján állítható, hogy a kontrakciós csíkok kialakulásának mechanizmusa szerepet játszhat az iszkémiás sejtkárosodások felléptében. Elemézve a hiperkontrakciós nekrozis és a szívizomsejt-halál közötti kapcsolatot, a témában három fontos csomópont jelölhető meg: 1. iszkémiás sejtkárosodás, 2. anoxiás sejtkárosodás és 3. kalcium-paradox mechanizmusa (11, 14, 16, 18, 19, 20, 21, 28).

Az *irreverzibilis sejtkárosodás per definitionem biológiai kritérium* (33). A sejt akkor károsodik irreverzibilisen, ha normális sejt környezetbe visszakerülve nem képes életét továbbra is folytatni. Ha iszkémiát követően bizonyítható koagulációs nekrozist bekövetkezése után fénymikroszkóppal 1—2 nappal felismerhetünk, vagy a hegek megjelenésével később kimutathatunk. Elektronmikroszkóposan az irreverzibilis sejtkárosodások felismerhetők egyrészt a mitokondriumokban kialakuló flokkuláris, nagy elektronszóró területek megjelenésével, másrészt a sejtmembránon megfigyelhető nagy defektusok kimutatásával az iszkémia után 1—2 órával. Amennyiben valamennyi szívizomsejtben elektronmikroszkóposan a fenti jelenségek felismerhetők, a sejtek irreverzibilisen károsodottaknak tekinthetők. Nem ilyen egyértelmű viszont a helyzet akkor, ha csak néhány mitokondrium érintett, vagy a membránkárosodás nem kiterjedt.

Vajon megállapítható ekkor az irreverzibilis károsodás? Annak eldöntésére, hogy az iszkémiát követő rövid időszakon belül irreverzibilis sejtkárosodás kialakult-e, a szövet perfúziója végezhető. A reperfúzióval a reverzibilisen károsodott sejtek megtartják strukturális integritásukat, míg az irreverzibilisen károsodott szívizomsejtek nagymértékben duzzadnak, membránszakadások, hiperkontrakciós csíkok, valamint a mitokondriumokban masszív, legtöbbször granuláris formájú kalciumakkumulációs területek figyelhetők meg (1., 2., 3. ábra). Ezeket az eseményeket a citoplazmatikus enzimek és proteinek extracelluláris térbe történő hirtelen kiáramlása kíséri. Ezen események reprezentálják a hiperkontrakciós nekrozis lényegét. Bizonyítható tehát, hogy az ekképpen károsodott sejtek irreverzibilis elváltozást szenvednek az iszkémiát követően, és a károsodás sokkal kifejezettebbé válik akkor, ha a vért visszaáramoltatjuk a sejtekhez.

Az iszkémiás károsodás tanulmányozásának másik megközelítési módja az iszkémia során bekövetkező biokémiai patomechanizmus vizsgálata. Mint fentebb már érintettük, a glikogén raktárak depletálódnak, laktát-akkumuláció és a nagy energiájú foszfátraktárak csökkenése következik be. Az intracelluláris enzimek és lizoszomális enzimek aktiválódnak, a mitokondriális funkció csökken.

Mind a mai napig a fenti események egyike sem tekinthető az irreverzibilis károsodás elsődleges okának. A nehézséget nem utolsósorban az is aláhúzza, hogy a *sejthalál nem pillanatos esemény, hanem viszonylag hosszan tartó folyamat*. Amennyiben kutya papilláris izomzatában a bal körbefutó coronaria ágon ligatúrát helyezünk el, a sejtek elhalása az első 20 percben megkezdődik, de valamennyi sejt elhalása csak 60 perc vagy még ennél is több idő után következik be. Ennek alapján, ha a 60. percben történik a mintavétel, a sejtek nagy része már túljutott azon a hipotetikus



### 1. ábra

#### Szívizomsejt ultrastruktúrája

Sarcoplasmic reticulum = szarkoplazmás retikulum

Mitochondrium = mitokondrium

Intercalated disc = interkaláris diszkusz

Tight junction = szoros kapcsolat

Sarcoplasm = szarkoplazma

Pinocytotic vesicles = pinocitotikus vezikulumok

Glycogen = glikogén

myofibril = miofibrillum

thin filament = vékony filamentum

thick filament = vastag filamentum

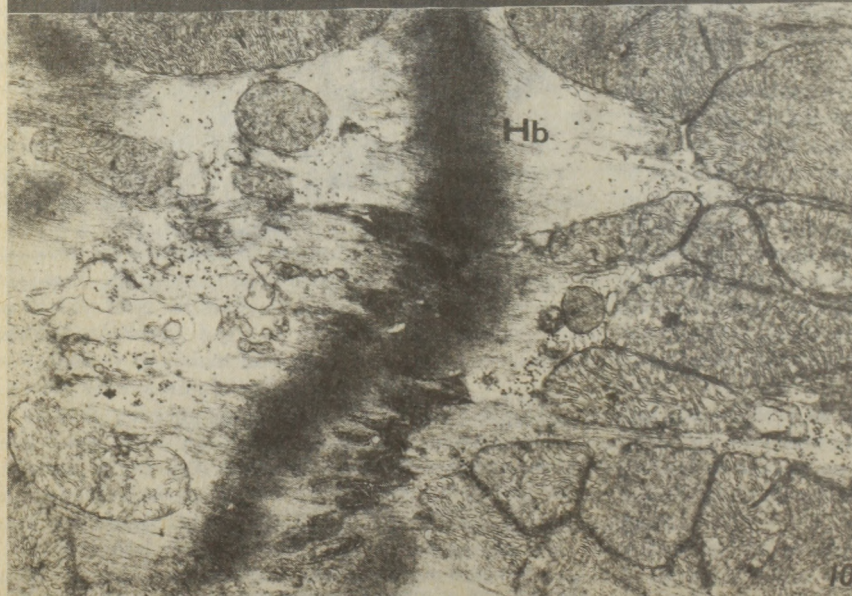
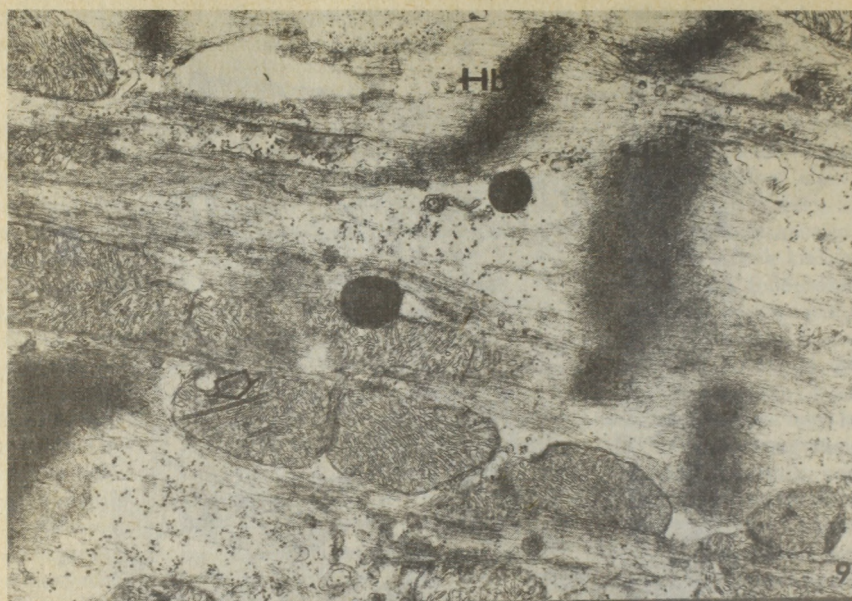
desmosomes = dezmozómák

Sarcomere I, A, Z, H = szarkomér I, A, Z, H csíkok

Basement membrane = bazális membrán

Plasma membrane = plazmamembrán

Capillary = kapilláris



2. és 3. ábra

Mindkét képen hiperkontrakciós terület látható (Hb = hiperkontrakciós köteg). A túlhúzott csíkok két oldalán rotszakadás figyelhető meg. A 2. sz. ábrán az üres nyíl a mitokondriumban kialakuló interkristális kalcium akkumulációs területet jelöl (elektronmikroszkópos felvétel)

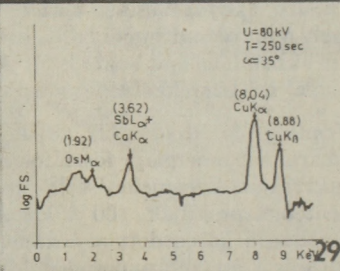
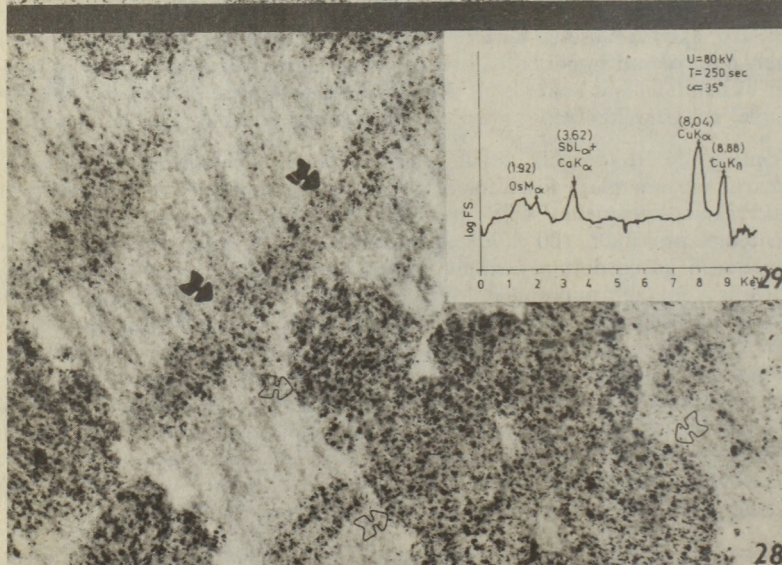
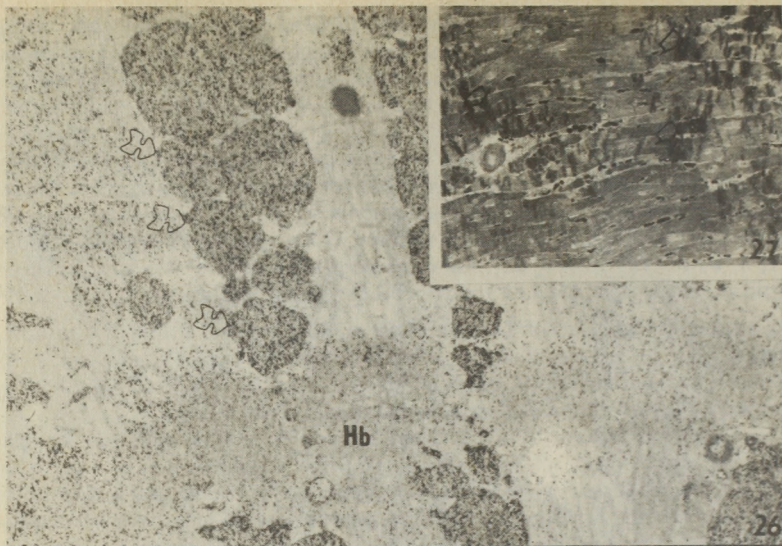
ponton, amelyet az irreverzibilis elváltozás tartományába sorolhatunk, és már az előrehaladott koagulációs nekrosis szakaszába került. Amennyiben viszont korábbi mintavételt eszközünk, a szövetben a károsodott területek nem homogének, és csak az egyes sejtekről állítható, hogy irreverzibilisen károsodottak. A teljes szövet biokémiai analízise sem ad egyértelmű eredményt ilyenkor az irreverzibilitásról. Ha inkább autolitikus, mint iszkémiás szövetet vizsgálunk, a károsodás sokkal homogénebbnek látszik. A szövet *in vitro* vizsgálatakor nem könnyű az irreverzibilitás vélemezése, és a fentiek alapján direkt korreláció nem hozható a talált biokémiai vagy ultrastrukturális elváltozások, valamint az irreverzibilis károsodás kezdete között (1, 5, 9, 11, 14, 16, 18, 21). *In vitro* *perfundált* szívek alkalmazásakor sokkal több információt nyerhetünk az irreverzibilitás megítéléséhez.

Az iszkémiás károsodások patogenezisében fontos helyet foglal el a szarkolemma károsodása. *In vitro* szövetszeleteken végzett károsodásokat követően iszkémiás sejt-károsodások kialakulásánál az extracelluláris markerek penetrációjával jó adatok nyerhetők. Az ilyen vizsgálatokra a legalkalmasabbak a ferritin, lantanium, rutenium vörös, torium dioxid tracerek. Ezek az elektronmikroszkóposan kimutatható plazmamembrán-károsodások megjelenése előtt már jelezhetik a súlyos permeabilitás károsodást, oly módon, hogy a jelzőanyag szemcséi — áthatolva a membránon — az alatta levő területen is kimutathatók, a mitokondriális membrán károsodása esetén még intramitokondriálisan is észlelhetők.

*In vivo* *reperfúzió* esetén a szívizomsejtekben masszív kalcium-beáramlás alakul ki, amely a mitokondriumokban a kalciumfoszfát, granuláris elektronszóró területekkel járó akkumulációját hozza létre. A mitokondriális kalcium-akkumulációt speciális citokémiai módszerekkel lehet a legjobban demonstrálni (4., 5. és 6. ábra).

*Jennings és iskolája* (27, 28) kutyaszív modellt alkalmazott. Külön aláhúzták a celluláris nagyenergiájú foszfátok elfogyásának jelentőségét és a szívizom rigoros kontraktúrájának megjelenését, — mindkettőt az irreverzibilis sejt-károsodások markereként interpretálják. 100 Å körüli plazmamembrán defektusokat figyeltek meg iszkémiában a károsodott sejtekben, és úgy tartják, hogy a súlyos ATP depléción elősegítheti a membrán permeabilitás fokozódását. *Reperfúzió* esetén feltehetően gyors kalcium-beáramlás alakul ki, amely a membrán-permeabilitás elsődleges károsodásához vezethet. *Katz és munkacsoportja* (24) nézete szerint iszkémiában akkumulálódó lipidek juthatnak a membránon át, és az ilyenformán károsodott membrán-funkció következtében kóros lipid-protein interakciók alakulhatnak ki. *Nayler és iskolája* (28, 29, 30, 31) szerint az alacsony ATP szint membrán-funkció-károsodáshoz vezet, amely kóros elektrolit áramokat indíthat el. A kalcium feltehetően a sejt-károsodás következtében akkumulálódik a mitokondriumokban. Végezetül az iszkémia során fellépő kalcium influx aktiválhatja a membrán-foszfolipázokat.

Tény, hogy a fenti és számos más esemény is, beleértve a lipoperoxidációt, kialakulhat iszkémiás károsodás esetén. Nem ismeretes még egyértelműen, hogy a kalcium-beáramlás oka vagy következménye-e a membrán-károsodásoknak. Ennek a kérdésnek a megválaszolása fontos lenne az irreverzibilis iszkémiás sejt-károsodás patomechanizmusának tisztázásában. Abban az esetben, ha a kalcium-beáramlás megelőzné a membránruptúrát, akkor a kóros, kontrakciós csíkokkal jellemzett kontraktúra kialakulása elősegítené a membrán károsodását. Kísérletes vizsgálatok (19) szerint az iszkémiás szívek *reperfúziója* anoxiás körülmények között nem okoz *reperfúziós* enzimkiáramlást. Ennek a megfigyelésnek alapján a plazmamembrán károsodása inkább az irreverzibilis károsodás következménye, mintsem oka. A patogenezis



4., 5. és 6. ábra

A károsodott szívizomban a mitokondriumokban kalciumfoszfát akkumuláció alakul ki. Speciális citokémiai technikákkal szöveti körülmények között a kalcium vizualizálható. A képeken az üres nyílak a mitokondriális akkumulációt, a fekete nyílak a Z-csík és a hiperkontrakciós területen történő (Hb) kalcium-felhalmozódást mutatják. A 6. sz. ábrán a kalcium citokémiai kimutatását követően az elektronszóró terület energia-diszperzív analizisét mutatja. Ennek alapján bizonyítható, hogy a kémiai reakció valóban a kalcium ionokat mutatja ki (a képen a fixálószert ozmium-tartalma és a mérésnél a réz hordozóhártya anyaga is kimutatható)



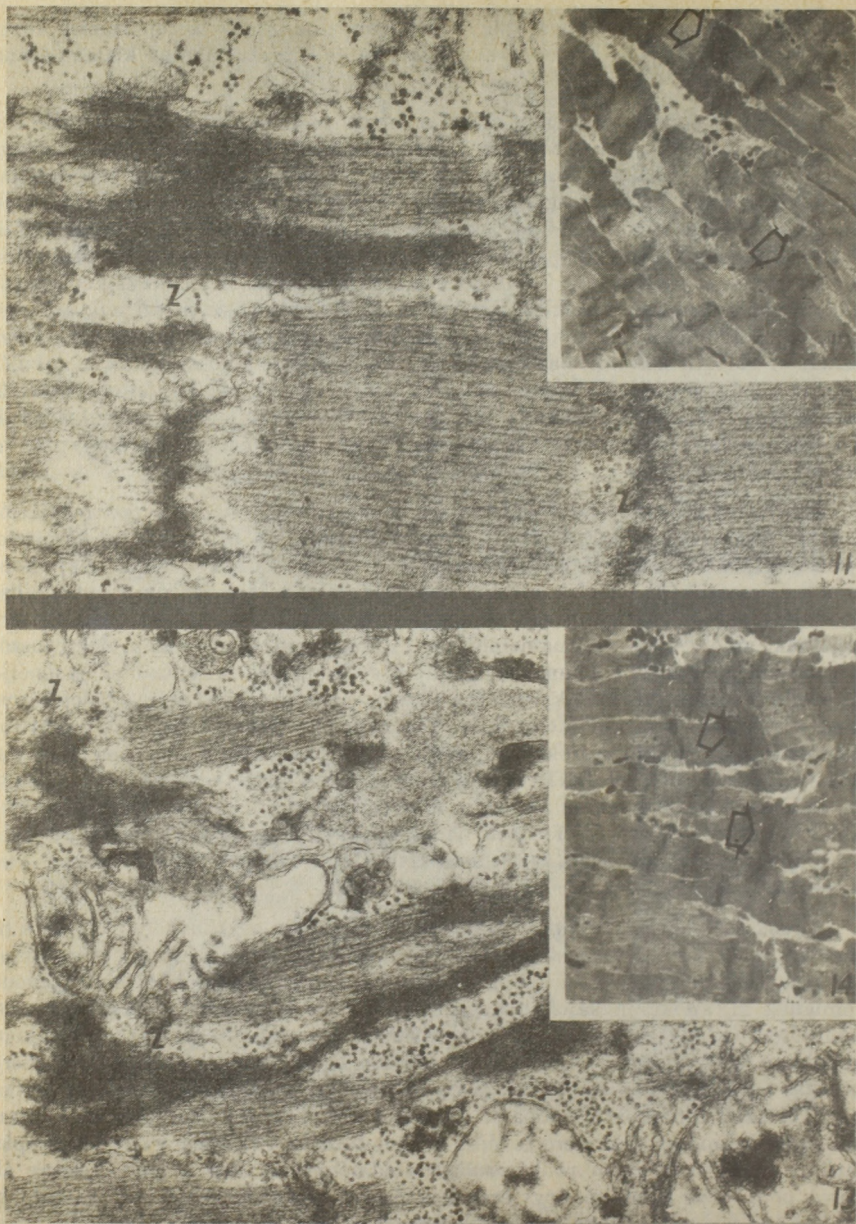
megértése azon időszak jobb megfigyelését igényelné, amely a reperfüziót követő korai szakaszban tárja fel a kontrakciós csíkokkal jellemzett nekrozis kialakulásának lehetőségét.

*Anoxiás károsodás* tanulmányozása bizonyos vonatkozásban az iszkémiás sejt-károsodástól eltérő adatokat tárt fel. Az anoxiás sejt-károsodás abban is különbözik az iszkémiás károsodástól, hogy a sejtek a károsodás kialakulásakor perfundáltak. „Tisztán” anoxiás hatás vizsgálatához glikolitikus szubsztrátot biztosító modellre van szükség. Számos variációt tártak fel a kísérletes vizsgálatok, mégis a legtöbb adattal a perfundált patkányszívről rendelkezünk. 37 °C-on anoxiában szubsztrátmentes szíven a kontraktúra 7—10 perc múlva alakulhat ki. A korai kontraktúra kalcium dependens és reverzibilis. Amikor az ATP súlyos hiánya áll elő, a rigoros kontraktúra kifejlődik, de kontrakciós csíkok ilyen körülmények között nem jelentkeznek. A globális iszkémiás szívhez hasonlóan az anoxiás kontraktúra kialakulása során is a szívizomsejtekből lassú enzimkiáramlás következik be, amely a 60—90. anoxiás perctől kezdődik, és akár a 200. percig is fennmaradhat. Az enzimkiáramlás és a sejt-károsodást késleltetheti hipotermia, magas káliumszintű kardioplégia, kalciumdepléció vagy más, az ATP szintjének csökkenését megakadályozó beavatkozás.

Az irreverzibilis károsodás kialakulását az anoxiás szíveken is a reoxigenizációra adott sejtválasz jelzi a legjobban. Reoxigenizáció során a reverzibilisen károsodott sejtek megtartják strukturális integritásukat, de nagy vakuolák, duzzadt mitokondriumok és esetenként néhol kontrakciós csíkok alakulhatnak ki. Az irreverzibilisen károsodott sejtek reoxigenizáció alkalmával kontrakciós területek kialakításával reagálnak, amelyekben plazmamembrán ruptúra, a mitokondriumok elektronszóró területeként jelentkező kalcium-akkumuláció, a citoplazmatikus enzimek és fehérjék extracelluláris térbe történő kiáramlása (*oxigén-paradox*) jöhet létre. A sejt-károsodások virtuálisan nem különíthetők el az iszkémiás szíveken tapasztalt reperfüziós károsodásoktól. Az inhibitorok (cián, amilbarbital), valamint a mitokondriális foszforiláció szétkapcsolói (pl. DNP) egyaránt megelőzik a kontrakciós csíkok megjelenését, és a reoxigenizált szíven az enzim kiáramlását megelőzhetik. (A fenti toxikus hatású szerek az oxidatív foszforiláció blokkolásával, illetve szétkapcsolásával ugyanis prompt sejthalált okoznak, így a hiperkontrakciós kötegek kialakításához vezető Ca-mozgásra nem marad idő az érintett sejtekben.)

A reoxigenizációs károsodás kialakulásában (*oxigén-paradox*) feltehetően a mitokondriumok is részt vesznek. A reoxigenizációs károsodás pontos mechanizmusa még nem teljesen világos, de feltehető, hogy a mitokondriumokból hidrogénionok áramlanak ki, amikor a kalcium akkumulálódik és az acidózis sejt-károsodásokat, membránkárosodásokat okozhat. Alternatívaként a reoxigenizáció során a mitokondriumokban ATP-produkció alakul ki, amely késedelem nélkül a kontraktilis fehérje-aktivitás maximális fokozódásával járhat, és végső soron a kóros kontrakciós csíkok által jellemzett hiperkontrakcióba (7., 8. ábra) torkollik. A kontrollálatlan kontraktúra során fellépő excesszív erő tevődik át ilyenformán a (lokális) gyengült citoplazmatikus zónákon át membránkárosodást eredményezve. Bár a rendelkezésre álló adatok nem teszik lehetővé, hogy ezen lehetőségek között egyértelmű különbségeket tegyünk, az ismeretes, hogy a szarkolemma-membrán károsodása önmagában nem teszi elkerülhetetlenné az irreverzibilis anoxiás károsodást.

Anoxiás patkányszíven 37 °C-on az irreverzibilis károsodás a 20—30. perc között kezdődik, és a 60—90. perc között éri el a periódust, amelyben a reoxigenizációra sejteltváltozások alakulnak ki. Ezen jelenségek azt mutatják, hogy az irreverzibilis



7. és 8. ábra  
 Hiperkontrakciós nekrozis félvékony metszeten, toluidinkék festéssel. A nyilak a hiperkontrakciós területre mutatnak

károsodások a permanensen anoxiás sejt proteinjének elfolyása előtt hosszabb idővel (feltehetően jóval előbb) alakulhatnak ki, mint mielőtt a membránkárosodások fellépnének.

ATP depletio esetén az anoxiás sejtben kalcium-túlterhelés alakul ki. A nagy mennyiségű intracelluláris kalcium aktiválhatja a membránban vagy a citoplazmában levő enzimeket, és lehetőséget teremthet a mitokondriális akkumulációra vagy a troponin kötőhelyek szaturációjára. Ez teljes aktinaktiválódást hozhat létre.

Az a teória, mely szerint a kontrakciós csíkok kialakulását enzimkiáramlás mediálja, vitatható. Izolált felnőtt szívizomsejtekben kontrakciós csíkok transzcelluláris tenzió-transzmisszió vagy membrán ruptúra nélkül is kialakulhatnak. Izolált szívizomsejtekben, ahol a membránok permeábilisak kalciumra, nem lép fel kontraktúra, ha az anoxiás médiumba az ATP depleciót megelőzően kalciumot teszünk. Az enzimkiáramlás kontrakciós csíkot előidéző mechanizmusa intakt szíven is eshetőleges. Kísérletes munkákban, ahol az oxigén okozta enzimkiáramlás szívre kifejtett protektív hatását tanulmányozták, szintén megelőzték a kontrakciós csíkok kialakulását. A kontrakciós csíkok kialakulását megelőzheti — kísérleti körülmények között — tehát a cianid, a dinitrofenol (DNP), fluorodinitrobenzin (FDNB) és a dimetilszulfoxid (DMSO). Egyetlen kivételt képez a polietilén-glikol (PEG), amely megelőzi az enzimkiáramlást, de nem védi ki a kontrakciós csíkok megjelenését (3, 6, 7, 9, 10, 16, 18, 19, 20).

A kalcium-paradox két külön szakaszból tevődik össze. Az első szakaszban a szíveket 3—5 percig 37 °C-on kalciummentes médiummal perfundáljuk, ezáltal érzékennyé tesszük a kalciumra. A második állapot akkor alakul ki, amikor a megelőzően érzékenyített szívekhez kalciumot adunk vissza, ezt azonnali masszív enzimkiáramlás és hiperkontrakciós nekrozis követi. A kalcium-paradoxot a kalcium-túlterhelés által kiváltott hiperkontrakciós nekrozis modelljének lehet tekinteni. A kalcium-paradox azonban nem tekinthető a hiperkontrakciós nekrozis és a kalcium-túlterhelés kizárólagos modelljének. Patkányszíven a kalcium-paradox nem oldja fel az iszkémiás és a hipoxiás patomechanizmus problémáit, mivel itt nem keletkeznek szubendokardiális iszkémia, mert a szívek a kalciummentes perfúzió során relaxálódnak. Másodsor: a sejt-károsodások valamennyi sejten szinkron keletkeznek, ilyenformán a biokémiai elváltozások lehetővé teszik a sejten belüli események extrapolálását. A kalcium-paradoxban olyan gyorsan alakulnak ki a károsodások kalcium-depleciót követően, hogy nem ismeretes egzakt módszer, amellyel az eseményeket sorrendileg meg lehetne határozni.

Kritikus kérdés, hogy a károsodott membránon keresztüli masszív kalcium-beáramlás okozza-e a sejt-károsodást vagy kontraktúra lép-e fel. Normális kalcium-fluxus és a kontrakciós erő érvényesülésének mechanikája során a sejtmembrán megszakadása esetén lehetővé válik a masszív kalciuminflux vagy éppen ellenkezőleg, annak következtében alakulhat ki elváltozás. Az alapvető megfigyelések szerint 50 mikromol kalciumszint alá csökkentett szívek érzékennyé válnak a kalcium iránt, és visszaadva a kalciumot, egyszerű centrális kontrakciós csíkok alakulnak ki enzimkiáramlással kísért membránkárosodással, masszív kalcium-beáramlással és hiperkontrakciós nekrozissal. (Hangsúlyozzuk, hogy a kalcium-paradox jelensége kísérleti modell, jelenleg nem ismeretes olyan kórfolyamat, amelyben a Ca-paradox „tisztán” zajlik le, mert az ehhez szükséges hipokalcémia nem fordul elő; így a Ca-paradox a Ca-túlterhelési kísérletek modellje.) A kalcium-paradoxszerű sejt-károsodások modelljének is lehetnek alternatív hipotézisei. Kísérletes munkák alapján feltételezik,

hogy kalcium deplécióban a szarkolemma-membrán károsodást szenved (feltehetően a plazma membrán — glikokalix közötti szeparáció miatt), és szelektíven permeábilissá válik a kalciumra. A sejtekben normális vagy emelkedett az ATP szint.

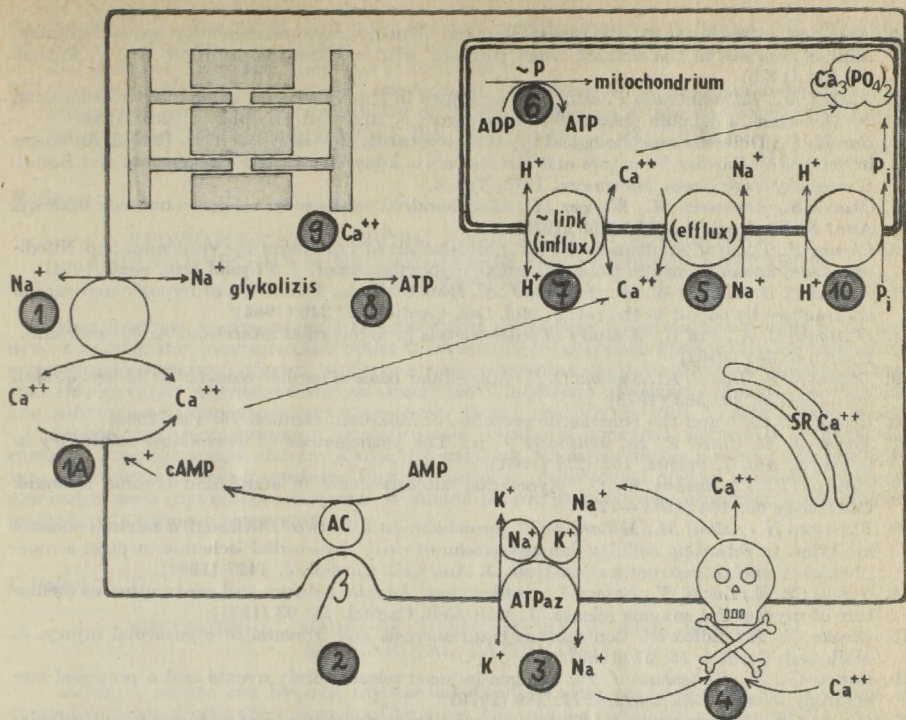
A membrán permeabilitás károsodásának hipotézise sem konzekvens. A kalcium-paradox nem alakul ki májban vagy a vesesejtekben kalciummentes médiumban történő izolálásakor abban az esetben, ha kalciumot tartalmazó médiумot reperfundálunk. Vesén kalcium-paradox reakciót leíró közlemény is csak vaszkuláris károsodásnak dokumentál, és a miokardiumhoz hasonló elváltozások nem voltak megfigyelhetők. Ugyanakkor izolált humán kalcium-intenzív felnőtt szívizomsejtekről is közöltek tanulmányt. Ez utóbbi arra utal, hogy az extracelluláris kalcium depléciója és repléciója önmagában nem elégséges izolált szívizomsejteken a kalcium-paradox mechanizmusának kiváltásához. A plazmamembrántól való glikokalix szeparáció, csökkentett mennyiségű  $\text{Ca}^{2+}$ -t tartalmazó oldatban, az interkaláris diszkuszköz macula adherens juncióinak szeparációját hozta létre, de a nexusok (vagy az ún. *gap junctionok*) érintetlenek maradtak. A szív mechanikai munkája (kontrakció) feltehetően felelős a Ca-mentes közegben létrejövő Ca-szenzitivitás, majd a reperfúzió utáni Ca-paradox létrejöttéért.

A kalcium-paradox mechanizmusban a kontraktúra okozta enzimkiáramlás alternatív hipotéziseként tekinthető a masszív intracelluláris kalcium túlterhelés (overload).

Az intracelluláris kalcium túlterhelés számos forrásból eredhet. Elméletileg legalább 5 helyről származhat: az extracelluláris térből, a szarkolemmából, a szarkoplazmás retikulumból, a mitokondriumokból és a troponinból (1, 2, 4, 8, 12, 13, 17). Többszörösen igazolt tény, hogy a szarkolemmális raktárakban („pool”) a kalcium a glikokalixhoz kötötten helyezkedik el (2, 10).

A 9. ábrán összefoglalóan mutatjuk be azokat a lehetőségeket, amelyekeken keresztül kalcium túlterhelés hatására az intracelluláris kalciumtartalom megemelkedik. Az extracelluláris kalcium leginkább az 1A. helyen jut be. Ezt a csatornát a megemelkedett intracelluláris cAMP szint aktiválja, és az organikus kalcium antagonisták szerek inhibitor hatásaira érzékeny. A 4. számú behatolási helyet a kalcium antagonisták nem blokkolják. Az 1. hely a Na/Ca antiporter, melyen a kalciumforgalmat a Na gradiens tartja fenn. A szabad citoszolikus  $\text{Ca}^{2+}$  kapcsolatba lép a troponinnal (9. hely), aktiválva a kontraktilis mechanizmust. A kalcium mitokondriális be- és kiáramlása külön utakon bonyolódik le (5. hely). A mitokondriumokból is létrejöhethet  $\text{Ca}^{2+}$  kiáramlás a kicserélődéssel, a mitokondriális Ca terhelés hatására. Na által stimulált energiafüggő mitokondriális  $\text{Ca}^{2+}$  kiáramlás a Na/Ca antiporterrel valósul meg. A 10. hely a protonok és az organikus foszfátok mitokondriális beáramlását jelöli. A képen 4 olyan szarkolemmális hely figyelhető meg, ahol toxikus ártalmak érhetik a szívizomsejtet: 1. hely: Na/Ca antiporter, 2. hely: béta-adrenerg receptorok, 3. hely: Na-K-ATP-áz enzimmel kapcsolatos rendszer, 4. hely: olyan membránterületek, melyek nem kapcsolatosak ionáramok ismert fiziológiás membrán-transzlokációjával, de lehetőség van ezeken a helyeken is az ionpermeabilitás kialakulására.

A 2. hely aktiválása kalcium antagonisták hatására érzékeny kalcium ioncsatorna megnyílására vezet. A megnövekedett intracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$  tartalom a  $\text{Ca}^{2+}$ -eltávolítást is fokozza, a  $\text{Na}^+$  kicserélődésen keresztül. A megnövekedett  $\text{Na}^+$  beáramlás fokozott mitokondriális  $\text{Ca}^{2+}$  kiáramlást hoz létre (5. hely). Amíg a Na/Ca antiporter működése normális (1. hely), a szabad citoplazmatikus  $\text{Ca}^{2+}$  tartalom emelkedik. Abban az esetben, ha az 1. hely önmagában is károsodik, a  $\text{Ca}^{2+}$  maradéktalan eltávolítása nem valósul meg, és ez végső soron szintén a sejt teljes  $\text{Ca}^{2+}$  tartalmának



## Az intracellularis $Ca^{2+}$ túlterhelés

9. ábra

Az intracelluláris  $Ca^{2+}$  túlterhelés

növekedéséhez vezet. A 3. helyen a Na-K-ATP-áz bénításával a sejtben a teljes intracelluláris  $Na^+$  fokozódás a kontraktilis apparátus megnövekedett  $Ca^{2+}$  érzékenységet okozhatja. Itt fejthetik ki inotrop hatásukat a szívglikozidák.

A megnövekedett beáramlás és az elégtelen kiáramlás útján létrejövő magas intracelluláris kalciumtartalom egyenként vagy együtt hatást gyakorolhatnak a mitokondriális légzésre. Az elektrontranszport energetikája szempontjából döntő az ADP foszforilációja (6. hely), amely ATP-t biztosít az energiafüggő  $Ca^{2+}$  felvevőhelyre (7. hely). A citokrom-függő elektrontranszport károsodása esetén bizonyos mennyiségű ATP a glikózisen keresztül (8. hely) képződik, de a depléción elötte kerül, különösen akkor, ha az igényt béta-receptort aktiváló károsító hatás fokozza (2. hely) (5, 6, 7, 8, 10, 23, 25).

### IRODALOM

1. Allison T. B., Ramey C. A., Holsinger J. W. jr.: Transmural gradients of left ventricular tissue metabolites after circumflex artery ligation in dogs. *J. Mol. Cell Cardiol.* 9: 837 (1977)

2. *Ashraf M.*: Correlative studies on sarcolemmal ultrastructure, permeability and loss of intracellular enzymes in the isolated heart perfused with calcium-free medium. *Am. J. Pathol.* 97: 411 (1979)
3. *Ashraf M., Rahamathulla P. M.*: Cardiac injury in short duration anoxia and modification by Diltiazem, a calcium channel blocking agent. *J. Am. Coll. Cardiol.* 3: 1237 (1984)
4. *Baroldi G.*: Different morphological types of myocardial cell death in man. *Recent Advances in Studies on Cardiac Structure and Metabolism c. könyvben* (Eds.: Fleckenstein and Rona). University Park Press, Baltimore, 1975. Vol. 6.
5. *Chance B., Erecinska M., Wanger M.*: Mitochondrial response to carbon monoxide toxicity. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 174: 193 (1970)
6. *Cheung J. Y., Leaf A., Bonventre J. V.*: Mechanism of protection by Verapamil and Nifedipine from anoxic injury in isolated cardiac myocytes. *Amer. J. Physiol.* 246: c323 (1984)
7. *Conrad C. H., Brooks W. W., Ingwall J. S., Bing O. H. L.*: Inhibition of hypoxic myocardial contracture by cobalt in the rat. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 16: 345 (1984)
8. *D'Alonzo C. A., Pell S.*: A study of trace metals in myocardial infarction. *Arch. environm. Health* 6: 381 (1963)
9. *Dhalla N. S., Das P. K., Sharma G. P.*: Subcellular basis of cardiac contractile failure. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 10: 363 (1978)
10. *Ebashi S.*: Ca<sup>2+</sup> and the contractile proteins. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 16: 129 (1984)
11. *Farber J. L., Chien K. R., Mitnacht J. jr.*: The pathogenesis of irreversible cell injury in ischemia. *Am. J. Pathol.* 102: 271 (1981)
12. *Ferrans V. J., Roberts W. C.*: Myocardial ultrastructure in acute and chronic hypoxia. *Cardiology* 65: 144 (1971—72)
13. *Fujivara H., Ashraf M., Millard R. W., munkatársai*: Effects of Diltiazem, a calcium channel inhibitor, in retarding cellular damage produced early myocardial ischemia in pigs: a morphometric and ultrastructural analysis. *J. Am. Coll. Cardiol.* 3: 1427 (1984)
14. *Ganote Ch. E., Liu S. Y., Safavi S., munkatársai*: Anoxia, calcium and contracture as mediators of myocardial enzyme release. *J. Moll. Cell. Cardiol.* 13: 93 (1981)
15. *Ganote Ch. E.*: Editorial. Contraction band necrosis and irreversible myocardial injury. *J. Moll. Cell. Cardiol.* 15: 67 (1983)
16. *Ganote Ch. E., Kaltenbach J. P.*: Oxygen-induced release: early events and a proposed mechanism. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 11: 389 (1979)
17. *Gauduel Y., Karagueuzian H. S., De Leiris J.*: Deleterious effects of endogenous catecholamines of hypoxic myocardial cells following reoxygenation. *J. Moll. Cell. Cardiol.* 11: 717 (1979)
18. *Goldstein M. A., Thyrum P. T., Murphy D. L., munkatársai*: Ultrastructural and contractile characteristics of isolated papillary muscle exposed to acute hypoxia. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 9: 285 (1977)
19. *Hearse D. J.*: Editorial. Reperfusion of the ischemic myocardium. *J. Moll. Cell. Cardiol.* 9: 605 (1977)
20. *Higgins A. J., Blackburn K. J.*: Prevention of reperfusion damage in working rat hearts by calcium antagonists and calmodulin antagonists. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 16: 427 (1984)
21. *Jennings R. B., Reimer K. A.*: Lethal myocardial ischemic injury. *Am. J. Pathol.* 102: 241 (1981)
22. *Jennings R. B., Hawkins H. K., Lowe J. E., munkatársai*: Relation between high energy phosphate and lethal injury in myocardial ischemia in the dog. *Am. J. Pathol.* 92: 187 (1978)
23. *Jones C. E., Thomas J. X., Parker J. C., munkatársai*: Acute changes in high energy phosphates, nucleotide derivatives and contractile force in ischemic and nonischemic canine myocardium following coronary occlusion. *Cardiovasc. Res.* 10: 275 (1976)
24. *Katz A. M., Toda M., Kirschberger M. A.*: Control of calcium transport in the myocardium by the cyclic AMP-protein kinase system. *Adv. Cyclic Nucleotide Res.* 5: 453 (1975)
25. *Kloner R. A., Fischbein M. C., Conran R. C., munkatársai*: The effect of propranolol on microvascular injury in acute myocardial ischemia. *Circulation* 55: 872 (1977)
26. *Kübler W., Spieckermann P. G.*: Regulation of glycolysis in the ischemic and anoxic myocardium. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 1: 351 (1970)
27. *Langer G. A.*: Calcium at the sarcolemma. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 16: 147 (1984)
28. *Nayler W. G., Poole-Wilson P. A., Williams A.*: Hypoxia and calcium. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 11: 683 (1979)
29. *Nayler W. G., Sturrock W. J.*: An inhibitory effect of Verapamil and Diltiazem on the release of noradrenaline from ischemic and reperfused hearts. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 16: 331 (1984)
30. *Nayler W. G., Dresel P. E.*: Ca<sup>2+</sup> and the sarcoplasmic reticulum. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 16: 165 (1984)

31. *Nayler W. G.*: The role of  $Ca^{2+}$  in the ischemic myocardium. *Am. J. Pathol.* 102: 262 (1981)
32. *Regitz V., Paulson D. J., Hodach R. J., munkatársai*: Mitochondrial damage during myocardial ischemia. *Basic Res. Cardiol.* 79: 207 (1984)
33. *Schaper J., Mulch J., Winkler B., munkatársai*: Ultrastructural, functional and biochemical criteria for estimation of reversibility of ischemic injury: a study on the effect of global ischemia on the isolated dog heart. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 11: 521 (1979)

*И. Балог:*

### ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ПАТОЛОГИИ ТОКСИЧЕСКИХ, ГИПОКСИЧЕСКИХ И ИШЕМИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ СЕРДЕЧНОЙ МУСКУЛАТУРЫ

Ишемические, аноксические и гипоксические нарушения возникают не с минуты на минуту, а составляют динамический процесс. Недостаток кислорода приводит к постепенному нарушению клеточного обмена, а потом к выходу макромолекул из клетки и умиранию клеток. Необратимое нарушение клетки может быть выявлено изучением влияния реперфузии или наблюдением биохимических изменений. Метод реперфузии дает больше информации.

Новооткрытыми, важными механизмами являются парадокс кислорода и парадокс кальция. Этот последний состоит в том, что кальций, приливающийся в клетку при реперфузии, нарушает клеточный мембран. Еще не выяснено, является ли прилив кальция причиной или следствием нарушения мембраны. В данной работе рассмотрены гипотезы, освещающие подробности данного механизма.

*I. Balogh M. D.:*

### THEORETICAL BASIS OF TOXIC, HYPOXIC AND ISCHEMIC MYOCARDIAL PATHOLOGY

Ischemic, anoxic and hypoxic myocardial disorders arise not in a flash but represent a dynamic process. Under the influence of hypoxia, the cellular metabolism progressively breaks, the micromolecules flow out of the cell and the cell death sets in. Irreversible cellular changes may be revealed by studying the effects of reperfusion or by assessing biochemical changes. The former method is more informative.

Two important and recently discovered mechanisms are the calcium-paradox and the oxygen-paradox. The main point of the former paradoxical effect is that the calcium entering the cell during reperfusion harms the cell membrane. It is not cleared whether the calcium influx is the cause or the consequence of the membrane damage. In the present study the related hypothesis are reviewed.

# calypsol<sup>®</sup> injekció

Gyors hatású altató és általános érzéstelenítő, amely valószínűleg az agykéregre és a középagyra hat, különösen a limbikus rendszerre.

Felnőtteknek 10 mg/tskg adagja rendszerint 12—25 perces anesztéziát biztosít.

Az altatás fenntartásához az említett dózisos fele használatos.

## HATÓANYAG

500 mg ketaminum, sósavas só alakjában 10 ml-es üvegben.

## JAVALLATOK

Önállóan alkalmazva rövid műtétet, eszközös, ill. fájdalmas diagnosztikai beavatkozások.

Anesztézia bevezetése egyéb narkotikumok használatára előtt. Gyengébb hatású narkotikumok (pl. dinitrogénoxid) erősítése.

## ELLENJAVALLATOK

Eclampsia, hipertónia-betegség.

## ADAGOLÁS

Egyénekenként változó.

### Az intravénás kezdeti adag:

- felnőtteknek 1,0—4,5 mg/tskg;
- gyermekeknek 0,5—4,5 mg/tskg.

Az 5—10 perces narkózist eredményező átlagos adag 2,0 mg/tskg.

### Az intramuscularis kezdeti adag:

- felnőtteknek 6,5—13,0 mg/tskg;
- gyermekeknek 2,0—5,0 mg/tskg.

## MELLÉKHATÁSOK

Tenziónövekedés, pulzusszám-emelkedés, nyálfolyás, hányinger, hányás, légzési és látási zavarok. Az ébredési szakban hallucináció, pszichomotoros nyugtalanság, zavartság.

A poszt-narkotikus nyugtalanság Droperidollal (0,1 mg/tskg im.) rendszerint megelőzhető.

## GYÓGYSZERKÖLCÖNHATÁSOK

Kompatibilis más narkotikumokkal és izomrelaxansokkal.

Fokozza a tubokurarin neuromuszkuláris blokkoló hatását, de nem befolyásolja a pankuronium és szukcinilkolin hatását.

Thyroid-kezelés során emelheti a vérnyomást és tachikardizál.

## FIGYELMEZTETÉS

Túlادagolás esetén légzési elégtelenség léphet fel. Ilyenkor a légcserét mechanikusan kell támogatni, mert az anaestetikumok rendszerint elégtelenek. A készítmény alkalmazása aneszteziológus jelenlétéhez és megfelelő intézeti körülményekhez kötött. Lassan iv. fecskendezendő be, több mint 60 másodperc alatt. A barbiturátok kémiaileg összeférhetetlenek a ketaminnal, így közös fecskendőbe nem szívhatók fel.

Kobányai Gyógyszerárugyár,  
Budapest

