

Dolaşımı değerlendirmenin
yeni yollarından birisi:

Protoporphyrin IX-triplet state lifetime technique



Doç.Dr. Uğur AKSU

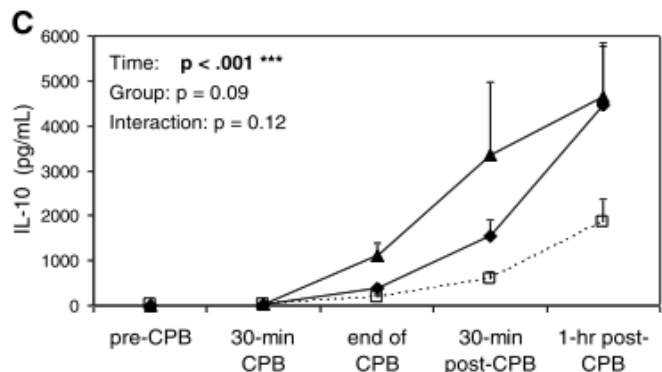
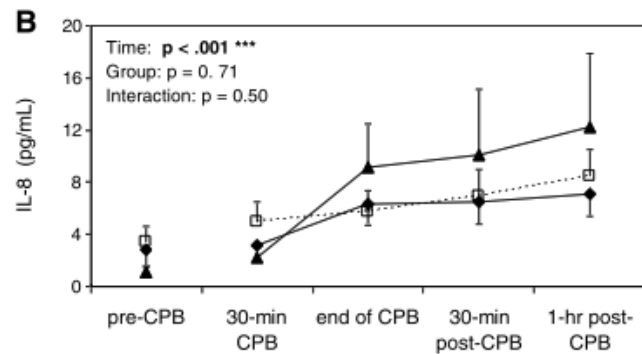
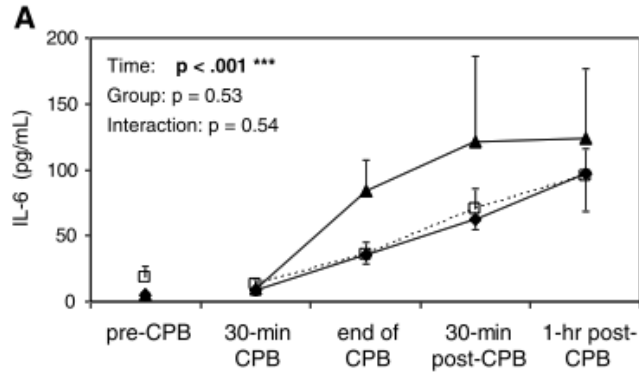
İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü

Akış:

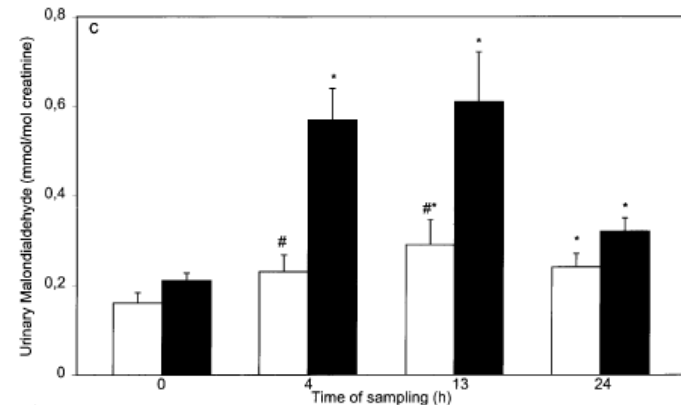
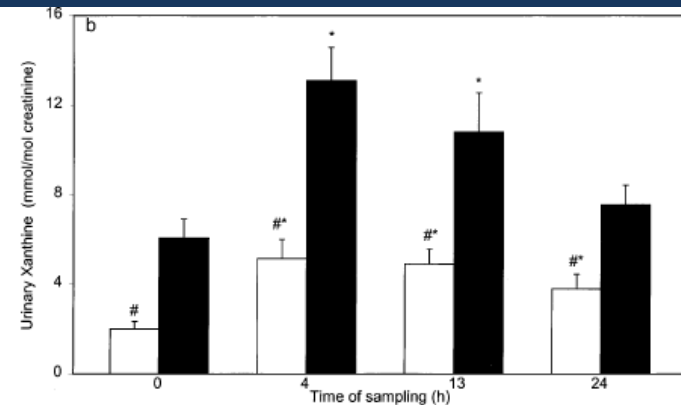
- Bypass cerrahisi ve mitokondri hasarı
- Mevcut oksijen basıncı ölçüm yöntemleri
- Protoporphyrin IX-triplet state lifetime technique
- Sonuç

Yaygın kullanılan bir teknik olmasına rağmen:

İnflamatuvar yanıt

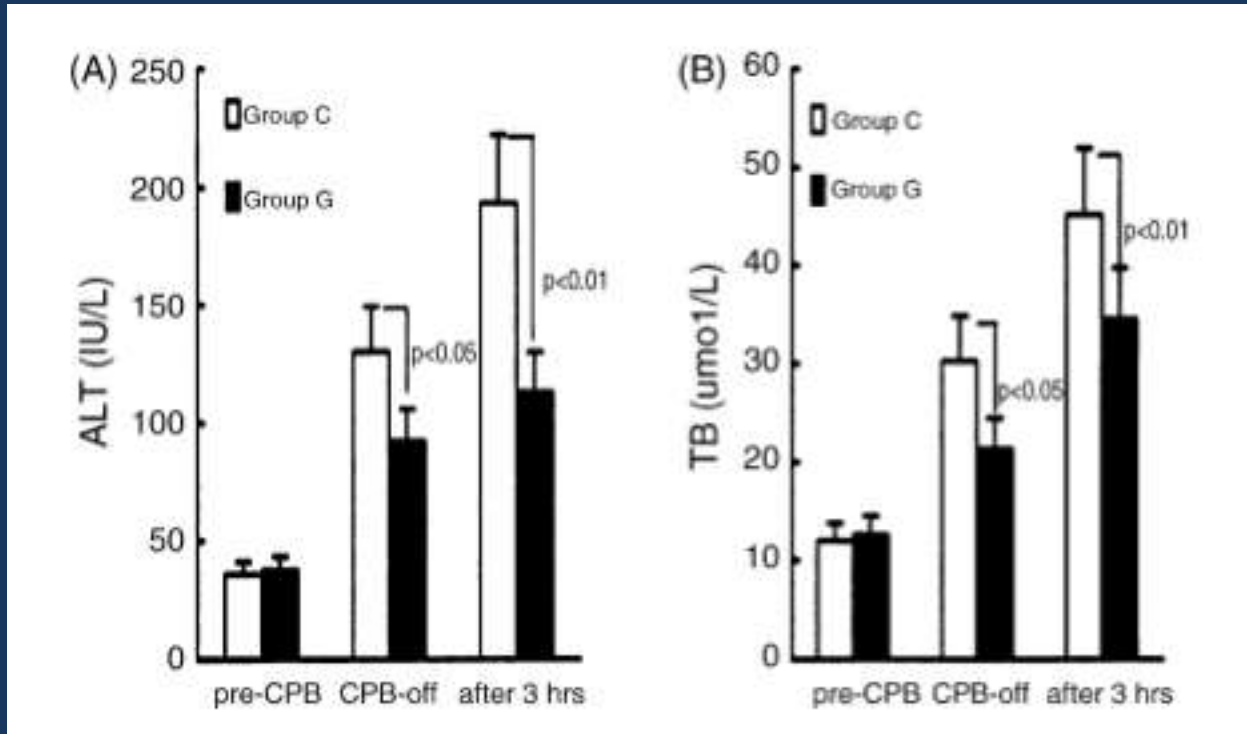


Oksidatif stres

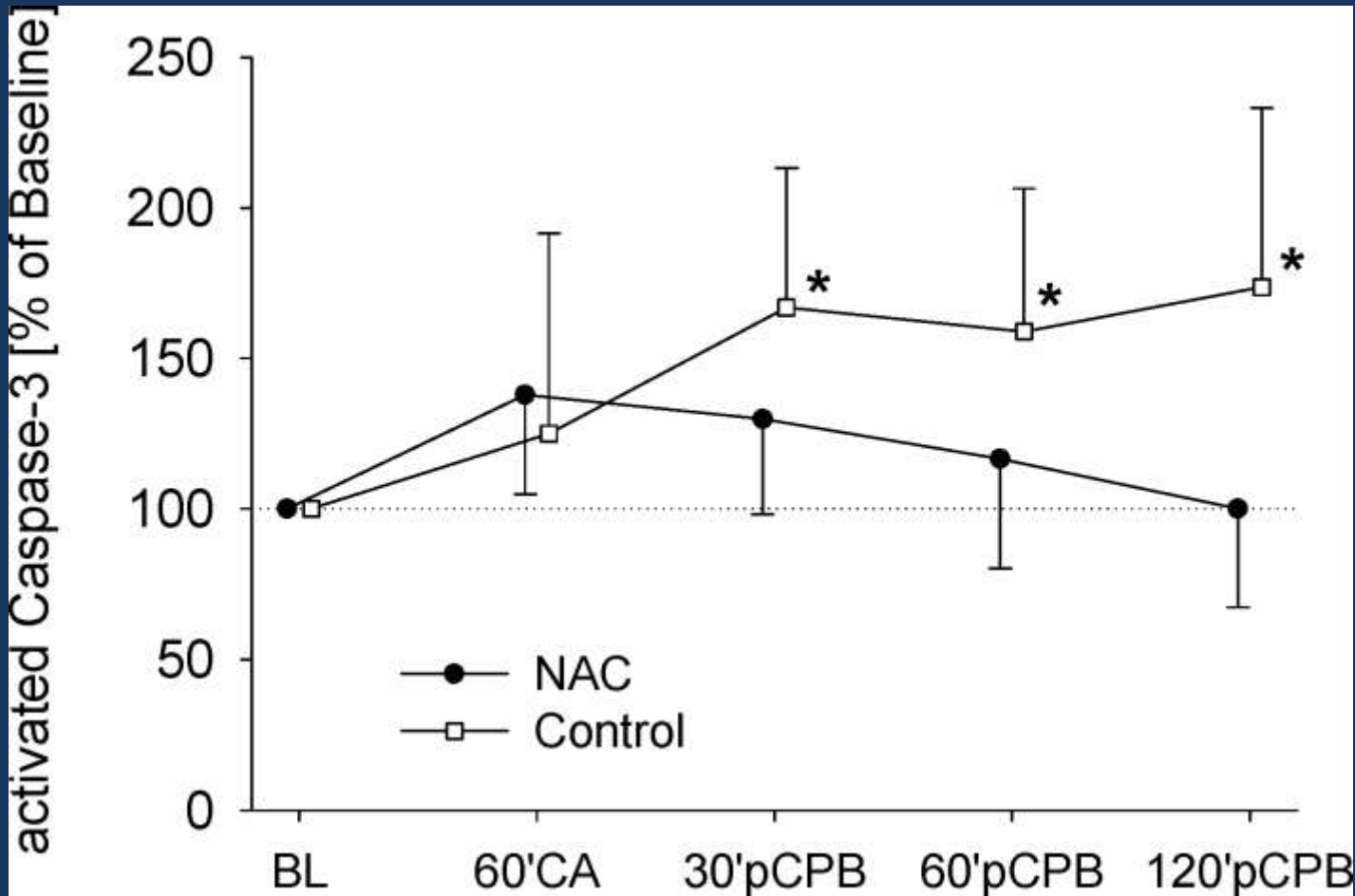


Eur J Cardiothorac Surg.2001 Nov;20(5):923-9.
Eur J Cardiothorac Surg. 2007 Jun;31(6):1037-43.
Innovations (Phila). 2012 Jan-Feb;7(1):23-32

Karaciğer üzerine etkisi




Akciğer üzerine etkisi




Pnömosit kaspas-3 aktivitesi

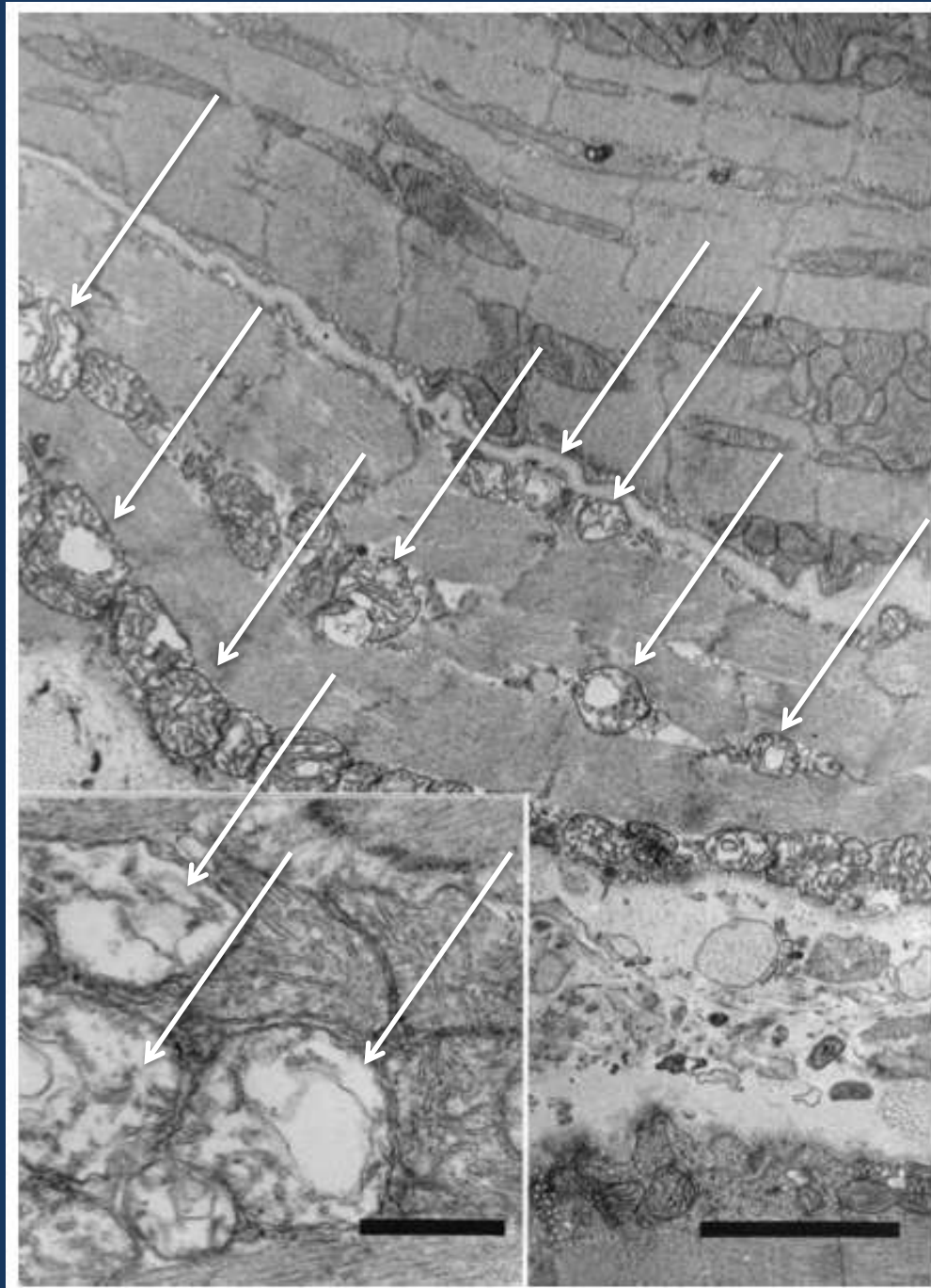
Böbrek fonksiyonu üzerine etkisi

	Preoperation	Postoperative 6th hour
NGAL, ng/mL		
GI	9.3 ± 4.0	26.2 ± 6.4*
GII	9.0 ± 3.2	22.4 ± 8.8



	Preoperation	Postoperative 6th hour	Postoperative 24th hour
Glomerular filtration rate, mL/min/1.73 m ²			
GI	70.9 ± 5.0	65.4 ± 5.0	62.2 ± 5.3*
GII	74.5 ± 4.3	68.4 ± 5.0	72.3 ± 5.6





KPB sonunda kalp biyopsisi:

Komşu miyosit

- Şişmiş mitokondri
- Düzensiz krista yapısı

Dejenere miyosit

Mitokondri sayısında azalma

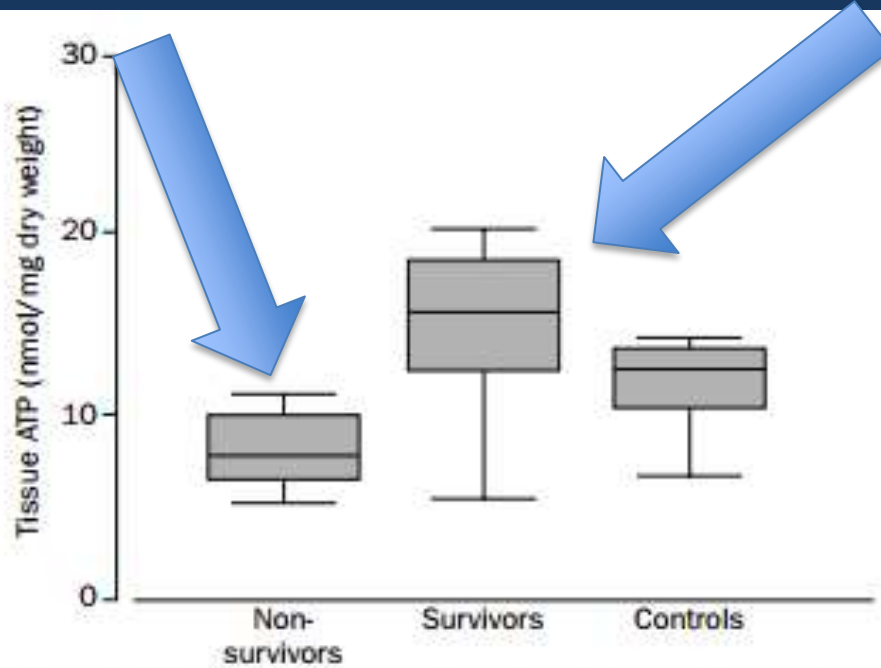
Table 3 Changes in Number of Mitochondria and Amount of Glycogen

	No. of mitochondria (0-1)		Glycogen (++++-++++)	
	Before CPB	After CPB	Before CPB	After CPB
Control	93.5±2.5	80.5±9.6**	91.0±1.3	75.9±3.6**
Esmolol	92.8±3.4	90.1±4.5*	90.7±1.0	89.2±2.9*

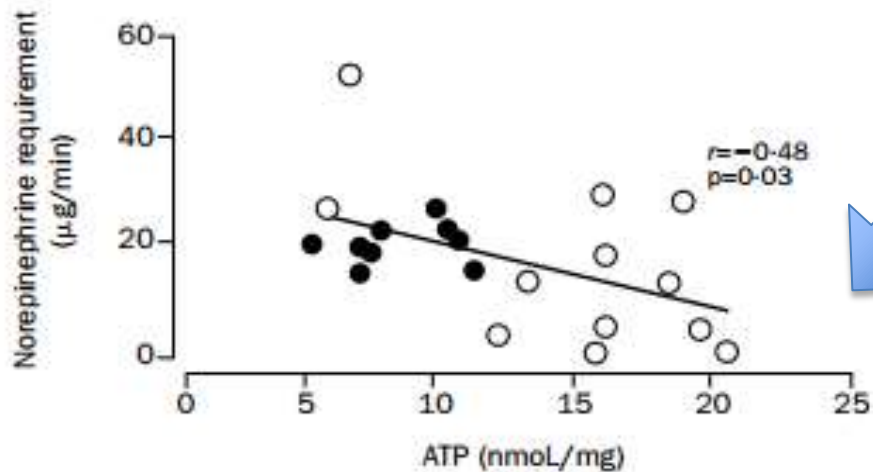
* $p < 0.05$ vs control group, ** $p < 0.05$ vs before CPB.

Normothermia KPB

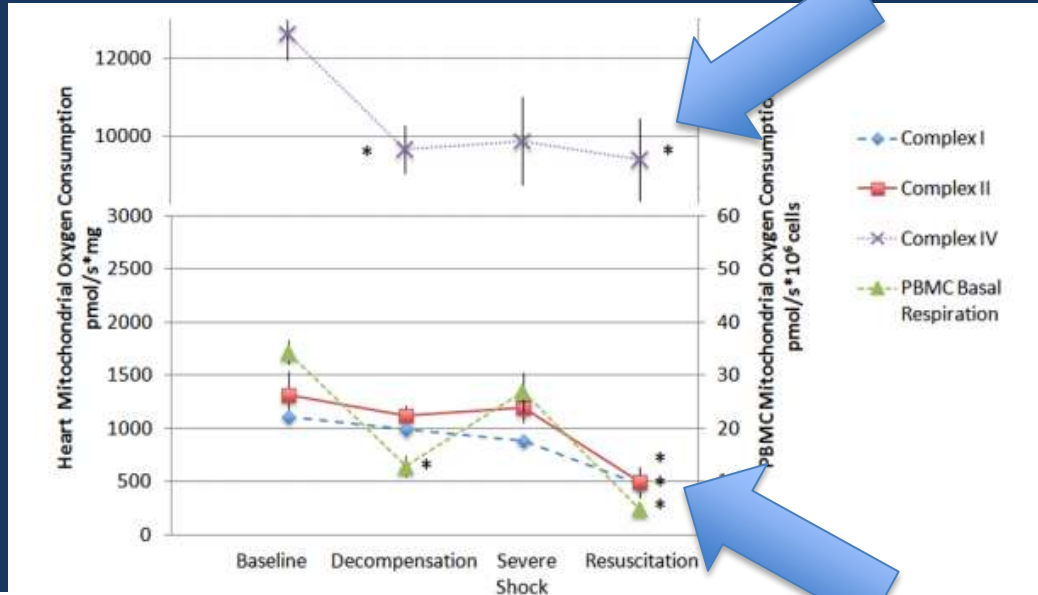
Dolaşımın son hedefi mitokondri



ATP-Norepinefrin ilişkisi



Mitokondri fonksiyon bozukluğunda:

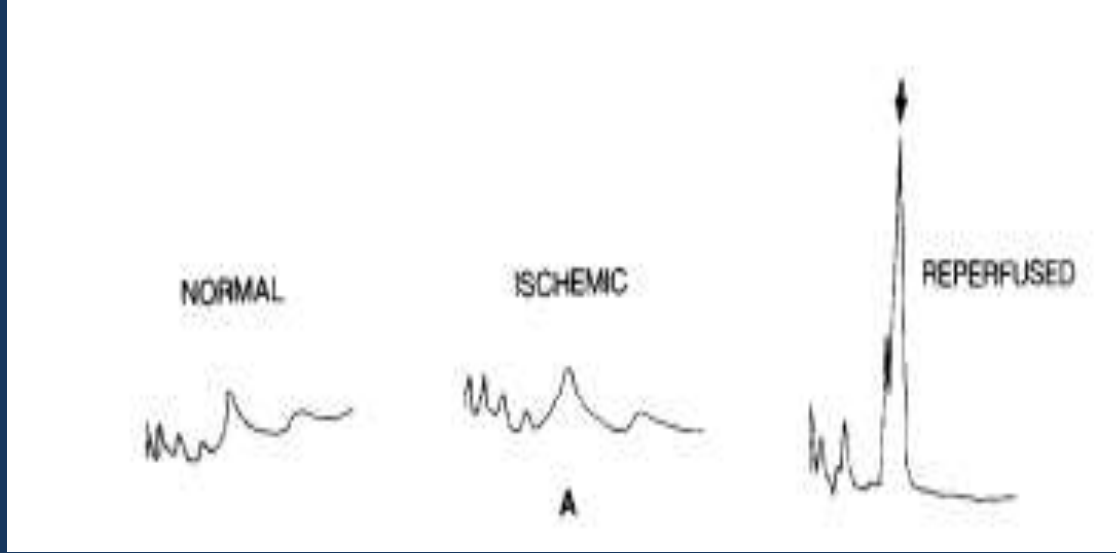


Physiologic and Laboratory Parameters

	Groups			
	Control (n=6)	Decompensated Shock (n=6)	Severe Shock (n=6)	Resuscitation (n=6)
MAP (mmHg)	112 ± 5	39 ± 2 §	41 ± 1 §	78 ± 11 §
HR (bpm)	447 ± 28	506 ± 26 §	419 ± 19	438 ± 56
pH	7.39 ± 0.03	7.10 ± 0.19	7.05 ± 0.21	7.20 ± 0.11 §
Lactate (mmol/L)	1.6 ± 0.9	16.0 ± 1.3 §	17.2 ± 3.1 §	10.2 ± 3.0 §

Makrodolaşımın iyileştirilmesi tek başına aerobik hücre metabolizmasını iyileştiremez.

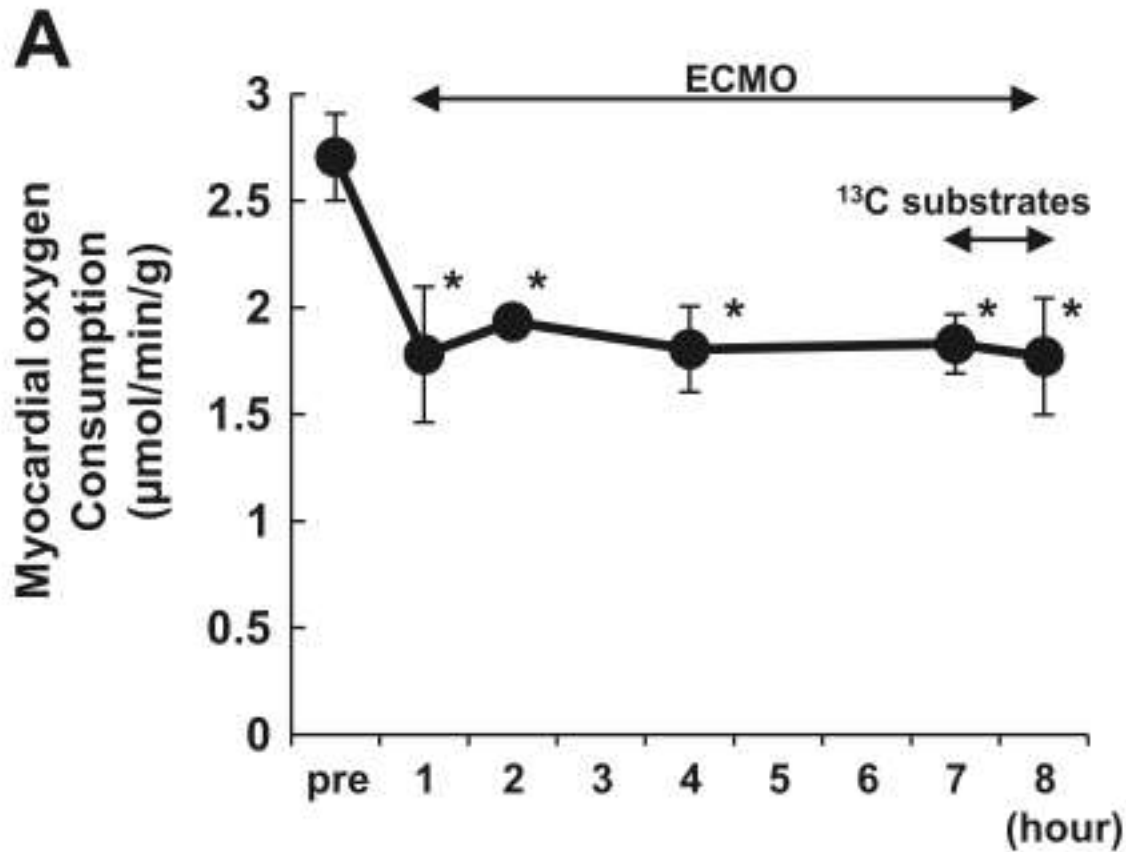
İskemik miyokardiumda mitokondiral ROS oluşumu:



Oluşan serbest radikaller mitokondrinin kendi kendine hasarını başlatır

DO_2  ATP Coupling respiration

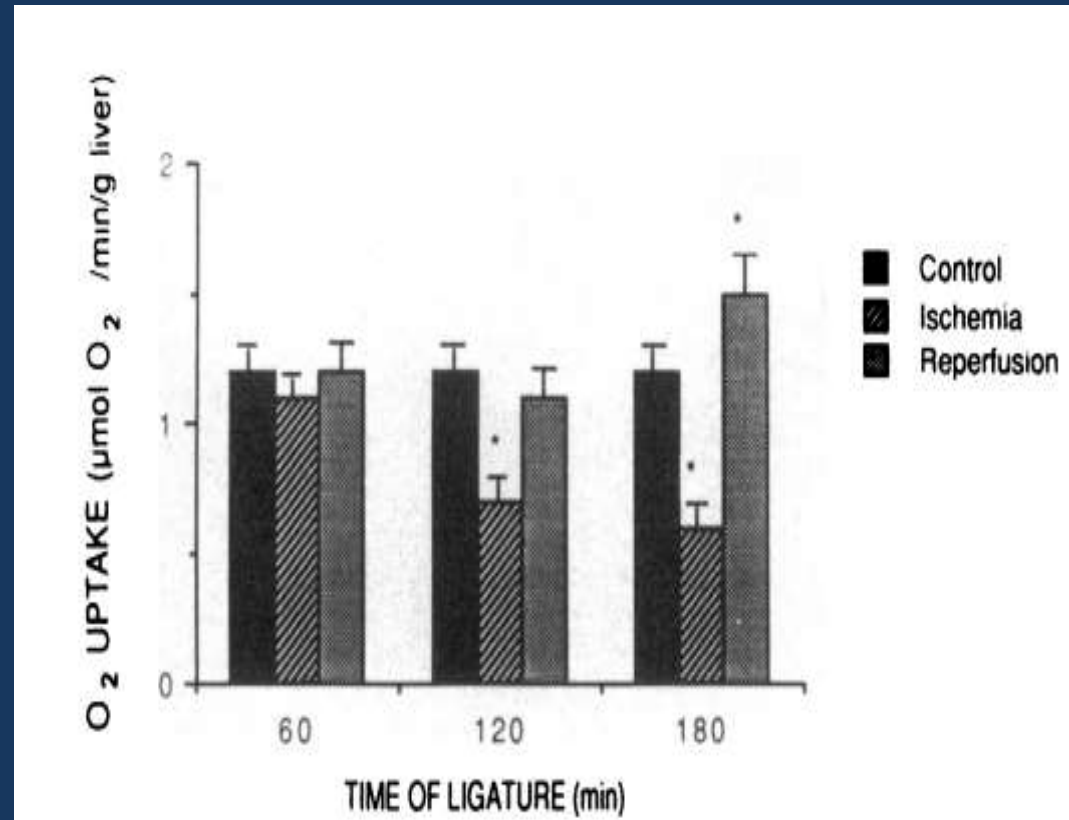
 ROS
Reaktif oksijen türleri
Uncoupling respiration



ECMO:

Ak1m: OAB 50-60 mmHg
 $p\text{O}_2 > 120$ mmHg
 $p\text{CO}_2$ 35-45 mmHg

Karaciğerde oksijen tüketiminin iskemi süresi ile ilişkisi



farklı yöntemler,

farklı iskemi süreleri ve

farklı hedef organları

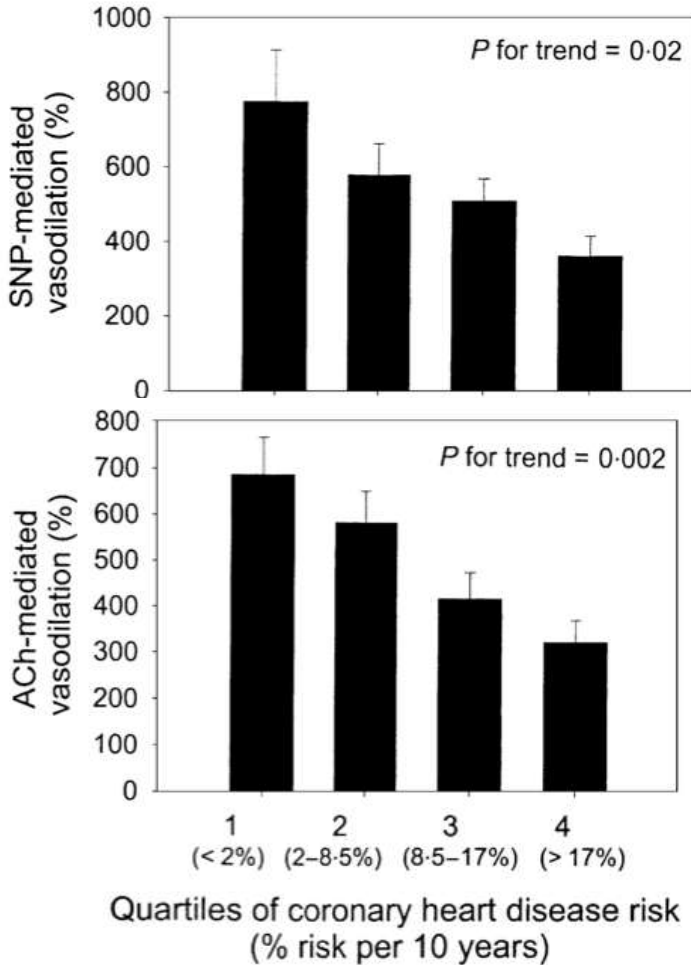
farklı sonuçların çıkmasına neden olur.

- noninvazif ve klinik uygun bir yöntem

MİTOKONDRI OKSİJEN TÜKETİMİ NEREDE?

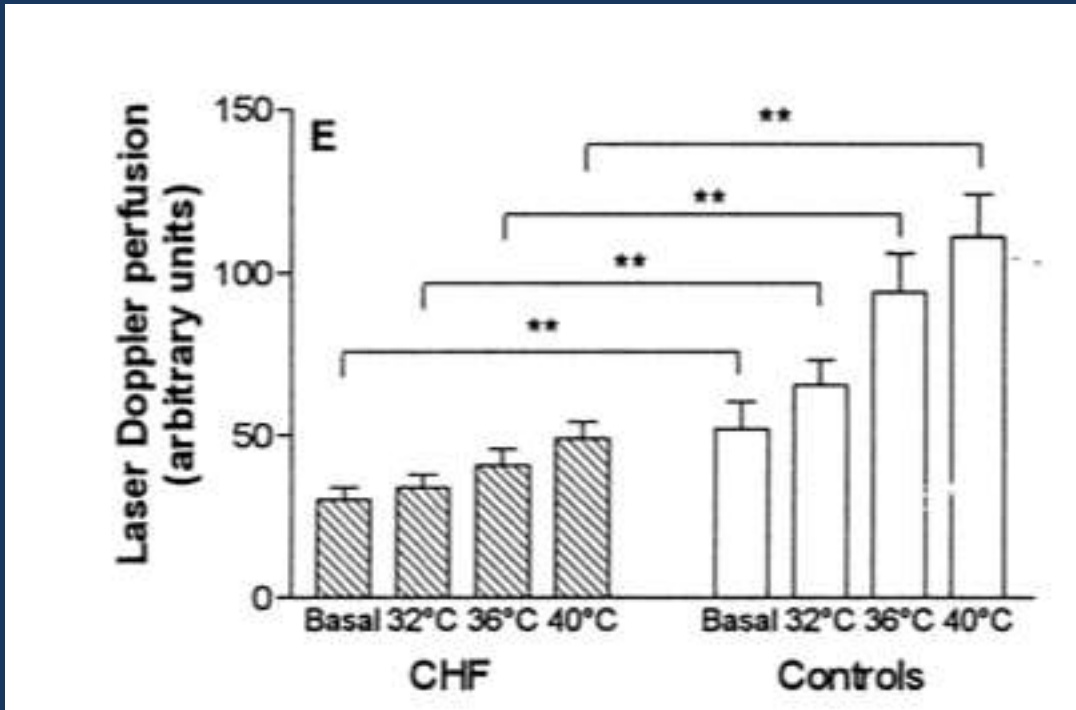
Deri

- Koroner kalp hastalığı riski arttıkça deri mikrovasküler reaktivitesi azalmaktadır.



Düz kas cevabı

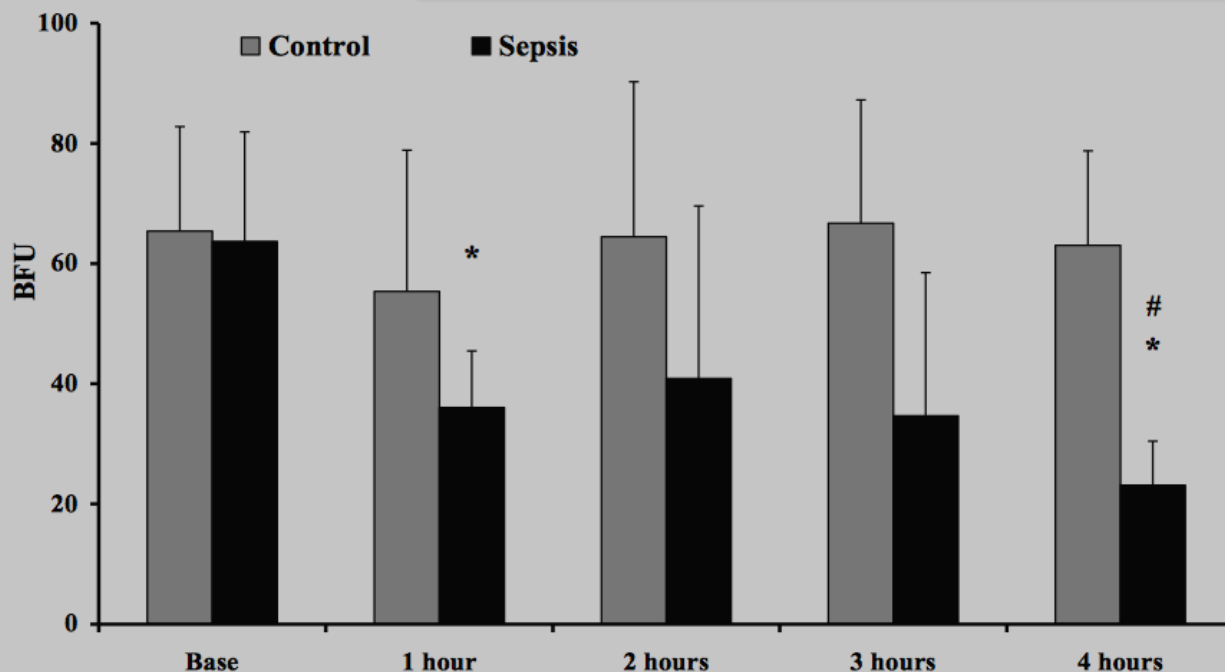
Endotel bağımlı cevap



Konjestif kalp yetmezliğinde ısıya karşı azalan cevap

TABLE 1 – Changes of core- and skin surface temperature and modified shock index values in the Control and Sepsis groups.

Variable	Group	Base	1 hour	2 hours	3 hours	4 hours
core temperature [°C]	Control	36.34 ± 0.12	36.49 ± 0.15	36.87 ± 0.18	37.13 ± 0.21	37.33 ± 0.24
	Sepsis	35.92 ± 0.15	37.19 ± 0.22	37.23 ± 0.25	37.52 ± 0.28	37.56 ± 0.31
skin surface temperature [°C]	Control	30.76 ± 0.18	33.00 ± 0.25	33.50 ± 0.32	33.90 ± 0.39	33.15 ± 0.46
	Sepsis	31.69 ± 0.22	33.10 ± 0.28	32.10 ± 0.35	32.10 ± 0.42	33.46 ± 0.49
modified shock index (MSI) [1/mmHg.min]	Control	0.85 ± 0.22	0.9 ± 0.25	0.91 ± 0.28	0.91 ± 0.21	0.91 ± 0.15
	Sepsis	0.93 ± 0.18	0.96 ± 0.25	0.92 ± 0.33	1.22 ± 0.46	1.11 ± 0.22



Şok indeksi =
Nabız/OAB

Domuz sepsis modelinde deri kan akımının zamanla azalması
i.v. Escherichia coli ile sepsis modeli

MİTOKONDİRİ OKSİJEN TÜKETİMİ NASIL?

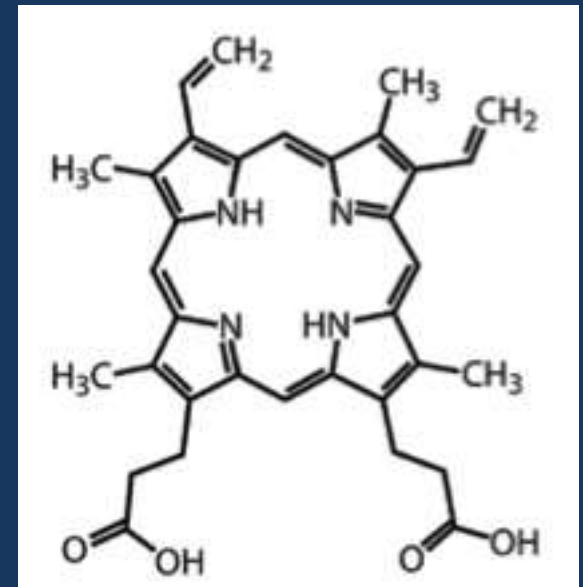
TEKNİK	ÖLÇÜLEN PARAMETRE	ÖLÇÜM YERİ	KLİNİK UYGUNLUK	DEZAVANTAJI
Elektrot	pO ₂	İnterstisyel bölge	Beyin ve tümör	Akut doku hasarı, prop oksijen tüketir, yavaş cevap
Fiber-optik fosforesans prop	pO ₂	İnterstisyel bölge	Klinik uygun değildir	Akut doku hasarı
NIRS	Hb, Mb	İntravasküler Hb/intrasellüler Mb	Çoğunlukla araştırma amaçlı	Hb ve Mb ayrılmaz
NADH floresan	NADH and FAD oksidasyon düzeyi	İntrasellüler/mitokondri	Klinik uygun değildir	Sitosolik ve mitokondriyel kompartmanları ölçer.
EPR oksimetri	pO ₂	İnterstisyel bölge	Klinik uygun değildir	Sınırlı derinlik
NMR "BOLD"	Total DeoxyHb	İntravasküler	Fonksiyonel beyin görüntüleme çalışmaları	Deoksihemoglobinden pO ₂ hesaplanamaz

Protoporphyrin IX-triplet state lifetime technique (PpIX-TSLT)

- in vivo mitokondri oksijen basıncı ve tüketimini ölçer

mitopO₂

VO₂



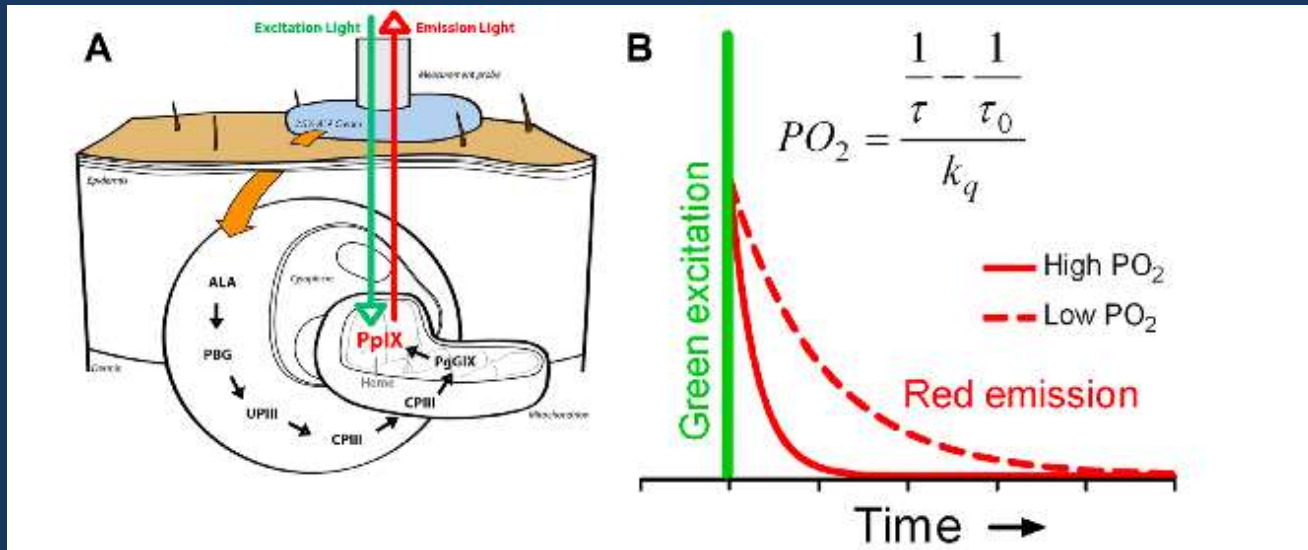
Protoporfirin IX

Prensip:

PpIX, hem molekülünün son öncülüdür ve mitokondride sentezlenir

Mitokondride bulunan PpIX 'un oksijen bağımlı optik özelliğinin ölçülmesi temeline dayanır.

Yeşil ışık ile uyarılan PpIX kırmızı floresan ışınım yayar. Bu floresan ışınımın ömrü oksijen bağımlıdır.

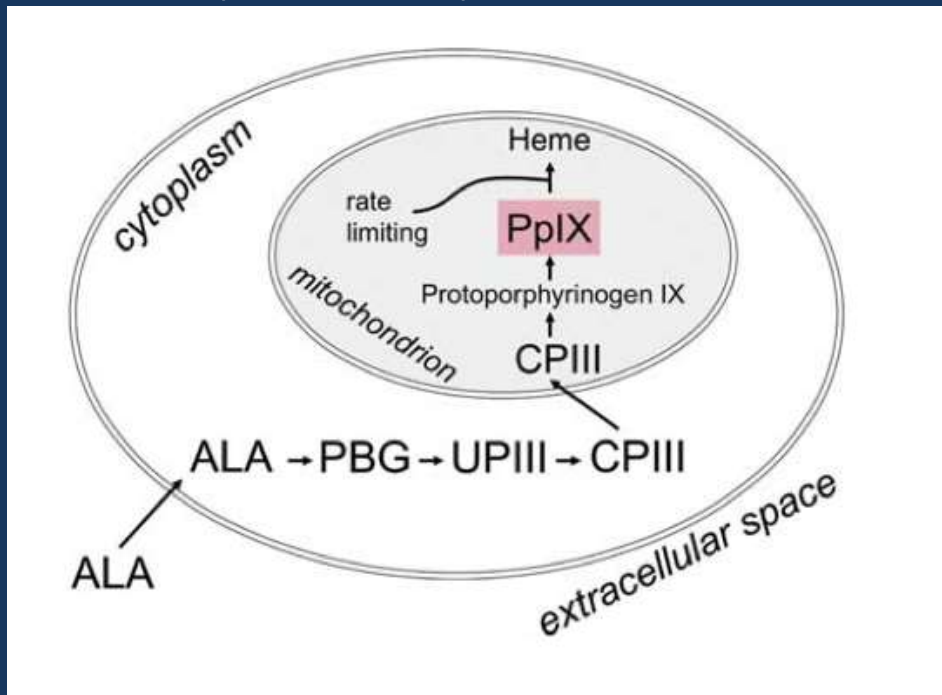


Floresan ışınım ile oksijen arasındaki ilişki üzerinden mitopO₂ düzeyi ölçülür.

Mitokondride PpIX düzeyi çok düşük olduđu için:

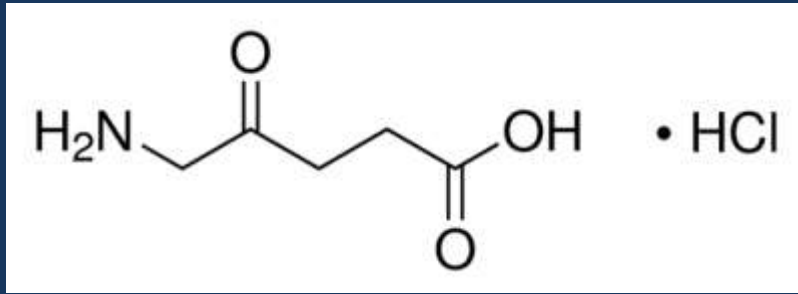
- 5-aminolevulinik asit (ALA) (krem) deri üzerine uygulanır ve bu yolla mitokondriyel PpIX' u artırır .
- PpIX ' un heme dönüşmesi zaman alacağından dolayı PpIX mitokondride birikir.

Hem biyosentez yolu:



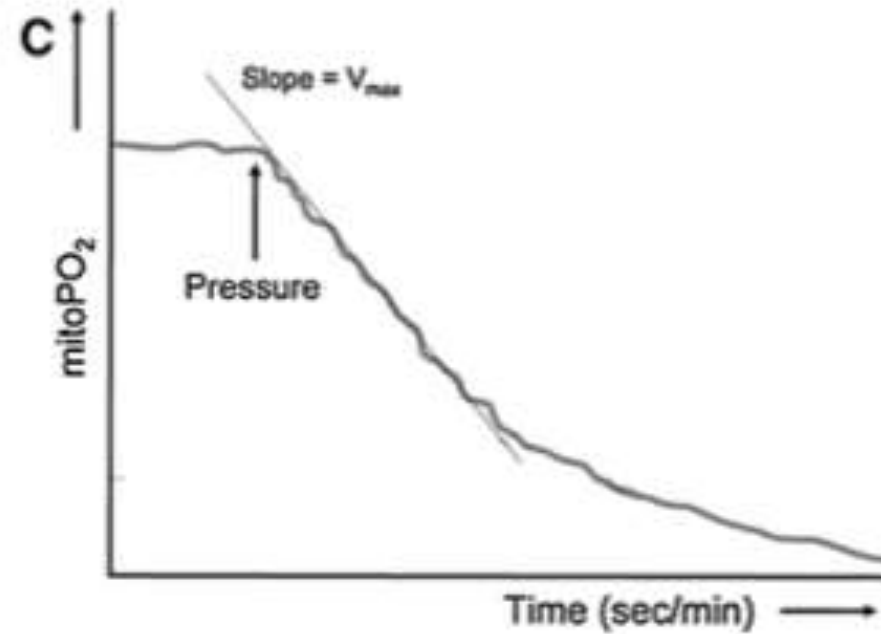
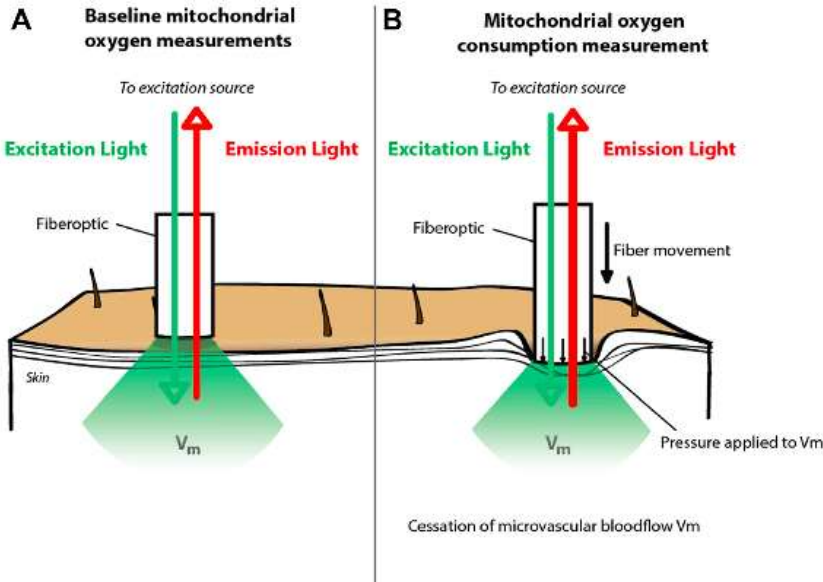
ALA, 5-aminolevulinic acid
PBG, porphobilinogen
UPIII, uroporphyrinogen III
CPIII, coporphyrinogen III
PpIX, protoporphyrin IX

- 5-aminolevulinik asit (ALA)
- ALA fotodinamik teşhis ve tedavi yöntemlerinde kullanılmaktadır
- Ayrıca dermatolojide, akne vulgaris gibi benin lezyonlar için kullanılmaktadır



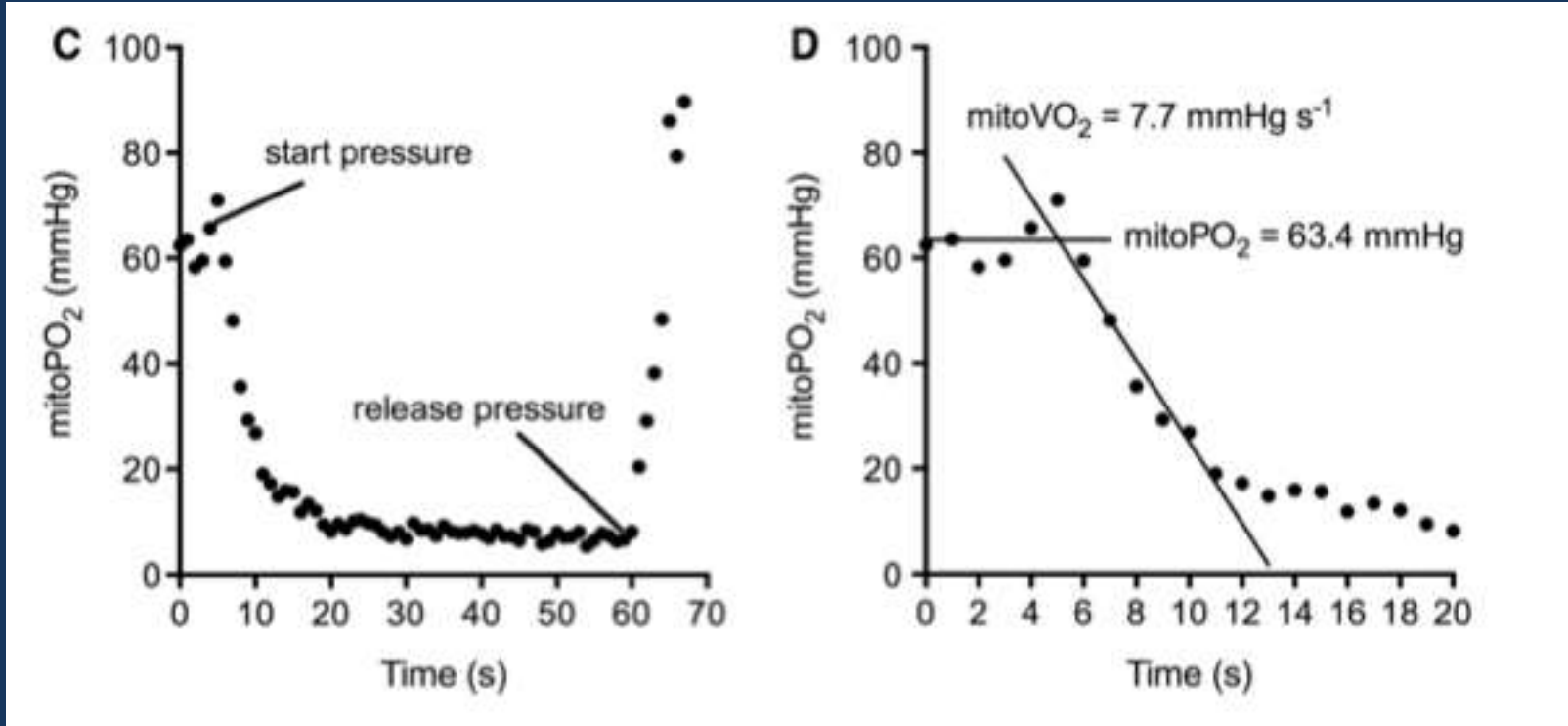
Mitokondriyel oksijen tüketim ölçümü:

- Oksijen azalma hızı üzerine dayanan bir yöntem
- ALA sürüldükten 3saat sonra bölgeye yerleştirilen prob hafifçe bastırılıp bu bölgedeki akımın durması sağlanır.
- MitopO₂ basınç uygulaması öncesi ve esnasında ölçülür.



Sinyalin eğiminden birim zamanda azalan oksijen miktarıyla mitokondriyel oksijen tüketimi hesaplanır.

İnsan presternal derisinde zamanla mitopO₂ değişimi:



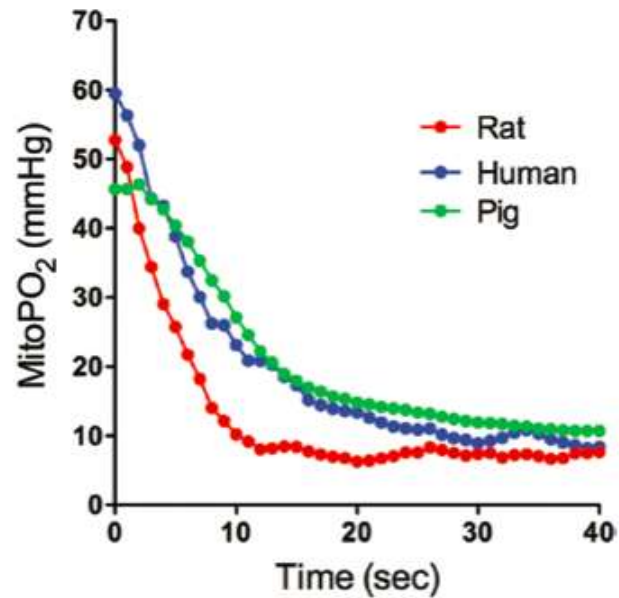
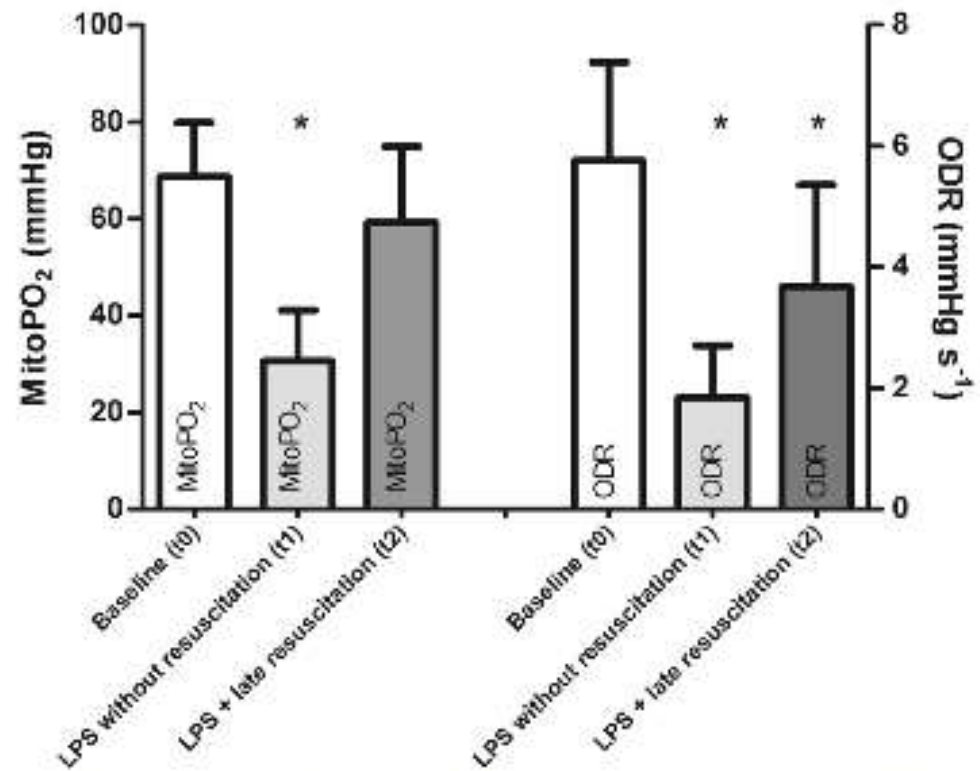
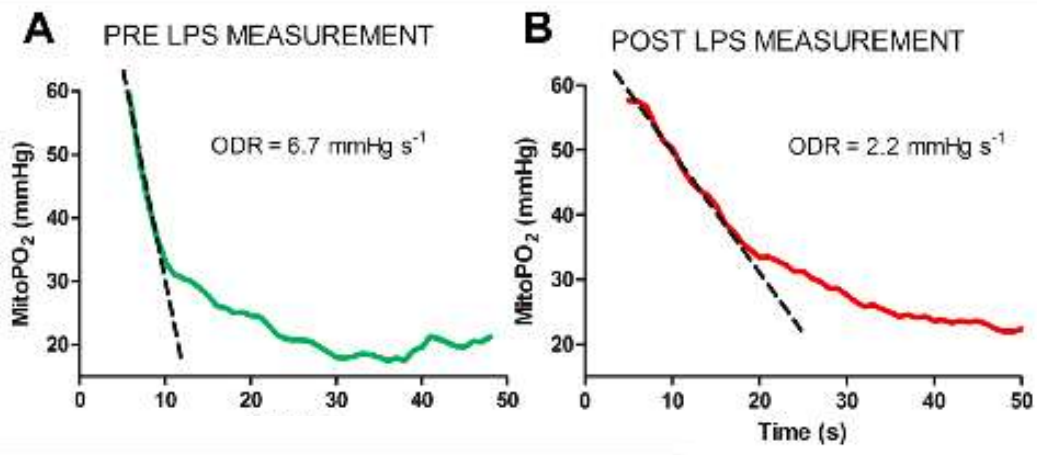


Figure 11. Examples of oxygen disappearance curves in skin. Oxygen disappearance curves measured by delayed fluorescence of protoporphyrin IX (PpIX) in skin of rat, humans, and pig. Measurements in rat and pig were performed after topical application of 5-aminolevulinic acid (ALA) cream. The measurement in a healthy volunteer was performed after topical application of ALA using an ALA-containing patch (Alacare, Photonamic GmbH & Co, Wedel, Germany). Applying local pressure with the measurement fiber induced microvascular stop-flow within the tissue directly under the fiber.



SONUÇ

- Mitokondri fonksiyon bozukluğunun bilinmesi sunulan oksijenin enerji üretimi için mi yoksa serbest radikal üretimi için kullanılacağı hakkında bilgi verir.
- PpIX tekniği; sıvı tedavileri ve sepsiste yeni bakış açıları getirebilir.

Teşekkürler