

Miyokard Korunması - II: Miyokard Metabolizması ve Harabiyeti

Op. Dr. Semih Barlas, Op. Dr. Emin Tireli, Doç. Dr. Enver Dayıođlu, Prof. Dr. Cemil Barlas

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Göğüs Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı, İstanbul

Kalp adalesinin kasılması ve diğer hücre içi olaylar için gerekli enerji kaynağı Adenozin Trifosfat (ATP)'dir. Enerji hammaddelerinin enerji veren maddelere dönüşmesi, glikoliz yoluyla olur, Glikoz, sarkolemma-tubuler zarları geçtikten sonra glikoz 6 fosfata dönüşür. Bundan sonra ya glikojen olarak depo edilir ve yıkıma uğrar. Glikoliz ve Krebs çemberi sırasında gelişen ve sonuçta ATP açığa çıkartan reaksiyonlar Tablo 1'de gösterilmiştir. ATP'nin serbest olarak oluşumu dışında, oksitlenmiş (NAD*) veya indirgenmiş (NADH₂) şeklinde bulunabilen, Nikotinamid Adenin Nükleotid (NAD) harcanmasından da ATP elde edilebilir. Glikoz gibi yakıtlarda bulunan hidrojen iyonları, ATP üretmeden önce NAD'yi NADH₂'ye çevirir ve H₂O oluştururlar. Bu arada her biri NADH₂'den 3 ATP kazanılır. Sonuçta aerobik glikoz+sitrik asit siklusu ile 36 ATP elde edilir. Anaerobik glikolizde ise gliseraldehid 3 fosfattan, 1.3 difosfogliserat oluşurken ATP açığa çıkmaz. Sitrik asit çemberi de gerçekleşmediği için sadece 2 ATP elde edilir (Şekil 1)

Normoksi durumunda, glikolizin hızı, üretilen ATP ve sitrat miktarına göre ayarlanır; ATP ve sitrat miktarı arttığında, glikoliz inhibe edilir. Hipoksi veya hafif iskemi durumunda myokard, ihtiyacı olan hammaddeyi glikojeni yıkarak karşılar. Ortam oksijensiz olduğunda, piruvat dehidrogenaz (PDH) enzimi, okside olamamış NADH₂ tarafından inhibe edilir ve sitrat çemberi gerçekleşemez. ATP depolarında açık belirir. Enerji geresinimi anaerobik glikoliz ile karşılanmaya çalışılır. Bu mekanizma, ATP ve sitrat açığını yerine koyamadığından glikoliz stimülasyonu sürer. Anaerobik glikoliz; Adenozin

mono fosfat (AMP), inorganik (P_i) ve hepsinden önemlisi laktat birikimine yol açar (Şekil 2).

İskemi ağırlaştıkça ve devam ettikçe artan laktat birikimi, gliseraldehid 3 fosfat dehidrogenaz (GAPDH) enzimini ve enerji sentezini inhibe eder. Yine aynı şekilde, normalde, enerji açığında akitve olabilen fosfofruktokinaz enzimi (PFK), ağır iskemini doğurduğu intraselüler asidoz sonucunda işlev göremez ve glikoliz tamamen dururken, yıkım ürünleri hücre içinde kalır. Laktat oluşumu, myokard hipoksisinin belirtisidir (Şekil 3).

Myokard harabiyeti, kalbin iskemi ve reperfüzyon sırasında meydana gelen işlevsel, metabolik

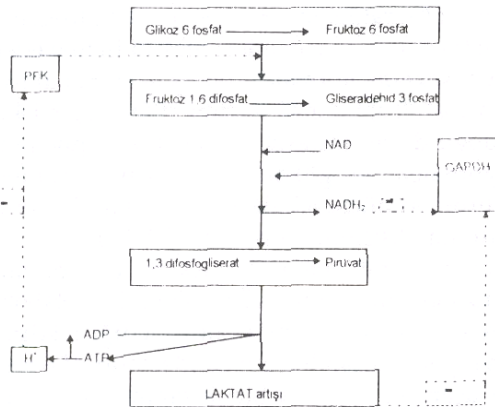
değişimler olup zamanında önlenmediği takdirde hücrenin geriye dönülmez biçimde zarar görmesine yol açar. Kalpte kısa bir iskeminin ardından, uzun süreli bir işlev kaybının belirlediği, kasılma yeteneğinin oldukça geç olarak yeniden kazanıldığı anlaşılmıştır. Bu duruma "myokardial stunningdonma" denmektedir. Klinik olarak myokardial

stunning, en sık olarak açık kalp ameliyatlarındaki kardio-pulmoner bypass sırasında, iskemik arrest uygulanan kalplerde görülmektedir. "Stunning" durumundaki myokardda görülen metabolik olaylar Şekil 4'de gösterilmiştir.

İskemi ile birkaç saniye içinde ATP depolarında bir zayıflama belirir. ATP kaybı ile Adenozin difosfat (ADP) ve Adenozin monofosfatın (AMP) artışı normal şartlarda durgun bir aktivasyon gösteren enzimleri canlandırır. Sonuçta, iskemi sırasında gerçekleşen bir dizi yıkım reaksiyonu Adenin nükleotidlerin (Adenozin ve İnozin) birikimine yol açar. İnozin, iskemide beliren en önemli nükleosid

Tablo 1. Glikoliz ve Krebs çemberi sırasında gelişen reaksiyonlar

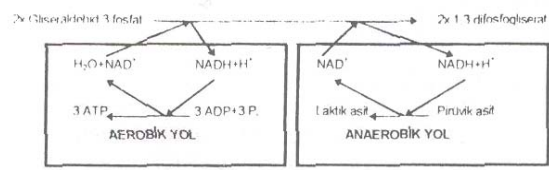
<i>I. Heksoz fosfat yolu: ATP kullanımı</i>		
1) Glüköz + ATP	Glüköz 6 fosfat + ADP	(-1 ATP)
2) Fruktöz 6 fosfat + ATP	Fruktöz 1,6 difosfat + ADP	(-1 ATP)
<i>II. Trioz yolu: Oksijen ve ATP üretimi</i>		
3) 2x Gliseraldehid 3 fosfat + 2NAD ⁺ + 2P _i	2x 1,3 difosfoglisarat + 2NADH + H ⁺	(6 ATP)
Matrikslerin sitoplazmadan mitokondriye geçmesi için gerekli enerji		
4) 2x 1,3 difosfoglisarat + 2ADP	3 fosfoglisarat + 2ATP	(2 ATP)
5) 2x fosfoenol piruvat + 2ADP	2 piruvat + 2ATP	(2 ATP)
<i>III. Anaerobik üretim</i>		
6) 2x piruvat + 2NADH + 2H ⁺	2 laktat + 2NAD ⁺	(0 ATP)
<i>IV. Aerobik üretim</i>		
6) 2x piruvat + 2CoA + 2NAD ⁺	2asetil CoA + 2CO ₂ + 2NADH + 2H ⁺	(6ATP)
<i>V. Sitrik asit (Krebs) çemberi</i>		
7) 2izositrat + 2NAD	2alfa ketoglutarik asit + 2CO ₂ + 2NADH + 2H ⁺	(6 ATP)
8) 2x alfa ketoglutarat + 2CoA + NAD ⁺	2 suksinil CoA + 2NADH + 2H ⁺ + 2CO ₂	(6 ATP)
9) 2x suksinil CoA + 2GDP + 2P _i	2sitrik asit + 2CoA + 2GTP	(2 ATP)
	(2GTP + 2ADP → 2GDP + 2ATP)	(2 ATP)
10) 2x suksinat + 2FAD	2fumarik asit + 2FADH ₂	(4 ATP)
	(FADH ₂ + 1/2 O ₂ + 2ADP + 2P _i → FAD + H ₂ O + 2ATP)	
11) 2x malik asit + 2NAD ⁺	2oksalasetat + 2NADH + 2H ⁺	(6ATP)



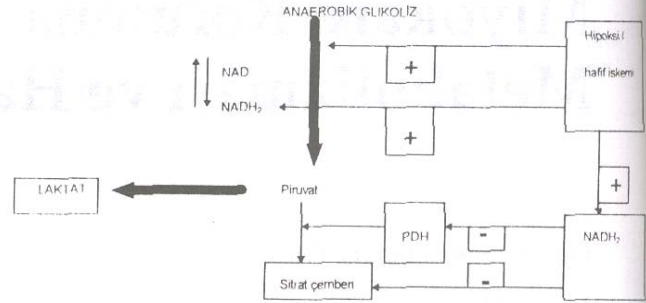
Şekil3. Hücre asidozu fosfofruktokinaz(PFK) enzimini inhibe ederken, anaerobik glikolizle artan laktat ,gliseraldehid 3 fosfat dehidrogenaz(GAPDH)enziminin aktivitesini baskılayıp enerji sentezini durdurur

(%80-90) olup, yıkımı sırasında superoksid radikallerinin (O₂) ortaya çıktığına inanılmaktadır (Şekil 5)⁽²⁾

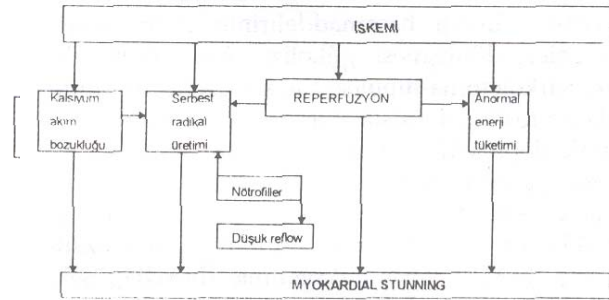
Superoksid radikalleri, tüm vücut hücrelerinde, normal şartlarda az sayıda üretilirler. Fakat bu radikaller, superoksid dizmutaz (SOD), katalaz, glutatyon peroksidaz tarafından etkisiz hale getirilirler (scavenging enzim sistemleri) ve hücredeki diğer moleküllere saldırmaktan alıkonurlar. İskemi sırasında her yıkılan ATP molekülünden, reperfüzyon sırasında ortama hızlı bir biçimde oksijen verilme



Şekil 1. Aerobik yol ile enerji üretilirken, anaerobik mekanizma ile laktat yapılıır.



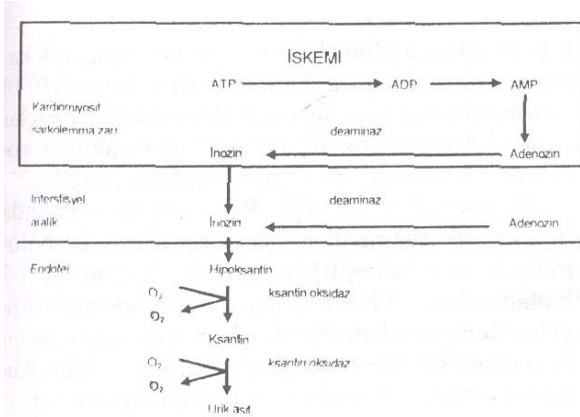
Şekil 2. Oksijensiz ortamda gerçekleşen anaerobik glikoliz ve piruvat dehidrogenaz (PDH) enziminin inhibisyonu



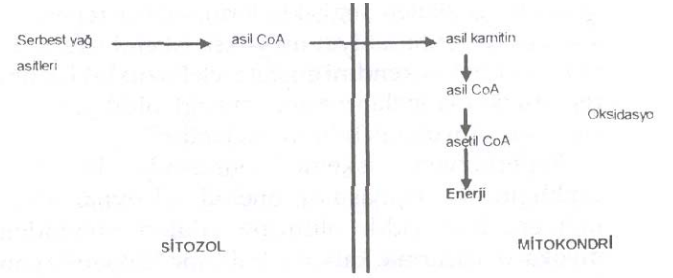
Şekil 4 Açık kalp ameliyatlarındaki elektif iskemi ve reperfüzyon ile oluşan bozukluklar

siyle, 4 superoksid radikali meydana gelmektedir. "Scavenging enzim"lerin az miktarda oldukları bir anda, superoksid radikallerinin üretimi bu şekilde hızla artarsa, etkisizleştirme mekanizması çalışmaz ve bu radikal daha da yıkılıp Haber-Weiss sentezi sonucunda yüksek oksidasyon yeteneği bulunan hidroksil radikali (OH) ortaya çıkar⁽³⁾ O₂ + H₂O₂ → O₂ + OH⁻ + OH

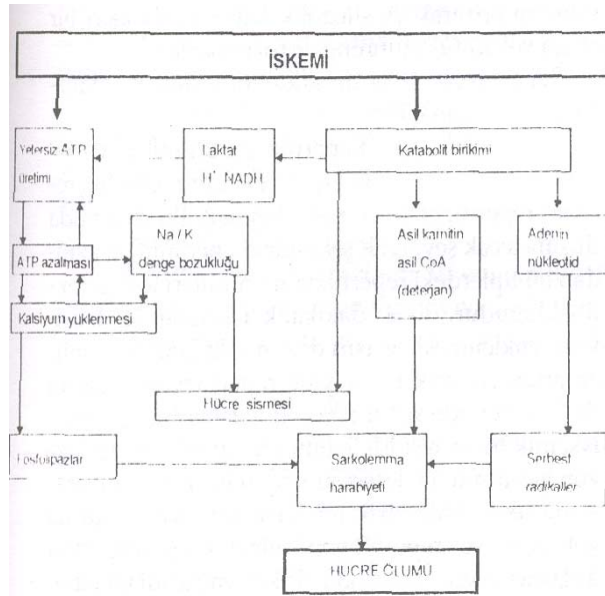
Superoksid ve hidroksil radikalleri herhangi ir molekülle reaksiyona girmelerine rağmen, hidroksil radikali en çok hücre membranındaki uzun zincirli yağ asitleri ile birleşip lipid peroksidasyonuna yol açar. Bu işlem, hücre membranındaki başka "scavenger enzim"ler tarafından durdurulana kadar devam eder. İskemi veya kronik siyanoz gibi scavenging enzim aktivitesini azaltıcı nedenler, hücreyi reoksijenasyon harabiyetine daha da duyarlı kılar. Birçok araştırmacı, reperfüzyon dönemin



Şekil 5. Adenin nükleotidlerin birikimi, ürik asit ve serbest oksijen radikalleri (süperoksit radikali: O₂) oluşumu



Şekil 6. Serbest yağ asitlerinden enerji üretimi



Şekil 7. İskemi başlangıcından hücre ölümüne dek uzanan olaylar

de scavenging enzimlerinin verilmesini ventrikül fonksiyonlarını düzelttiğini ileri sürmektedir⁽⁴⁾.

İskemi sırasında anaerobik glikoliz nedeniyle laktat ve hidrojen iyonu birikimi sonucunda, hücre içi pH düşer.

Normal aerobik koşullarda myokardın enerji gereksinmesinin önemli bölümü, serbest yağ asitlerinin oksidasyonu ile giderilir. Serbest yağ asitleri, yağ (asil) esterleri olup, coenzim A içerirler (asil CoA). Serbest yağ asitlerinin myokard tarafından yıkımı asil CoA, karnitin transferaz gibi enzimlere bağlıdır. Bu enzimler, asil CoA'nın sitozolden mitokondriye taşınmasını sağlayıp sonuçta asil karnitin yaparlar (Şekil 6). Sarkolemma'nın işlevleri, tamamen lipidlerden oluşan yapısal bütünlüğüne bağlıdır. Sarkolemma'nın iskemiye bağlı olarak yırtılması, bozuk lipid metabolizmasını simgeler. Uzun zincirli asil karnitin ve lizofosfatidil kolin (LPC) gibi metabolitlerin birikimi; bunların yıkımında

görevli enzimlerin baskılanması sonucunda gerçekleşir. Bu metabolitler toksik özellik gösterirler; zira, hidrofilik ve hidrofobik özellikleri, onların deterjan gibi davranmalarına neden olur. Uzun süre iskemide yağ asitlerinin oksidasyonu, uzun zincirli asil karnitin transferaz enzim eksikliği sonucunda düşer. Buna bağlı olarak hücre içi asil CoA artar, asetil CoA azalır.

İskemi sırasında myokardial ATP depolarındaki azalma, sarkolemmadaki enerji ile çalışan sodyum pompasını baskılar. Buna bağlı olarak sodyum-potasyum taşınımı etkilenir. Hücre içinde sodyum birikirken, potasyum kaybedilir. Hücre dışında ise potasyum artar. Sodyum/kalsiyum taşınımına bağlı olarak hücre içi kalsiyum aşırı yüklenir. Zayıf ATP düzeyleri, sitoplazmik retikulumun kalsiyum geri alımı ile birlikte, hücrelerden kalsiyum atılımını da düşürürler. Sonuçta artan hücre içi kalsiyum, mitokondride aşırı bir yüklenmeye yol açar. Bu da ATP üretimini daha da düşürür. Hücre içi Ca⁺ ATPaz'larının aktivasyonu, ATP kullanımını artırır ve sarkolemmal fosfolipidleri aktive eder. Deterjan özelliğindeki fosfolipid ürünleri ortaya çıkarak hücre membranının bütünlüğünü bozarlar.

Myokard iskemisi kalbin kasılma mekanizmasının işlevini bozar. Aynı zamanda ventrikülün diastolik basınç-hacim ilişkisini de etkiler. Sonuçta sistolik basınç, maksimum dP/dt ve maks. dP/dt/diastol sonu basıncı düşerken, diastolik basınç yükselir. Ortaya çıkan sistolik ve diastolik yetmezlik, sonuçta ventriküldeki dolmuş basıncı artırarak, pulmoner sahada göllenmeye neden olur.

ATP düzeyi, kontrol düzeylerinin %20'sine düştüğünde, hücreler iyon dengesini sağlamaları için gerekli ATP'yi üretemez hale gelirler. Bu durum, hücre şişmesi ve sarkolemma harabiyetine yol açar. Hücre, iskemi ile sadece reversibl olarak harap olduğunda (canlılığı, reperfüzyon ile henüz sağlanabilirken) ATP depoları genel olarak kontrol düzeylerinin %60'ından yüksektir (Şekil 7).

Geçici bir iskemi sonrasındaki reperfüzyon

sırasında gözlenen değişikliklerin, sadece reperfüzyona bağlı bir harabiyet mi yoksa iskemi sırasında oluşan ve zaten kendini gösterecek bozukluklarının reperfüzyonla hızlanmasına mı bağlı olduğu konusu henüz tam olarak bilinmemektedir⁽⁵⁾.

Reperfüzyon, iskemi sonrasında hücrenin canlılığına kavuşmasında önemli rol oynamasına rağmen, bazı ciddi olumsuz etkileri yüzünden miyokard hasarına katkıda bulunur. Reperfüzyon hasarı⁽⁵⁾: a) kalsiyum birikimi; b) reperfüzyon aritmileri; c) vasküler harabiyet ve akımsızlık (noreflow); d) "Myokard stunning"; e) iskemi ile kısmen zarar görmüş hücrelerde nekrozun hızlanmasına; f) iskemi ile tamamen zarar görmüş hücrelerde aşırı ödem oluşuyla karakterizedir.

Reperfüzyon hasarındaki hücresel olayları açıklayan iki önemli hipotez mevcuttur: a) kalsiyum

yüklenmesi; b) serbest radikaller. Kalsiyum ve/veya oksijenin, daha önceden kalsiyumdan yoksun, hipoksik bir ortama reperfüzyon ile verilmesi, büyük miktarlarda kalsiyumun hücre içine girişine neden olurken, serbest radikalleri oluşturur.

Kalsiyum Paradoksu: Kalsiyum hücre dışı mesafeden önce uzaklaştırılıp, ardından yerine konunca sonuç; ciddi hücre harabiyeti; aşırı enzim salgılanması ve adale kontraktürüdür⁽⁶⁾. Mitokondri yeniden işleve geçtiğinde, enerjisini sitozolün aşırı kalsiyum yükünü dışarı atmada harcar, bu da hücrenin solunum zincirini zayıflatır, oksijen ve enerji üretimini baltalar.

Oksijen Paradoksu: Aniden reoksijene olan mitokondrinin hızlı ve aşırı kalsiyum alımı, kontraksiyon bantları oluşumuna, enerji kaybına, sitozolik kalsiyumun iyi kontrol edilememesine, sarkolemma harabiyetine ve hücre içi enzimlerin salgılanmasına neden olur. Bu iş, tüm enzimler tükenene dek devam eder. Şu anda geçerli hipotez, oksijenin ani olarak ortama verilmesinin, oksijen kaynaklı serbest radikallerin oluşumuna yol açarak hücreyi harap etmesidir.

İzole bir kalp adalesi glikoz ve oksijenden yoksun bırakıldığında, normal koşulların yeniden sağlanması sonrasında kalsiyum ve lizofosfatidil kolin

(LPC), reperfüzyon aritmilerine yol açar. Hearse ve Tosaki⁽⁷⁾, serbest radikal oluşumu ile reperfüzyon döneminde görülebilen ventriküler fibrillasyon arasında sıkı ilişki olduğunu öne sürmüştür. Serbest radikaller, yarattıkları membran harabiyeti ile aksiyon potansiyellerini olumsuz yönde etkileyecek hücrelerde elektrofizyolojik değişimlere neden olmakta ve aritmilere zemin hazırlamaktadır.

Reperfüzyon ve Vasküler Hasar: Akımsızlık (noreflow) özel bir damar harabiyetidir. Üç ana açıklaması vardır⁽⁸⁾: a) mikrovasküler harabiyet ve nö-

rofil tıkaçları, endotel hücre ödemine yol açarak kapiller akımsızlık yaratır (hücre şişme hipotezi); b) trombosit veya trombüsler, mikrovasküler tıkaçlar yapabilirler; c) miyokardın iskemik kontraktürü, koroner arterleri sıkıştırır ve normal akımı engeller.

Myokardial "stunning": Reperfüzyon sırasında hipokinetik segmentler, işlevlerinin büyük bölümüne hemen kavuşurken, tam düzelme ancak 1-3 haftada oluşur. Stunning, gecikmiş iyileşmeyi simgeler. Bunun nedeni olarak, iskemik dönem sırasındaki enerji sentezinin gerilemesi düşünülebilir. Kusuoka ve ark.⁽⁹⁾, kontraktile bozukluğunun reperfüzyonun erken dönemindeki kalsiyum yüklenmesine bağlı olduğunu söylemişlerdir. Serbest radikaller de, sitoplazmik retikulumun kalsiyum alım ve salımını bozarak ve sitozolik kalsiyumda aşırı bir artışa yol açarak stunning'de rol oynarlar.

Reperfüzyon hasarını şiddetini etkileyen faktörler şöyle sıralanabilir:

I - **İskemini süresi:** Reperfüzyon aritmeleri ve reversibl iskemi arasında ilişki mevcuttur. Ölü hücrelerde reperfüzyon aritmisi oluşmaz. Bu durumda düşünelecek şey, ATP şeklindeki enerjinin en azından bu tiplerdeki reperfüzyon aritmeleri için gerekli olduğudur. 30-60 dakikalık iskemilerde, kalsiyum yüklenmesi ve aşırı enzim salgılanması sonucu artan iskemik hasar yine reperfüzyon hasarını da beraberinde artırır⁽¹⁰⁾. II - **İskeminin şiddeti:** İskemik hasarın şiddeti, bunu takip eden reperfüzyon hasarının da derecesini tayin eder. İskemi sırasında siklik AMP birikerek kalsiyum oynamalarına yol açar ve reperfüzyon döneminde aritmileri doğurur. İskemi sırasında biriken yağ asidi metabolitleri, kalsiyum kanallarını açık tutarak, hücreye girişi artırır. Miyokard hipoperfüzyonu ne kadar şiddetli ise, reperfüzyonla ortaya çıkan serbest radikal oluşumu da o derece hızlıdır. III - **Reperfüzyonun hızı:** Hızı reperfüzyon, reperfüzyon aritmilerinin gelişme süratini de artırırken, mekanik düzelme hızını yavaşlatır.

İskemi ve reperfüzyondaki ultrastrüktürel değişiklikler^(11,12)

A) **İskeminin reversibl fazı:** İskemik bırakılmayan miyokardlarda bol miktarda mitokondriye ve kontraksiyon yapan myofibrillere rastlanır. Çekirdekte düzgün dağılımlı kromatin ağı, sarkoplazmada bol miktarda glikojen granülleri vardır. Sarkoplazma bütünlüğü bozulmamıştır. İskeminin yaklaşık 15. dakikasına kadar önemli bir ultrastrüktürel değişiklik tespit edilmez. Bu süreden sonra myofibrillerde gevşeme, glikojen granüllerinde azalma tespit edilebilir. Mitokondriiler genellikle şişer ve çekirdek kromatininde hafif derecede kenarlara yığılma (margination") gözlenir.

B) *İskeminin irreversibil fazı*: İskeminin 30-60. dakikaları arasında mitokondriler aşırı derecede şişir ve mitokondri matriksinde boşluklar meydana gelir. Matrikse ait bu boşluklarda osmiofilik amorf dansiteler "dense bodies") belirlenir. Bu dansiteler 200 Å⁰ çapına kadar erişirler ve bir mitokondride en fazla 4 dansite görülür. Çekirdek ise aşırı derecede periferel kromatin kümeleşmesi gösterir. Sarkoplazmada glikojen depoları ciddi dereceleri azalır. Myofibriller aşırı gergin gözüktür. Plazma membranında defektler oluşur. İskemi 30 dakikadan birkaç saate kadar uzarsa mitokondrial amorf matriks dansiteleri sayıca ve büyüklükçe artar. Sarkolemmadaki defektler genişler. Bununla birlikte hücrelerin myofibrilleri gerilmekten başka bir patoloji göstermez ve yapısal olarak bütünlüğünü korur. Bu nedenlerden dolayı, irreversibil iskemik hasara ışık mikroskobu ile tanı koymak olanaksızdır. Kalp kası hücreleri dışında, kapiller endotel hücrelerinin pinositik vakuollerini kaybettikleri ve geniş sitoplazmik blebler meydana getirdikleri söylenebilir. Bu son değişiklik, iskeminin 60. dakikasından sonra çok aşikar hale gelir.

C) *Reperfüzyonun reversibil fazı*: İskeminin ilk 15 dakikası içinde yapılan reperfüzyon normal hücresel yapıya dönüşüm için gerekli restorasyonu sağlar.

D) *Reperfüzyonun irreversibil fazı*: Reperfüzyonun 2. dakikasında kalp kasında belirgin kontraksiyon bantları oluşur ve subsarkolemmal blebler artar. A, I ve Z band yapıları kaybolmuştur. Sarkomerler kısalır. Bu bölgedeki plazma membranında geniş defektler oluşur. Reperfüzyon, iskeminin irreversibil dönemindeki myokarda ikinci tip mitokondriyal granüllerin oluşmasını sağlar. Bu ikinci tip granüller amorf dansitelerden daha granüler bir görüntü verirler. Kalsiyum fosfat içerirler. Bu granüller reperfüzyonun 20. dakikasında sayılarını arttırırlar.

Kaynaklar

1 Kalaycı G: Durdurulmuş kalpte retrograd perfüzyonun myokardı korumadaki etkinliği. Doçentlik tezi. İstanbul 1980.

- 2 Abd-Elfattah AS, Jessen ME, Hanan SA, Tuchy G, Wechsler S: Is adenosine 5'-triphosphate derangement or free-radikal-mediated injury the major cause of ventricular dysfunction during reperfusion? Circ 82 (suppl. IV): 341-50,1990.
- 3 Menasche P, Grousset C, Gauduel Y, Mouas C, Piwnica A: Prevention of hydroxyl radical formation: A critical concept for improving cardioplegia. Circ 76 (suppl V): 180., 1987.
- 4 Buckberg GD: Strategies and logic of cardioplegic delivery to prevent, avoid, and reverse ischemic and reperfusion damage. J Thorac Cardiovasc Surg 93:127-39,1987.
- 5 Opie LH: Reperfusion injury and its pharmacologic modification. Circ 80:1049-62,1989.
- 6 Zimmerman ANE, Hulsmann WC: Paradoxical influence of calcium ions on the permeability of the isolated rat heart. Nature 211:646-47,1960.
- 7 Hearse DJ, Tosaki A: Free radicals and calcium: Simultaneous interacting triggers as determinants of vulnerability to reperfusion induced arrhythmias in the rat heart. J Mol Celi Cardiol 20:213-23,1988.
- 8 Skipper ER, Lust RM, Morrison RF, Sun YS, Austin EH, Chitwood WR: Superior protection of severe hypertrophy using retrograde coronary sintis cardioplegia. Circ 78 (suppl II): 184,1988.
- 9 Kusuoka H, Porterfield JK, Weisman HF: Pathophysiology and pathogenesis of stunned myocardium: Depressed Ca²⁺ activation of contraction as a consequence of reperfusion-induced cellular calcium overload in ferret hearts. J Clin Invest 79:950-61,1987.
- 10 Ferrari R, Ceconi C, Curello S: Intracellular effects of myocardial ischemia and reperfusion: Role of calcium and oxygen. Eur Heart J 7 (suppl A):3-12,1987.
- 11 Moran SV, Chuaqui B, Irrazaval MJ, Thomsen P, Navarro M, Urzua J, Maturana G: Ultrastructural myocardial preservation during coronary artery surgery: A controlled perspective, randomized study in humans. Ann Thorac Surg 41:79-84,1986.
- 12 Sjostrand F, Ailen B, Buckberg GD, Okamoto F, Young H, Bugyi N, Beyersdorf F, Barnard J, Leaf J: Studies of controlled reperfusion after ischemia IV. Electron microscopic studies. J Thorac Cardiovasc Surg 92:513-24,1986.