

Fundamental Study of Myocardial Protection with Terminal Warm Blood Cardioplegia

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/9287

開心術における終末期常温血性心筋保護法の基礎的研究

金沢大学医学部医学科外科学第一講座 (主任: 渡辺洋字教授)

富 田 重 之

開心術における心停止中の心筋保護法において虚血再灌流傷害は避けることができない。この再灌流傷害を軽減する方法として終末期常温血性心筋保護法 (terminal warm blood cardioplegia, TWBC) があるが、TWBC 中の心筋酸素代謝は解明されていない。本研究では、近赤外分光法を用いて心筋組織酸素飽和度 (tissue oxygen saturation, So_2) および組織ヘモグロビン・ミオグロビン濃度 (tissue hemoglobin plus myoglobin concentration, Hb+Mb) を連続測定することにより、虚血再灌流時の心筋酸素代謝におよぼすTWBCの効果を解明し、さらに心筋温、心機能、心筋逸脱酵素および心筋ヌクレオチドの測定からTWBCの至適灌流法を検討した。成熟イヌを用い完全体外循環下に大動脈を遮断し、低温晶質性心筋保護液 (cold crystalloid cardioplegia, CCC) による60分間の心筋保護を行った。A群 (n=6) では大動脈遮断を単純解除した。B群 (n=6) では大動脈遮断解除前にカリウム濃度12mEq/lの TWBC 液15ml/kgを、灌流圧80mmHgで約1分間冠灌流した。C群 (n=6) ではB群と同量の TWBC 液を灌流圧60mmHgで約2.5分間冠灌流した。またD群 (n=6) では30ml/kgの TWBC 液を、灌流圧60mmHgで約5分間冠灌流を行った。心筋 So_2 、Hb+Mbは体外循環前に各々 $82 \pm 4\%$ 、 $602 \pm 35 \text{ mm} \cdot \text{g/l}$ で、CCCの虚血時は $56 \pm 4\%$ 、 $325 \pm 45 \text{ mm} \cdot \text{g/l}$ と低値を保った。再灌流時、A群では So_2 、Hb+Mbは $79 \pm 4\%$ 、 $589 \pm 32 \text{ mm} \cdot \text{g/l}$ へと緩やかに上昇したが、その後徐々に低下し So_2 が75%を下回ると全例が心室細動となった。B群ではTWBC灌流により So_2 、Hb+Mbは急速に上昇したが、大動脈遮断を解除すると低下し4例が心室細動となった。一方、C群ではTWBC灌流後 So_2 、Hb+Mbは各々 35 ± 8 、 47 ± 10 秒で体外循環前値へ、D群では 37 ± 10 、 65 ± 23 秒で体外循環前値に復帰し、大動脈遮断解除後も低下せず洞調律に復した。心筋温は、A群では再灌流開始から 14.2 ± 2.6 分、B群では 10.0 ± 3.2 分、C群では 5.0 ± 1.6 分、またD群では 3.3 ± 1.1 分で 35°C に達し、C、D群での心筋温の回復が有意に速かった。心機能の測定では体外循環後、収縮期血圧、心拍出量係数、左室仕事量係数は4群とも有意に低下したが、C、D群で低下率が少ない傾向にあり、最大圧力発生速度はC、D群では低下しなかった。血清トロポニンTは体外循環後に上昇したが、A、B群に比べC、D群では有意に低値であった。心筋ヌクレオチド含量では、大動脈遮断解除30分後のATPがA群で低下したのみで、ADP、AMPはA、C群とも虚血再灌流前後で有意な変化は示さなかった。以上から、近赤外分光法による心筋 So_2 の測定は、虚血再灌流時の心筋酸素代謝モニターとして有用で、TWBCは心筋酸素代謝の回復、再灌流傷害の軽減、心機能の回復に有効であり、また60分の低温心筋虚血では2.5分以上のTWBC液灌流が必要であると結論された。

Key words myocardial protection, reperfusion injury, terminal warm blood cardioplegia, myocardial oxygen metabolism, near-infrared spectroscopy

開心術において心筋保護法は弛緩性心停止、無欠視野、術後の速やかな心機能回復を目的とする必要不可欠な補助手段である。心筋保護液はMelroseら¹⁾のクエン酸カリウム液に始まり、Bretschneiderら²⁾のプロカイン心筋保護液やKirschら³⁾のマグネシウム心筋保護液を経て、Hearseら⁴⁾のカリウム心筋保護液に発展し、低温晶質性心筋保護液 (cold crystalloid cardioplegia, CCC) は現在多くの施設で心筋保護液の基本として使用されている。またBuckbergら⁵⁾は血液付加による酸素運搬作用や緩衝作用に基づき、低温血性心筋保護液の有用性を報告し、様々な改良が加えられ臨床応用されている。これらの低温心筋保護法では主に心筋保護液の間欠的灌流が行われている。一方、1991年、Lichtensteinら⁶⁾により低温および虚血再灌流による心筋傷害を防止する目的で、持続的常温血性心筋保護法 (continuous

warm blood cardioplegia, CWBC) が提唱されたが、血清カリウム濃度の上昇、無血視野確保が困難なこと、心筋代謝が高く維持されるため短時間の灌流停止でも心筋虚血傷害を生じる危険性などの問題がある⁷⁾。また、1994年以降、常温血性心筋保護液を間欠的に冠灌流する間欠的常温血性心筋保護法 (intermittent warm blood cardioplegia, IWBC) が研究されているが、灌流停止許容時間が短く安全性が確立されていない⁸⁾。そのため、現在の開心術における心筋保護法は低温心筋保護液の間欠的冠灌流がまだ主流であるが、これらの心筋保護法では虚血後再灌流傷害を避けることができない。Folletteら⁹⁾は大動脈遮断解除直前に 28°C の高カリウム血液を冠灌流することで心停止を継続させ、その間に心筋酸素エネルギー代謝を改善し虚血中に発生した老廃物を排出することで良好な早期心機能の回

平成8年11月26日受付, 平成9年1月16日受理

Abbreviations : CCC, cold crystalloid cardioplegia; Hb+Mb, tissue hemoglobin plus myoglobin concentration; So_2 , tissue oxygen saturation; TWBC, terminal warm blood cardioplegia; VF, ventricular fibrillation; XCL, aortic cross-clamping

復を得たと報告した。さらにLazarら¹⁰⁾は再灌流心筋傷害の軽減を目的として常温高カリウム血液を冠灌流する終末期常温血性心筋保護法 (terminal warm blood cardioplegia, TWBC) を提唱し、その後 TWBC の有用性が報告されている¹¹⁾¹²⁾。しかし、TWBC 灌流時の心筋酸素代謝については未だ十分に解明されておらず、TWBC の効果的な灌流法については定まった見解がない。

そこで今回著者は、近赤外分光法を用いて心筋組織酸素飽和度 (tissue oxygen saturation, So_2) および組織ヘモグロビン・ミオグロビン濃度 (hemoglobin plus myoglobin concentration, Hb+Mb) を連続測定することによって、虚血後再灌流時の心筋酸素代謝と TWBC の効果を解明し、さらに心機能の測定ならびに心筋逸脱酵素、心筋ヌクレオチドの定量から最良の TWBC 灌流法を検討した。

対象および方法

I. 実験動物

実験動物として体重10~13kg (11.5±2.2kg) の成熟犬36頭を用いた。実験群は CCC による60分間の心停止を行い、コントロールとして大動脈を単純に遮断解除したものをA群とし、大動脈遮断解除直前のTWBCの灌流方法別にB, C, D群に分けた。心筋 So_2 、Hb+Mbおよび心機能測定用に24頭 (各群6頭)、心筋内ヌクレオチド含量測定用に12頭 (A群6頭, C群6頭) を用いた。

II. 実験モデルの作成

塩酸ケタミン (三共, 東京) 20mg/kgを筋肉内に投与後、ペントバルビタールナトリウム (田辺製薬, 大阪) 30mg/kgおよびパンクロニウムブロマイド (日本オルガノン, 東京) 0.1mg/kgを静脈内に投与し、気管内挿管下にHarvard型従量式人工呼吸器 (Bodine Electric Company, Chicago, USA) を用い、純酸素による調節呼吸を行った。四肢誘導により心電図をモニ

ターし、右大腿動脈よりカテーテルを挿入し動脈圧をモニターした。また右腋窩静脈よりSwan-Ganzカテーテル (American Edwards Laboratories, Santa Ana, USA) を挿入し、心拍出量、右房圧、肺動脈圧を測定した。体外循環送血用に左大腿動脈を露出し、右胸骨傍切開にて心臓を露出した後、上下大静脈、上行大動脈の順に剥離、テーピングした。心電図、大動脈圧、肺動脈圧、右房圧、左房圧はポリグラフシステム RM-6000 (日本光電, 東京) にて同時記録した。

ヘパリンナトリウム (武田薬品, 東京) 300 単位/kgを静脈内投与した後、上下大静脈脱血、左大腿動脈送血による完全体外循環を開始した (図1)。送血ポンプには遠心ポンプ (Sarns, Ann Arbor, USA) を人工肺には膜型人工肺 (Sarns) を用い、体外循環充填液として乳酸リンゲル液 (大塚製薬, 東京), 7%NaHCO₃ (大塚製薬) を用いた。人工心肺血の送血酸素分圧は200~300mmHgとなるように人工肺吹送ガスの酸素濃度を調節した。体外循環中の全身灌流温度は30℃となるよう恒温槽 (Sarns) を用い調節し、大動脈遮断解除直前に35℃となるように復温した。また体外循環灌流量は80ml/min/kg、灌流圧は70~90mmHgとした。大動脈基部にルートカニューラ (DLP, Grand Rapids, USA) を留置し心筋保護液の注入と大動脈基部圧の測定に用いた。

III. 心筋保護液の組成と注入方法

心筋保護液作製回路 (BCD Advanced system, Shiley, Irvine, USA) を用いて、臨床に使用しているCCC (表1) を4℃に冷却した後、初回15ml/kg, 2回目以後は10ml/kgで20分間毎に灌流し60分間の心停止を行った。B, C, D群ではCCCと酸素化した人工心肺血を1:4で混合し、さらにカリウム濃度を12mEq/lに調節して、付属の熱交換器で37℃に加温したTWBC (表2) を、ローラーポンプ (泉工医科, 東京) を用い冠灌流した。B群では15ml/kgを灌流圧80 mmHgで約1分間、C群ではB群と同量を灌流圧60mmHgで約2.5分間、またD群では30ml/kgを灌流圧60mmHgで約5分間冠灌流を行った。

IV. 測定項目と測定方法

1. 近赤外光モニタリング

近赤外光(700~1200nm)を利用した心筋組織 So_2 、Hb+Mb 測

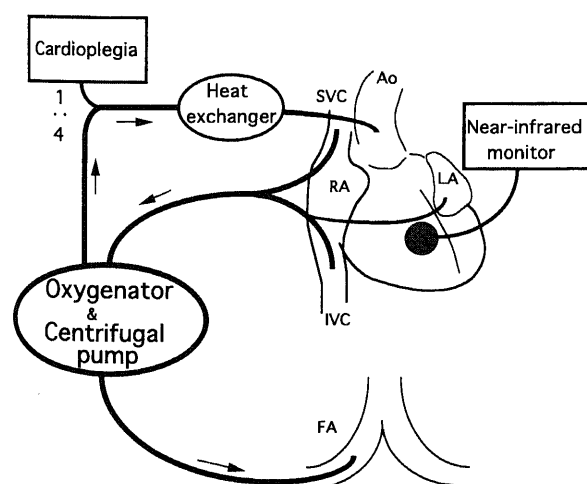


Fig. 1. Schematic diagram of the experiment. Cardiopulmonary bypass was established by cannulation of the superior and inferior vena cavae for venous return, and the femoral artery for systemic arterial inflow. A probe for monitoring of myocardial tissue oxygen and hemoglobin plus myoglobin concentration is touched to the surface of the right ventricle. Ao, aorta; RA, right atrium; LA, left atrium; SVC, superior vena cava; IVC, inferior vena cava; FA, femoral artery.

Table 1. Composition of crystalloid cardioplegic solution

Na	73	mEq/l
K	30	mEq/l
Cl	102	mEq/l
HCO ₃	0.88	mEq/l
Glucose	23	g/l
Manitol	7	g/l
Osmotic pressure	374	mOsm/l
pH	7.5	

Table 2. Final concentration of terminal warm blood cardioplegic solution

Na	127	mEq/l
K	12	mEq/l
Cl	100	mEq/l
pH	7.5	
Hematocrit	20	%

定装置 PSA-III N (バイオメディカルサイエンス, 金沢) を用い, 完全体外循環確立後, 右室前面にセンサーを接着し虚血から再灌流にわたり連続測定を行った. 今回実験で用いたセンサー装置 (PSP-15R, バイオメディカルサイエンス) は小型で (図2), 700nm, 730nm, 770nmの3波長の近赤外光を組織表面に照射し, 組織内に散乱した光の一部を照射点からある距離をおいた表面で受光し, その吸光度をもとに Lambert - Beer の法則をもとに理論式を導き, 組織中の So_2 および $Hb+Mb$ 量の絶対値を無侵襲で測定するものである¹³⁾. 以下に原理および理論式を示す.

図3のように組織のp点に入射した波長 λ の光 $I_0 \lambda$ の強度分布はp点を中心に半円球状になる. 従って深さ d_1 のq点の透過光 $I_1 \lambda$ はr点の散乱光 $I_1 \lambda$ に等しい. 同様にs点の透過光は $I_2 \lambda$ はt点の散乱光 $I_2 \lambda$ に等しい. 2受光方式ではq-s間の吸光度 $A_{1-2} \lambda$ を求めるので, これはp-s間の吸光度 $A_2 \lambda$ とp-q間の吸光度 $A_1 \lambda$ の差になる.

$$A_{1-2} \lambda = A_2 \lambda - A_1 \lambda = \log \frac{I_0 \lambda}{I_2 \lambda} - \log \frac{I_0 \lambda}{I_1 \lambda} = \log \frac{I_1 \lambda}{I_2 \lambda} \quad \dots\dots(1)$$

ところで, 組織の吸光度は血液の吸光度と血液のない組織のみの吸光度の和であるので,

$$A_{1-2} \lambda = \epsilon a \lambda \cdot C_a \cdot \bar{d} + \epsilon b \lambda \cdot C_b \cdot \bar{d} + A_t \lambda \quad \dots\dots(2)$$

ただし,

- $\epsilon a \lambda$: 酸化ヘモグロビン・ミオグロビンの分子吸光係数
- $\epsilon b \lambda$: 還元ヘモグロビン・ミオグロビンの分子吸光係数
- C_a : 単位組織あたりの酸化ヘモグロビン・ミオグロビンの重量
- C_b : 単位組織あたりの還元ヘモグロビン・ミオグロビンの重量
- \bar{d} : q-s 間の平均光路長
- $A_t \lambda$: 波長 λ の血液のない組織のみの吸光度

三つの波長 $\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3$ の光を用いると, (2)式はそれぞれのように表わせる.

$$A_{1-2} \lambda_1 = \epsilon_{1a \lambda_1} \cdot C_a \cdot \bar{d} + \epsilon_{1b \lambda_1} \cdot C_b \cdot \bar{d} + A_{t \lambda_1} \quad \dots\dots(3)$$

$$A_{1-2} \lambda_2 = \epsilon_{2a \lambda_2} \cdot C_a \cdot \bar{d} + \epsilon_{2b \lambda_2} \cdot C_b \cdot \bar{d} + A_{t \lambda_2} \quad \dots\dots(4)$$

$$A_{1-2} \lambda_3 = \epsilon_{3a \lambda_3} \cdot C_a \cdot \bar{d} + \epsilon_{3b \lambda_3} \cdot C_b \cdot \bar{d} + A_{t \lambda_3} \quad \dots\dots(5)$$

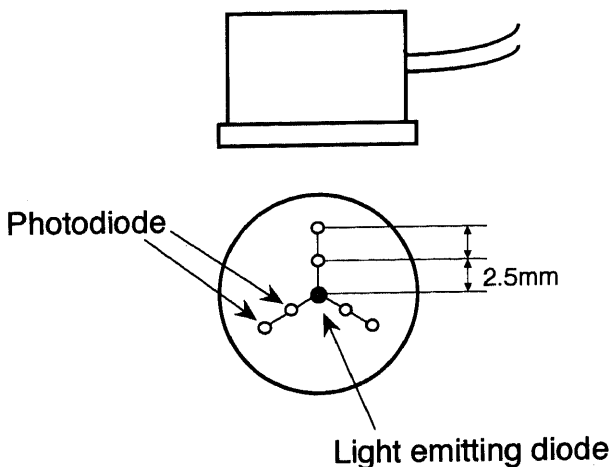


Fig. 2. Schematic presentation of the recording probe. The distance between the light emitting diode and the near photodiode is 2.5mm, and the distance between the paired photodiodes is 2.5mm.

近赤外光として, 700~830nmの狭い範囲の三つの波長を用いると, 近接した波長のために, 血液を含まない組織のみの吸光度の差は非常に小さく,

$$A_{t \lambda_1} \approx A_{t \lambda_2} \approx A_{t \lambda_3} \quad \text{とおける.}$$

そこで, (3)-(4), (4)-(5)を求めると,

$$A_{1-2} \lambda_1 - A_{1-2} \lambda_2 = (\epsilon_{1a \lambda_1} - \epsilon_{2a \lambda_2}) C_a \cdot \bar{d} + (\epsilon_{1b \lambda_1} - \epsilon_{2b \lambda_2}) C_b \cdot \bar{d} \quad \dots\dots(6)$$

$$A_{1-2} \lambda_2 - A_{1-2} \lambda_3 = (\epsilon_{2a \lambda_2} - \epsilon_{3a \lambda_3}) C_a \cdot \bar{d} + (\epsilon_{2b \lambda_2} - \epsilon_{3b \lambda_3}) C_b \cdot \bar{d} \quad \dots\dots(7)$$

となり, 血液を含まない組織のみの吸光度 ($A_t \lambda$) を除外することができる. そこで(6) (7)式の連立方程式を解いて $C_a \cdot \bar{d}$, $C_b \cdot \bar{d}$ を求めると, 各々次式のようになる.

$$C_a \cdot \bar{d} = \frac{(A_{1-2} \lambda_1 - A_{1-2} \lambda_2)(\epsilon_{2b \lambda_2} - \epsilon_{3b \lambda_3}) - (A_{1-2} \lambda_2 - A_{1-2} \lambda_3)(\epsilon_{1b \lambda_1} - \epsilon_{2b \lambda_2})}{(\epsilon_{1a \lambda_1} - \epsilon_{2a \lambda_2}) - (\epsilon_{2b \lambda_2} - \epsilon_{3b \lambda_3}) - (\epsilon_{2a \lambda_2} - \epsilon_{3a \lambda_3})(\epsilon_{1b \lambda_1} - \epsilon_{2b \lambda_2})} \quad \dots\dots(8)$$

$$C_b \cdot \bar{d} = \frac{(A_{1-2} \lambda_1 - A_{1-2} \lambda_3)(\epsilon_{1a \lambda_1} - \epsilon_{2a \lambda_2}) - (A_{1-2} \lambda_1 - A_{1-2} \lambda_2)(\epsilon_{2a \lambda_2} - \epsilon_{3a \lambda_3})}{(\epsilon_{1a \lambda_1} - \epsilon_{2a \lambda_2}) - (\epsilon_{2b \lambda_2} - \epsilon_{3b \lambda_3}) - (\epsilon_{2a \lambda_2} - \epsilon_{3a \lambda_3})(\epsilon_{1b \lambda_1} - \epsilon_{2b \lambda_2})} \quad \dots\dots(9)$$

上記の式より総 $Hb+Mb$ 量は $C_a \cdot \bar{d} + C_b \cdot \bar{d}$, また So_2 は $C_a \cdot \bar{d} /$ 総 $Hb+Mb$ 量 $\times 100(\%)$ で求めることができる. ヘモグロビンとミオグロビンの近赤外分光に対する吸収スペクトルは同一であり, 両者を分けて測定することは不可能であるが, 組織ミオグロビン量は短時間では不変なので, $Hb+Mb$ の増減はほとんどヘモグロビン濃度, すなわち血液量によるものと考えることができる.

2. 心筋温度

心筋温は心室中隔に21Gの心筋温度プローベを刺し, 4群とも心筋虚血中は5分間隔で, 再灌流後は2.5分間隔で測定し, その推移を調べた.

3. 心機能

体外循環開始前の血行動態安定時に右房圧, 左房圧, 心拍数,

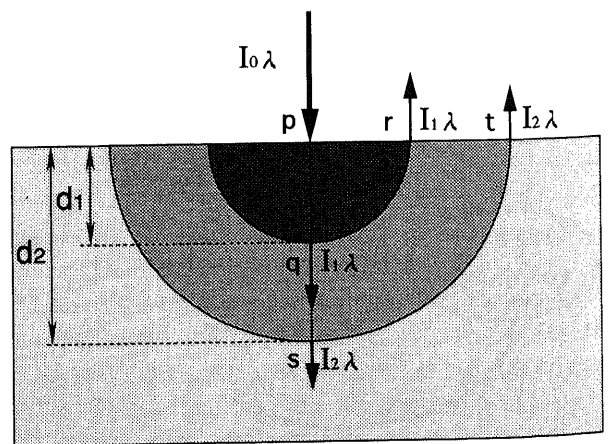


Fig. 3. Schematic presentation of light absorption. The heart is nearly homogeneous and the intensity of reflected light obtained from the heart surface is almost the same as that of transmitted light at the same distance. $I_0 \lambda$, intensity of incidental light at wavelength λ ; $I_1 \lambda$, intensity of transmitted light at the point of q and r; $I_2 \lambda$, intensity of transmitted light at the point of s and t; d_1 , distance between p and q; d_2 , distance between p and s

収縮期血圧、心拍出量を測定し、心拍出量係数、末梢血管抵抗、左室仕事量係数を次式から算出した。

- ・心拍出量係数 (ml/分/kg) = 心拍出量/体重×1000
- ・末梢血管抵抗 (dyne·sec·cm⁻⁵) = (平均大動脈圧-右房圧) / 心拍出量×80
- ・左室仕事係数 (g·m/kg) = 心拍出量/心拍数×(平均大動脈圧-左房圧)×0.0136/体重

また、左室圧曲線より圧力発生速度(dP/dt)を求めた。そのうち、等容性収縮期の指標として最大収縮速度(+dP/dt max)、拡張期の指標として最大拡張速度(-dP/dt max)を用いた。一連の測定を終了後、体外循環を開始した。上行大動脈を遮断し、4群ともCCCにて60分間の心筋保護を行った。大動脈遮断解除後、自己心拍の自然再開率を比較した。心室細動となった場合は、直ちに電気的除細動を行った。体外循環灌流量を変えずに15分間空打ち心とした後、収縮期圧が80mmHgを越えた場合、灌流量を徐々に減じ体外循環から離脱し、体外循環から離脱に要した時間を4群間で比較した。さらに体外循環離脱15分後、体外循環前値と同様の左房圧となるように補液で前負荷を加え、収縮期血圧、末梢血管抵抗、心拍出量係数、左室仕事係数、最大圧力発生速度を測定し各群で体外循環前と比較した。

4. 血清トロポニンTの測定

虚血再灌流による心筋傷害の指標として、体外循環前、大動脈遮断解除後3時間目に血清トロポニンT(ng/ml)を免疫酵素抗体法を用いて測定した。

5. 心筋ヌクレオチド

大動脈遮断直前、遮断解除直前、再灌流30分後、再灌流60分後に心筋を採取し、心筋組織内ATP、ADP、AMPを測定した。標本心筋は、16Gの生検針を用いて心室筋を全層性に素早く採取し、直ちに液体窒素中に入れ固定した。2回目以降の採取部位は前回の採取部位より十分に離れ、かつ障害を受けていない

場所を選んで行った。実験終了後、凍結心筋片を秤量した後、氷冷した0.6N過塩素酸を加えてよく混和し、20~25℃で10分間放置して除蛋白した。これを3000回転で15分間遠心し、得られた上澄みを試料として紫外線吸光度測定でATP、ADP、AMPの定量を行った。虚血再灌流の浮腫を考慮し心筋内ヌクレオチド量は組織重量当たりではなく、組織蛋白当たりで定量した。

V. 統計学的検定法

結果はすべて平均±標準偏差で表記し、それぞれの群の体外循環前後の平均値の検定には paired-t 検定を用い、再灌流後の心室細動の発生率の差の検定には Fisher の直接確率法を用いた。また各群の群内因子の差の検定には一元配置分散分析法を、多重比較には Scheffe のF検定を用いた。いずれの場合もP<0.05を有意差ありとした。

成 績

I. 近赤外光モニタリング

1. 心筋So₂測定

So₂の測定では4群とも体外循環前は82±4%で、誘発した心室細動にて69±5%に低下し、60分間の心停止中は56±4%に保たれた(図4)。再灌流時についてみると、A群では大動脈遮断解除直後よりSo₂は緩やかに上昇し83±12秒で79±4%で最高値に達したがその後徐々に低下し始め、再灌流開始から145±36秒後に全例が心室細動となり、その時点でSo₂は75%以下となった。直流除細動後So₂は再び上昇し始め約6分後に体外循環前値と同じ81±2%に達した。B群ではTWBC灌流開始後よりSo₂は急激に上昇し18±4秒で体外循環前値より高い86±5%でプラトーに達し、約1分間のTWBCの灌流の間その値を維持した。しかしTWBC灌流終了後大動脈遮断を解除すると、So₂はゆっくり低下し始め、大動脈遮断解除後88±25秒でSo₂は75±5%になり、6例中4例が心室細動になった。心室細動に陥らなかった2例は

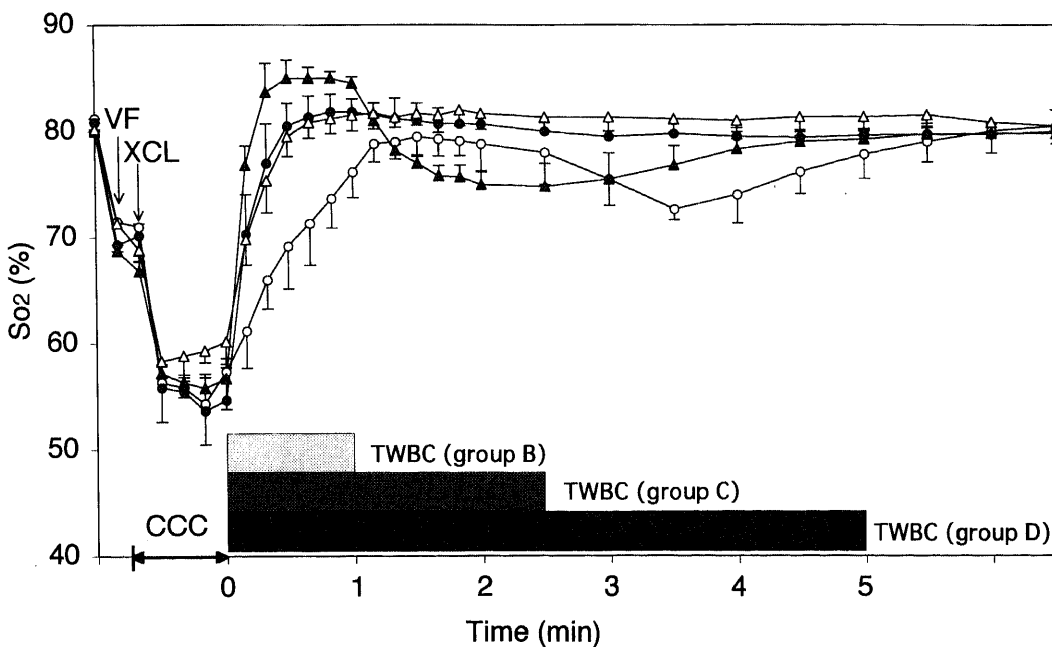


Fig. 4. Comparison of myocardial tissue oxygen saturation during cardiac arrest and after reperfusion. So₂, tissue oxygen saturation; VF, ventricular fibrillation; XCL, aortic cross-clamping; ■, TWBC (15 ml/kg) perfusion at 80mmHg; ▨, TWBC (15ml/kg) perfusion at 60mmHg; ▩, TWBC (30ml/kg) perfusion at 60mmHg; ○, group A; ▲, group B; △, group C; ●, group D. Each value represents $\bar{x} \pm SD$

心室表面がゆっくり小さく波打ち、 So_2 は徐々に上昇し始め大動脈遮断解除から 140 ± 15 秒後自然心拍を再開した。心室細動となった4例では除細動後に So_2 は再び徐々に上昇し始め、 245 ± 36 秒後に体外循環前値に復した。60mmHgの圧で灌流したC、D群では、TWBC灌流開始後、各々 35 ± 8 秒、 37 ± 10 秒で So_2 は体外循環前値とほぼ同値の $81 \pm 3\%$ 、 $81 \pm 2\%$ でプラトーに達し、大動脈遮断解除後もほとんど低下しなかった。C群では遮断解除後 54 ± 21 秒で、D群では 88 ± 27 秒で自然心拍を再

開し始めた。

2. 心筋Hb+Mb測定

Hb+Mbは4群とも So_2 と同様の変化を示し、体外循環前は 602 ± 35 mm·g/lであり、心室細動時には 568 ± 56 mm·g/lに低下し、60分間の心停止間は 325 ± 45 mm·g/lに保たれた(図5)。A群では再灌流後のHb+Mbの上昇は緩やかで 97 ± 19 秒で 589 ± 32 mm·g/lで最高に達したがその後徐々に低下し、全例が心室細動となった。直流除細動後Hb+Mbは再び上昇し始め、大動

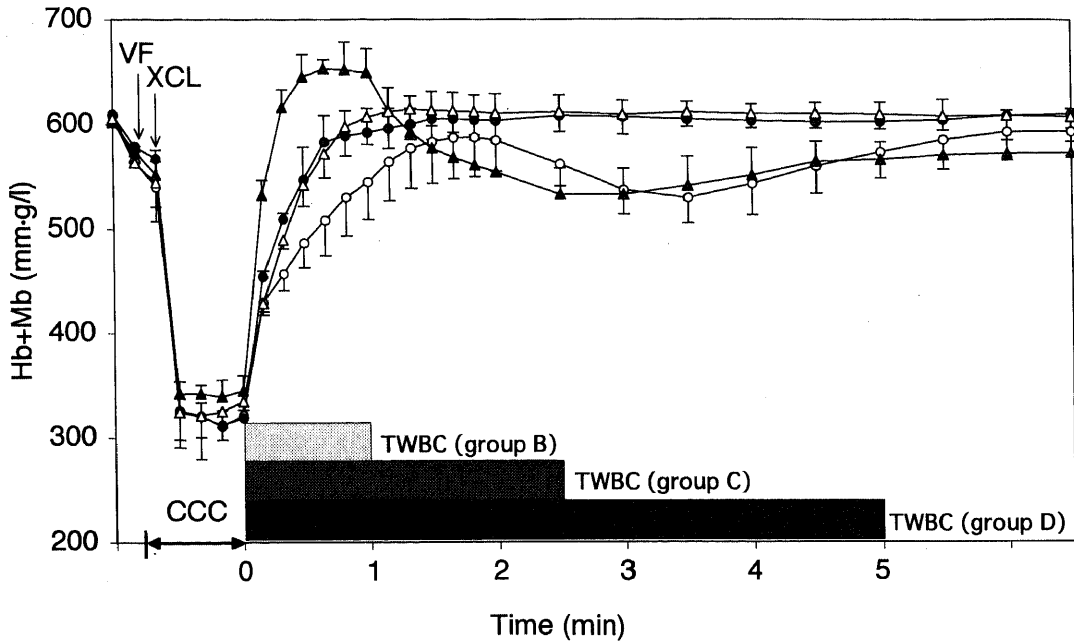


Fig. 5. Comparison of myocardial tissue hemoglobin plus myoglobin concentration during cardiac arrest and after reperfusion. Hb+Mb, tissue hemoglobin plus myoglobin concentration; VF, ventricular fibrillation; XCL, aortic cross-clamping; ▨, TWBC (15ml/kg) perfusion at 80mmHg; ▤, TWBC (15ml/kg) perfusion at 60mmHg; ▥, TWBC (30ml/kg) perfusion at 60mmHg;

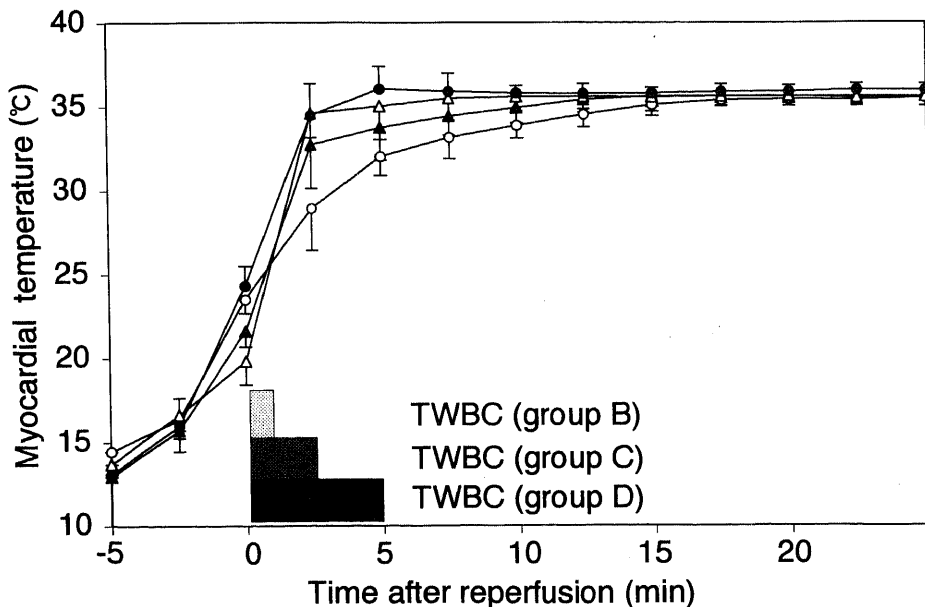


Fig. 6. Myocardial temperature after reperfusion.

▨, TWBC (15ml/kg) perfusion at 80mmHg; ▤, TWBC (15ml/kg) perfusion at 60mmHg; ▥, TWBC (30ml/kg) perfusion at 60mmHg; ○, group A; ▲, group B; △, group C; ●, group D. Each value represents $\bar{x} \pm SD$

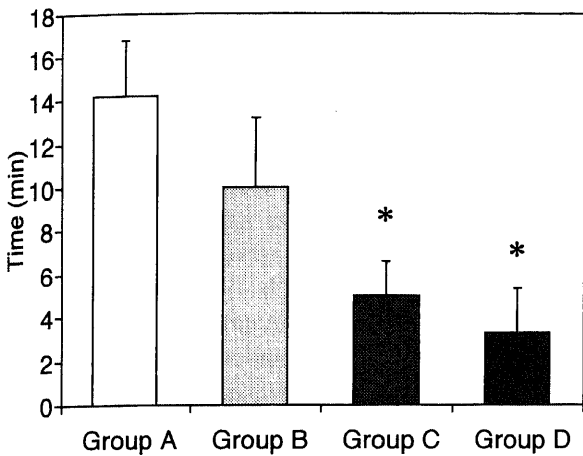


Fig. 7. Time required to reach myocardial temperature of 35°C. * ,p<0.05 versus group A by Scheffe's F test. □, group A; ▨, group B; ■, group C; ▩, group D; bar, SD.

脈遮断解除約6分後に585±25 mm·g/lに達した。B群ではTWBC 灌流開始後より Hb+Mb は急激に上昇し31±5秒で体外循環前値より高い645±36mm·g/lでプラトーに達し、約1分間のTWBC の灌流の間その値を維持した。しかし大動脈遮断解除後、Hb+Mb は徐々に低下しはじめ遮断解除後102±22秒で最低値に達し、再度ゆっくり上昇し始め、遮断解除後286±33秒で551±23mm·g/lで一定値となった。C、D群では TWBC 灌流開始後、各々47±10秒、65±23秒でHb+Mbは体外循環前値とほぼ同値の600±38 mm·g/l、596±35mm·g/lでプラトーに達し、大動脈遮断解除後も Hb+Mb はほとんど低下することはなかった(図5)。全群で Hb+Mb の再灌流後の変化はSo₂の変化と同じ傾向を示したが、So₂に比べ時間的にやや遅れる傾向がみられた。

II. 心筋温

心停止時の心筋温は中等度の全身冷却と局所冷却の併用で全例とも15°C前後に保たれた。再灌流時全身温を35°Cまで復温す

Table 3. Comparisons of cardiac function

Group	number of dogs	Heart rate (beat/min)	Left atrial mean pressure (mmHg)	Systolic blood pressure (mmHg)	Cardiac index (ml/min/kg)	Systemic vascular resistance (dyne·sec·cm ⁻⁵)	Left ventricular stroke work index (g·m/kg)	+dp/dt max (mmHg/sec)	-dp/dt max (mmHg/sec)
A Before CPB	6	151±10	9±1	161±12	160±9	5529±250	1.77±0.13	2372±209	1533±135
A After CPB	6	92±9**	9±1	108±14**	73±10**	7387±1052**	0.80±0.10**	1792±164**	857±174**
B Before CPB	6	153±7	8±1	153±6	159±7	5164±257	1.63±0.11	2208±275	1577±335
B After CPB	6	101±6**	8±1	102±7**	84±9**	6176±1306*	0.75±0.10**	1658±111**	1115±249*
C Before CPB	6	148±8	8±1	156±12	164±12	4945±392	1.75±0.14	2203±282	1622±182
C After CPB	6	135±8**	9±1	141±9**	139±8**	4450±475	1.22±0.19*	2060±160	1416±248*
D Before CPB	6	151±9	8±1	158±12	156±12	5188±164	1.70±0.13	2182±240	1467±205
D After CPB	6	142±7**	9±1	124±9**	147±9**	4742±363	1.46±0.09*	2135±176	1493±236

Values are expressed as $\bar{x} \pm SD$. CPB, cardiopulmonary bypass. * P<0.01, ** P<0.001 versus before CPB by paired t test.

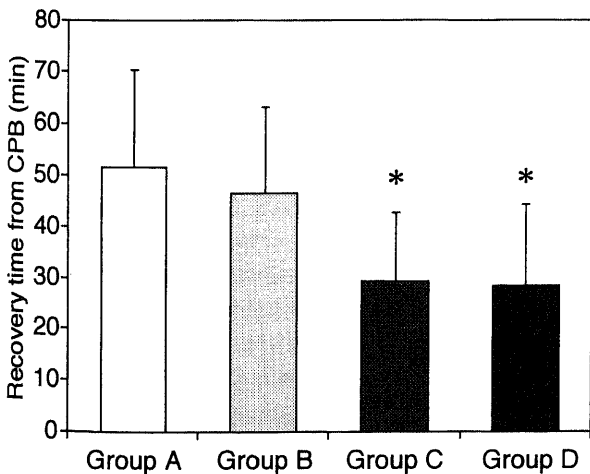


Fig. 8. Functional recovery time from cardiopulmonary bypass. * ,p<0.05 versus group A by Scheffe's F test. CPB, cardiopulmonary bypass; □, group A; ▨, group B; ■, group C; ▩, group D; bar, SD.

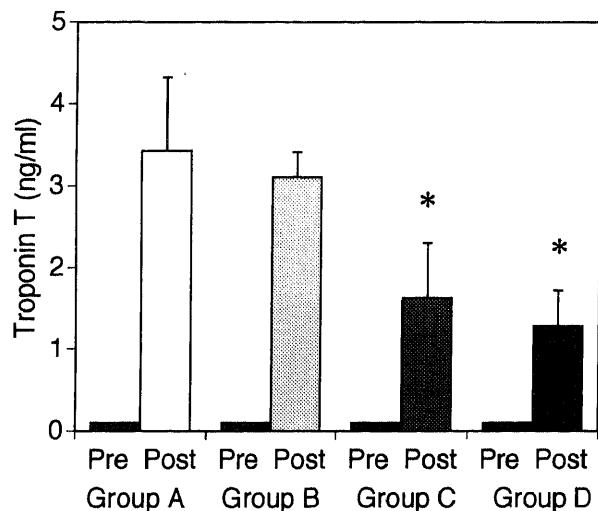


Fig. 9. Serum troponin-t concentration before cardiopulmonary bypass and after 3 hours after reperfusion. * ,p<0.05 versus group A by Scheffe's F test. □, group A; ▨, group B; ■, group C; ▩, group D; bar, SD.

ることで心筋温は $23.0 \pm 1.8^\circ\text{C}$ に復温した(図6)。再灌流後、A群では徐々に心筋温は上昇し 14.2 ± 2.6 分で 35°C に達した。B群はTWBC灌流開始と同時に急速に上昇し、約1分の灌流で $33.2 \pm 0.4^\circ\text{C}$ に達した。大動脈遮断解除後ゆっくり上昇し 35°C に達するまで 10.0 ± 3.2 分を要した。一方C群では2.5分間のTWBC灌流で心筋温は $34.2 \pm 1.8^\circ\text{C}$ まで達し、遮断解除後さらに上昇し

5.0 ± 1.6 分で 35°C に達した。D群ではTWBC灌流 3.3 ± 1.1 分で心筋温は 35°C に達し、遮断解除後はほとんど変化しなかった。C、D群の心筋温回復がA、B群に比べ有意に速かった(図7)。

Ⅲ. 心機能

心拍数、収縮期血圧、心拍出量係数、左室仕事量係数は、体外循環後に全群で有意に低下したが、その低下率はC、D群で小さかった。末梢血管抵抗は、A、B群では体外循環後有意に上昇したが、C、D群では変化を認めなかった。心筋収縮能の指標である最大収縮速度(+dP/dt max)はA、B群で体外循環後有意に低下し、最大拡張速度(-dP/dt max)はA、B、C群で有意に低下した(表3)。大動脈遮断解除後の心室細動はA群に6例、B群に4例発生したが、C、D群では心室細動は発生せず、全例自然心拍再開が得られた。また、大動脈遮断解除から体外循環離脱まで要した心機能回復時間はA群 51.4 ± 19.1 分、B群 46.5 ± 16.8 分、C群 29.2 ± 13.5 分、D群 28.3 ± 15.9 分で、A群に比してC、D群が有意に短かった(図8)。

Ⅳ. 血清トロポニンTの測定

4群とも体外循環前の血清トロポニンTは 0.10 ng/ml以下で、体外循環後4群とも上昇した。A、B群では各々 3.43 ± 0.89 ng/ml、 3.12 ± 0.31 ng/mlと同程度の上昇をみたが、C、D群では各々 1.63 ± 0.68 ng/ml、 1.29 ± 0.44 ng/mlとなり、A群に比べ有意に低値であった(図9)。

Ⅴ. 心筋内ヌクレオチド含量

1. 心筋内ATP含量

心筋内ATP含量はA、C群とも60分間の低温虚血にて虚血前値の約80%に低下した。A群では再灌流30分後さらに虚血前値の67%にまで低下したが($p < 0.05$)、C群ではそれ以上の低下は認めなかった(図10)。

2. 心筋内ADP含量

心筋内ADP含量は低温虚血、再灌流にわたりA、C群とも有意な変化を認めなかった(図10)。

3. 心筋内AMP含量

心筋内AMP含量は虚血60分後に最高値をとり、虚血前値に比し約150%まで上昇したが、再灌流後徐々に低下した。いずれの時点でも2群間に有意な変化を認めなかった(図10)。

考 察

心臓外科手術の発達は、その手術手技の進歩とともに、安全かつ正確に手術を行うための体外循環法と心筋保護法の進歩に依るところが大きい。心筋保護法の進歩はめざましく、現在多くの施設で使用されている低温晶質性または血性心筋保護法の有効性は広く認められており、虚血時心筋傷害は小さいとされている^{9,10}。しかし大動脈遮断解除後の虚血再灌流傷害は避けることができない重要課題であり、再灌流時の新たな心筋傷害が術後心機能により大きな影響を与える。本研究では、近赤外分光法を利用した虚血再灌流時の So_2 、Hb+Mbを測定し虚血再灌流傷害を検討した結果、TWBCが再灌流傷害の軽減と心機能の早期回復に有効であることが解明された。さらに、低温虚血による心筋酸素代謝傷害から回復させ再灌流傷害を軽減させるためには、TWBCの灌流量、灌流圧のみでなく一定以上の灌流時間が必要であることが判明した。

血性心筋保護液は1978年、Folletteらにより低温血性心筋保護法(cold blood cardioplegia)として提唱され、血液の酸素運搬作用、膠質浸透圧による細胞浮腫の予防効果、アシドーシス

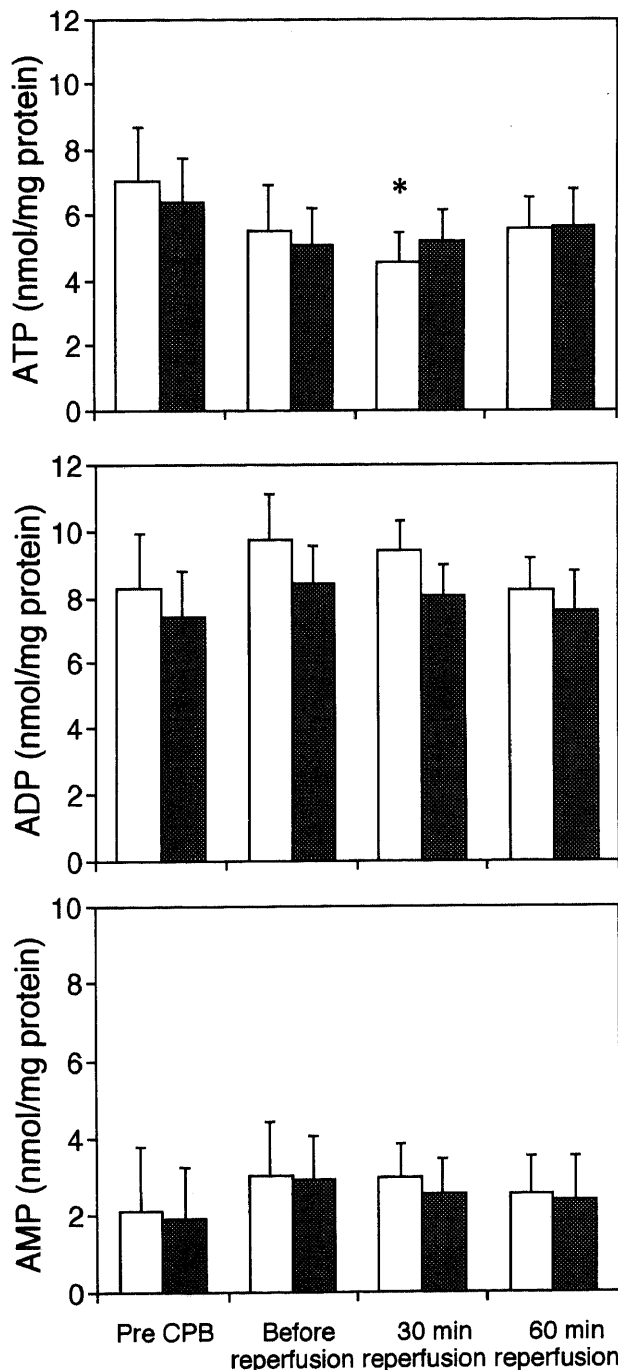


Fig. 10. Changes in myocardial ATP, ADP and AMP contents during cardiopulmonary bypass. Each data is shown as the $\bar{x} \pm \text{SD}$. * $p < 0.05$ versus values before cardiopulmonary bypass by Scheffe's F test. CPB, cardiopulmonary bypass; □, group A; ■, group C; bar, SD.

に対する緩衝作用、活性酸素の中和作用を有する点で優れた心筋保護法であると報告された¹¹⁴。また、Folletteらは虚血再灌流傷害を軽減する目的で血性心筋保護液を大動脈遮断解除前に冠灌流する実験を行った⁹。彼らは雑種成犬を用い28℃で虚血心停止を行い、大動脈遮断解除直前にカリウム濃度を30mEq/lに調節した人工心肺血液500mlを5分間冠灌流した群は、カリウム濃度が3.5mEq/lの血液を冠灌流した群と比較して、左室心筋のコンプライアンスが高く、心筋浮腫が少なく、心機能の回復率が高いことを報告した。Lazarら¹⁰は常温(37℃)の高カリウム血液を大動脈遮断解除前に冠灌流し、心機能の回復がさらに改善したと報告し、TWBCを提唱した。またTeohら¹²は冠状動脈バイパス術患者を対象にTWBCの効果を調べ、虚血により低下した心筋酸素摂取量の回復と虚血中に産生された嫌気性代謝産物の排出の点で優れていると報告した。

心筋における再灌流傷害の原因として、1)再灌流時の心筋エネルギー代謝の低下、2)細胞内カルシウムの流入、3)活性酸素の産生、4)好中球の心筋細胞内浸潤などが考えられている¹⁰⁻¹²。TWBCの特徴は大動脈遮断解除前に、1)高カリウム、2)常温(37℃)、3)酸素化血液を基本とする心筋保護液で冠灌流することにある。高カリウムによる電気的機械的心停止は心拍動や心室細動の状態に比べ、心筋の酸素消費量を著明に減少させる。Buckbergらの報告では、37℃では空打ち心の酸素消費量は5.6 ml/分/100g心筋、細動心では6.5 ml/分/100g心筋であるが、電気的機械的停止心では酸素消費量は1.1 ml/分/100g心筋に低下するとされている¹⁰。すなわち大動脈遮断解除前に心停止を継続させることで心筋酸素需要を抑え、かつ血液で酸素供給を増すことによって、低下した酸素利用能を回復させることができる。また低温は心筋細胞内のミトコンドリアの酸素エネルギー代謝を低下させるが、37℃の血液を冠灌流することで、低下した心筋温を速やかに回復させることができる^{19,20}。TWBCはミトコンドリアによるエネルギー産生能を速やかに回復させ、産生されたエネルギーは心筋の電気的機械的活動に浪費されず、細胞膜のNa-Kポンプや筋小胞体のCaポンプに利用され、細胞内イオン環境の回復を促進する。従って、TWBCは再灌流時の細胞内Caの流入を防ぎ、再灌流傷害を軽減すると考えられる¹²。

本研究では虚血再灌流時の心筋酸素代謝をモニターするため近赤外分光法を利用した組織 So_2 、Hb+Mb濃度測定装置を用いた。近赤外分光法は1977年Jösisらにより始めて生体に応用され²¹、それ以後、脳、筋肉、腎臓などでの応用が報告されている^{22,23}。心臓での虚血傷害モデルにおける近赤外分光法の応用は1990年のParsonsらの報告が最初である²⁴。心筋保護中の本装置の心筋酸素代謝モニターとしての有用性は教室の安田により最初に研究された²⁵。この測定装置が示す So_2 の値はおおよそ心筋組織内静脈血の酸素飽和度と考えられ、大動脈遮断による心筋虚血状態で、血液冠灌流を間欠的に行い、心筋酸素化状態が鋭敏に示されたと報告されている。

本研究では血液による単純再灌流とTWBC灌流を比較し、虚血再灌流時の心筋酸素代謝を詳細に検討した。単純再灌流としたA群では、大動脈遮断解除後の So_2 上昇は緩徐でTWBC灌流の群より有意に長時間を要した。これは低温と虚血による血管拡張物質の減少、再灌流時に発生する活性酸素を含む各種物質による冠血管抵抗増大によると考えられる²⁶⁻²⁸。A群では、一旦上昇した So_2 は2~3分後に再び低下し、 So_2 が75%以下にな

ると全例で心室細動を発生した。再灌流直後の心筋酸素代謝は、虚血傷害からの細胞機能回復の必要性和虚血時に生じた高磷酸化エネルギー負債の返済のため、供給に比して需要が増大している^{12,18,19,29}。単純再灌流では低温により低下したミトコンドリア機能が十分に回復しない状態で心筋細胞は酸素化され電気的機械的活動が開始されるため、心筋細胞の酸素需要供給バランスと電解質バランスの崩れをきたし心室細動を発生させ、心室細動に陥った心筋はさらに酸素消費を増大させることとなり So_2 の再低下を招いたと考えられる。

TWBCを急速灌流したB群では、 So_2 は18秒と短時間で約86%まで上昇し、大動脈遮断解除後は逆に低下し始めた。B群では体重当たり15mlのTWBCを約1分で灌流しているため、実験動物の平均体重を約11.5kgとすれば、この間のTWBCの灌流速度は約170 ml/分である。またTWBCの酸素分圧はおおよそ250mmHgに調節され、この分圧におけるヘモグロビン結合酸素と物理的に血液中に溶存する酸素を合計すると、TWBCの酸素運搬量は約16.5ml/分となる。一方、TWBC灌流中は常温電気的機械的停止心となっているため心筋酸素摂取量は前述のごとく約1.1 ml/分/100g心筋で、実験動物の湿心筋重量は約100gであるため、心筋酸素摂取量は約1 ml/分となる。従って、TWBC灌流時の酸素の需要供給のバランスは供給過剰となる。また80mmHgの灌流圧では毛細血管の短絡が生じ、かつTWBCにより冠血管抵抗は下がり、急激な So_2 の上昇に繋がったと考えられる^{27,29-31}。TWBC灌流を終了し大動脈遮断を解除すると So_2 は逆に低下し始めた。これは冠血管を流れる血液量が大き動脈遮断解除により低下したためと、1分間のTWBC灌流では虚血傷害からの心筋の回復が十分でなかったにもかかわらず電気的機械的活動の高まりと共に心筋酸素消費量が増加したためと考えられる。結果として、6例中4例で心室細動が発生した。

一方、60mmHgでTWBC灌流を行ったC、D群では灌流開始より30秒前後で So_2 は回復し、大動脈遮断解除後も低下することなくその値を維持した。C、D群ではTWBCの酸素運搬量は約4.5 ml/分で、心筋の酸素需要供給バランスは正となる。TWBC灌流中に心筋細胞は酸素エネルギー代謝の面で虚血障害からほぼ回復し、大動脈遮断解除後冠血流により供給された酸素の大部分が心筋収縮活動に利用されたため、 So_2 が低下せずその値を維持し続けたと考えられる。Allenらの犬を用いた虚血再灌流時の心筋酸素消費量の研究では、左冠動脈前下行枝を常温で2時間血流遮断した後再灌流すると、心筋は約20分間にわたり常温心停止時の酸素消費量(1.0 ml/分/100g)を上回り最高で約4.0 ml/分/100g(再灌流2.5分後)に達し、再灌流においては虚血時心筋傷害からの回復と虚血による酸素負債の返済の点で心筋保護液の灌流量より灌流時間が重要であると述べている³²。本研究における近赤外分光法による心筋酸素代謝の測定結果からは、60分間の低温虚血では2.5分以上のTWBC灌流が必要と判断された。しかし、虚血時間がさらに延長した場合は、それに応じてTWBC灌流時間を長くする必要があると考えられる。虚血再灌流における有効なTWBC灌流は、一度上昇した So_2 が大動脈遮断解除後に再低下を生じない程度、すなわち心筋酸素代謝が虚血傷害から十分改善し得る時間灌流するのが望ましいと考えられる。同時測定したHb+Mbは虚血再灌流時に So_2 と同様の経過を示したが、 So_2 に比べ変化がやや遅れる傾向にあった。 So_2 は総Hb+Mbに対する酸化Hb+Mbの比と

して計算されるため、心筋組織中のHb+Mbの絶対量の増加に先立ち So_2 が変化するためと考えられる。

TWBCのもう1つの特徴である常温血液の灌流について、心筋温を連続測定しその推移を検討した。心停止時に心筋を冷却することの意義は酸素消費量を低下させ、虚血許容時間を延ばし、心筋細胞死を防ぐことにある^{33,34}。しかし逆に、心筋冷却の傷害として冠血管抵抗の増加、心筋貯蓄エネルギーの低下、虚血心筋傷害からの回復の遅延などがある^{30,38}。低温は心筋細胞内ミトコンドリアの酸素エネルギー代謝を低下させるため、再灌流後の心筋温の回復が重要である。極上らは心筋代謝の指標に過剰乳酸値を用いてTWBCの再灌流傷害について検討し、十分な心筋温の上昇が心室細動の出現を抑制したと報告している⁴¹。本研究ではA群に比べ、C、D群で心筋温の回復が有意に速く、とりわけD群ではTWBCの灌流中に心筋温が完全に回復し、心筋温回復の観点からは5分間の灌流が有効と判断された。

臨床における心筋保護効果の指標としては、再灌流後の心機能回復状態と、クレアチンキナーゼ-MBアイソザイムやトロポニンTなどの心筋逸脱酵素値が有用である。本研究は臨床に即した形で実験を行い、体外循環前後の心機能測定と血清トロポニンTの測定を行った。心機能では体外循環後、収縮期血圧、心拍出量係数、左室仕事量係数はいずれも有意に低下したが、その低下率はC、D群で小さく、末梢血管抵抗はA、B群で有意に高くなりC、D群では変化がみられなかった。一般に低温心筋保護、低温体外循環では末梢血管抵抗が上昇し、常温心筋保護、常温体外循環を行うと逆に末梢血管抵抗が低下する^{33,34,38}。本研究では再灌流の方法のみを変えており、同量のTWBCを灌流したB、C群間に差が生じたことから、C、D群での再灌流後の良好な心機能の回復が、末梢血管抵抗に反映されたものと考えられる。また心筋収縮弛緩の指標として用いた最大圧力発生速度(±dP/dt max)はC、D群で有意に回復が良好で、Folletteらも同様な報告を行っている⁹。

トロポニンTは筋原繊維構造蛋白の一分画で、細胞質内にも大量に遊離型で含まれるため心筋傷害の早期にピークを示す³⁷。また、アミノ酸配列は骨格筋や、平滑筋のアミノ酸配列と異なるため心筋特異性が高い。そのため近年、心筋傷害を示す指標として、心筋梗塞の診断に用いられている。本研究では心筋虚血傷害の程度を評価するため、心筋虚血前と再灌流後3時間後の2回測定した。開心術では血清トロポニンTは虚血後3~6時間でピークに達するとされている^{30,39}。本研究では虚血再灌流後すべての群でトロポニンTは上昇したが、A、B群で高値を示し、C、D群は有意に低値であった。これらの4群は心筋虚血は全く同じで再灌流方法のみを変化させたことから、4群間のトロポニンT値の差は、直接、再灌流傷害の程度を表わすと考えられる。同量のTWBCを灌流したB、C群をみると、B群でトロポニンTの値が高く再灌流傷害が強く生じた原因には、1分間の灌流では心筋酸素代謝が回復しなかったこと、嫌気性代謝物の排泄が十分でなかったこと、80mmHgの灌流圧が低温虚血で傷害された血管内皮細胞に影響を及ぼした可能性があることなどが考えられた。

本研究では虚血時および再灌流時の心筋組織エネルギー代謝を評価するために、A、C群で心筋内ATP、ADP、AMP含量を測定した。一般に心筋細胞のエネルギー消費、産生のバランスが負に傾いた場合にATPは減少し、ADPとAMPは増加する⁴⁰。

A、C群とも1時間の低温虚血によりATP含量は虚血前値の約80%に減少し、さらに再灌流30分後ではA群では67.5%に、C群では82%となった。再灌流後にATPがさらに減少した原因は、虚血により生じたエネルギー負債の返済と、心筋活動の開始によるエネルギーの消費、低温虚血によるミトコンドリアのATP産生能の低下と考えられる。とりわけ低温傷害はADP、AMPからATPを産生する酵素機能を低下させるといわれている^{41,42}。したがって再灌流30分後のATP含量がA群に比してC群が高い原因としてはTWBC灌流により酸素代謝が早期改善し、さらに心筋温の回復によりミトコンドリアのATP産生機能が回復してくるためと考えられる。LazarらもTWBC灌流群の方が再灌流後ATPの回復が速く、アミノ酸添加TWBCはATPのより速やかな回復を促すと報告している¹⁰。

心筋の電気的機械的活動のエネルギー源であるATPは、その95%がミトコンドリアで好氣的に産生され、その代謝過程において酸素が重要な役割を占める点からも、再灌流時の心筋酸素代謝の早期回復は重要である。本研究での近赤外分光法による心筋 So_2 の測定は、虚血再灌流における心筋酸素代謝状態を明確に示し、虚血からの機能回復を知る指標になり得ると考えられた。

結 論

近赤外分光法を利用した心筋 So_2 、Hb+Mbの連続測定により虚血再灌流時の心筋酸素代謝におけるTWBCの有効性を検討し、さらに心筋温、心機能、血清トロポニンT値、心筋ヌクレオチド含量を測定することによりTWBCの至適灌流法を検討し、次の結果を得た。

1. 近赤外分光法を利用した心筋 So_2 、Hb+Mbの測定は、虚血再灌流時の心筋酸素代謝、心筋内血液量を鋭敏に反映した。TWBC灌流は心筋 So_2 、Hb+Mbを速やかに上昇させ、2.5分以上の灌流で60分の低温虚血による心筋酸素代謝傷害を回復させ、再灌流不整脈の発生を防止した。
2. 心筋温の測定では、A、B群に比し、TWBC灌流時間の長いC、D群が再灌流時の心筋温の回復に優れていた。
3. 心機能の測定では、体外循環後、4群ともに収縮期血圧、心拍出量係数、左室仕事量係数の低下を認めたが、低下率はC、D群で小さい傾向にあり、最大圧力発生速度はA、B群で低下したが、C、D群では低下しなかった。体外循環離脱時間はC、D群で有意に短かった。
4. 血清トロポニンTの測定では、体外循環後4群とも上昇したが、C、D群はA、B群に比べ有意に低値で、心筋傷害が少なかった。
5. 心筋内ヌクレオチド含量では、ATP含量はA群で再灌流30分後に虚血前値に比べ65%まで有意に低下したが、C群では虚血再灌流にわたり有意な低下は示さなかった。またADP、AMP含量はA、C群とも虚血再灌流前後で有意な変化を認めなかった。

以上の研究結果から、近赤外分光法を利用した心筋モニタリングは虚血再灌流時の心筋酸素代謝を鋭敏に反映し有用であった。またTWBCは虚血による心筋酸素代謝傷害を速やかに改善させ、再灌流傷害を軽減し、良好な心機能回復を促した。TWBCの最良の効果を得るためには、心筋酸素代謝および心筋温を回復しうるまでのTWBC灌流時間が必要であると結論された。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜りました渡辺洋宇教授に深甚なる謝意を捧げます。また直接御指導を賜りました川筋道雄助教授、血液生化学検査に関し御助言、御指導を賜りました中央検査部橋本啄磨教授に深く感謝いたします。最後に本研究の遂行に御協力いただいた金沢大学第一外科学教室員各位に厚くお礼を申し上げます。

文 献

- 1) Melrose DG, Dreyer B, Bentall HH, Baker JBE. Elective cardiac arrest. *Lancet* 2:21-22, 1955
- 2) Reidemeister JC, Heberer G, Bretschneider HJ. Induced cardiac arrest by sodium and calcium depletion and application of procaine. *Int Surg* 149:200-206, 1967
- 3) Kirsch U, Rodewald G, Kalmar P. Induced ischemic arrest. *J Thorac Cardiovasc Surg* 63:121-130, 1972
- 4) Hearse DJ, Stewart DA, Bainbridge MV. Cellular protection during myocardial ischemia. *Circulation* 54:193-202, 1976
- 5) Buckberg GD. A proposed "solution" to the cardioplegic controversy. *J Thorac Cardiovasc Surg* 77:803-815, 1979
- 6) Lichtenstein SV, Ashe KA, Dalati HE, Cusimano RJ, Panos A, Slutsky AS. Warm heart surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg* 101:269-274, 1991
- 7) Landymore RW, Marble AE, Fris J. Effect of intermittent delivery of warm blood cardioplegia during coronary revascularization. *Ann Thorac Surg* 57:1267-1272, 1994
- 8) Pelletier LC, Carrier M, Leclerc Y, Cartier R, Wesolowska E, Solymoss BC. Intermittent antegrade warm versus cold blood cardioplegia: A prospective, randomized study. *Ann Thorac Surg* 58:41-49, 1994
- 9) Follette DM, Steed DL, Foglia R, Fey KH, Buckberg GD. Reduction of postischemic damage by maintaining arrest during initial reperfusion. *Surg Forum* 28:281-283, 1977
- 10) Lazar HL, Buckberg GD, Manganaro AJ, Becker H. Myocardial energy replenishment and reversal of ischemic damage by substrate enhancement of secondary blood cardioplegia with amino acids during reperfusion. *J Thorac Cardiovasc Surg* 80:350-359, 1980
- 11) 樋上哲哉, 小川恭一, 麻田達郎, 向原伸彦, 大保英文. Terminal warm blood cardioplegia の再灌流障害軽減効果に関する臨床的検討. *日胸外会誌* 43:325-330, 1995
- 12) Teoh KH, Christakis GT, Weisel RD, Fremes SE, Mickle DAG, Romaschin AD, Harding RS, Ivanov J, Madonik MM, Ross IM, McLaughlin PR, Baird RJ. Accelerated myocardial metabolic recovery with terminal blood cardioplegia. *J Thorac Cardiovasc Surg* 91:888-895, 1986
- 13) 酒井秋男, 斉藤建夫, 東 弘三, 柳平坦徳, 浅野功治. 組織酸素飽和度 (StO₂) およびヘモグロビン量 (Hb vol) 測定装置の開発. *医科機械学* 64:8-13, 1994
- 14) Follette DM, Mulder DG, Maloney JV, Buckberg GD. Advantages of blood cardioplegia over continuous coronary perfusion or intermittent ischemia: experimental and clinical study. *J Thorac Cardiovasc Surg* 76:604-619, 1978
- 15) Steenbergen C, Murphy E, Levy L, London RE. Elevation in cytosolic free calcium concentration early in myocardial ischemia in perfused rat heart. *Circ Res* 60:700-707, 1987
- 16) McCord JM. Oxygen -derived free radicals in postischemic tissue injury. *New Engl J Med* 312:159-163, 1985
- 17) Werns SW, Shea MJ, Lucchesi BR. Free radicals and myocardial injury. Pharmacologic implications. *Circulation* 74:1-5, 1986
- 18) Buckberg GD, Brazier JR, Nelson RI, Goldstein SM, McConnel DH, Cooper N. Studies of the effects of hypothermia on regional myocardial blood flow and metabolism during cardiopulmonary bypass. I. The adequately perfused beating, fibrillating and arrested heart. *J Thorac Cardiovasc Surg* 73:87-94, 1977
- 19) Lazar HL, Buckberg GD, Manganaro AJ, Foglia MD, Becker H, Mulder DG, Maloney JV. Reversal of ischemic damage with secondary blood cardioplegia. *J Thorac Cardiovasc Surg* 78:688-697, 1979
- 20) Yau TM, Weisel RD, Mickle AG, Komeda M, Ivanov J, Mohabeer MK, Tunitati LC. Alternative techniques of cardioplegia. *Circulation* 86 (suppl.II):II377-II384, 1992
- 21) Jobis FF. Non-invasive infrared monitoring of cerebral and myocardial oxygen sufficiency and circulatory parameters. *Science* 198:1264-1266, 1977
- 22) 国原 孝, 明神一宏, 俣野 順, 田村正秀. 近赤外分光法を用いた体外循環時脳酸素代謝測定法の検討. *日胸外会誌* 43:1107-1114, 1995
- 23) Vaughan DL, Wickramasinghe YABD, Russell GI, Thorniley MS, Houston RF, Ruban E, Rolfe P. Near infrared spectroscopy: Blood and tissue oxygenation in renal ischemic-reperfusion injury in rats. *Int J Angiol* 4: 25-30, 1995
- 24) Parsons WJ, Rembert JC, Bauman RP, Duhaylongsod FG, Greenfield Jr JC, Piantadosi CA. Myocardial oxygenation in dogs during partial and complete artery occlusion. *Circ Res* 73:458-464, 1993
- 25) 安田 保. 開心術における間欠的常温血性心筋保護法の基礎的研究. *十全医会誌* 105:2-16, 1996
- 26) Forman MB, Puett DW, Virmani R. Endothelial and myocardial injury during ischemia and reperfusion: Pathogenesis and therapeutic implications. *J Am Coll Cardiol* 13:450-459, 1989
- 27) Digerness SD, Kilklin JW, Naftel DC, Blackstone EH, Kilklin JK, Samuelson PN. Coronary and systemic vascular resistance during reperfusion after global myocardial ischemia. *Ann Thorac Surg* 46:447-454, 1988
- 28) Nicols WM, Mehta JL, Donnelly WH, Lawson D, Thompson L, Riet MT. Reduction in coronary vasodilator reserve following coronary occlusion and reperfusion in anesthetized dog: Role of endothelium-derived relaxing factor, myocardial neutrophil infiltration and prostaglandins. *J Mol Cell Cardiol* 20:943-954, 1988
- 29) Tian GH, Mainwood GW, Biro GP, Smith KE. The effect of high buffer cardioplegia and secondary cardioplegia on cardiac preservation post ischemic functional recovery: a ³¹P NMR and functional study in Langendorff perfused pig hearts. *Can J Physiol Pharmacol* 69:1760-1768, 1991
- 30) Irtun O, Sorlie DG. Delivery pressure of the cardioplegic

solution influences myocardial protection. *Eur J Cardio-thorac Surg* 9:139-142, 1995

31) McConnell DH, Brazier JR, Cooper N, Buckberg GD. Studies of the effects of hypothermia on regional myocardial blood flow and metabolism during cardiopulmonary bypass. II. Ischemia during moderate hypothermia in continually perfused beating hearts. *J Thorac Cardiovasc Surg* 73:95-101, 1977

32) Allen BS, Okamoto F, Buckberg GD, Leaf J, Bugyi H. Studies of controlled reperfusion after ischemia: VII Effects of "duration" of reperfusion administration versus reperfusion "dose" on regional functional biochemical, and histochemical recovery. *J Thorac Cardiovasc Surg* 72:594-604, 1986

33) Buckberg GD. Myocardial temperature management during aortic clamping for cardiac surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg* 102:895-903, 1991

34) Murashita T, Hearse DJ. Temperature-response studies of the detrimental effects of multidose versus single-dose cardioplegic solution in the rabbit heart. *J Thorac Cardiovasc Surg* 102:673-683, 1991

35) Haddy FJ. Potassium effects on contraction in aretrial smooth muscle mediated by Na^+ , K^+ -ATPase. *Fed Proc* 42:239-245, 1983

36) Christakis GT, Koch JP, Deemar KA, Fremes SE, Sinclair L, Chen E, Salerno TA, Goldman BS, Lichtenstein SV. A randomized study of the systemic effects of warm heart surgery. *Ann Thorac Surg* 54:449-459, 1992

37) Katus HA, Remppis A, Neumann FJ. Diagnostic efficiency of Troponin T measurements in acute myocardial infarction. *Circulation* 83:902-912, 1991

38) Anderson JR, Hossein-Nia M, Kallis P, Pye M, Holt DW, Murday AJ, Treasure T. Comparison of two strategies for myocardial management during coronary artery operations. *Ann Thorac Surg* 58:768-773, 1994

39) Wendel HP, Heller W, Michel J, Mayer G, Ochsenfahrt C, Graeter U, Schulze J, Hoffmeister H-M, Hoffmeister H-E. Lower cardiac troponin T levels in patients undergoing cardiopulmonary bypass and receiving high-dose aprotinin therapy indicate reduction of perioperative myocardial damage. *J Thorac Cardiovasc Surg* 109:1164-1172, 1995

40) Nozawa T, Yasumura Y, Futaki S, Tanaka N, Suga H. No significant increase in O_2 consumption of KCl-arrested dog heart with filling and dobutamine. *Am J Physiol* 255:H807-H812, 1988

41) Yau TM, Weisel RD, Mickle DAG, Ivanov J, Mohabeer MK, Tunitati LC, Carson S, Lichtenstein SV. Optimal delivery of blood cardioplegia. *Circulation* 84 (suppl. III): III 380-III 388, 1991

42) Engelman RM, Rousou JH, Longo F, Auvil J, Vertess RA. The time course of myocardial high energy phosphate degradation during potassium cardioplegic arrest. *Surgery* 86:138-147, 1979

43) Rosenfeldt FL, Hearse DJ, Cankovic-Darracott S, Braimbridge MV. The additive protective effects of hypothermia and chemical cardioplegia during ischemic cardiac arrest in the dog. *J Thorac Cardiovasc Surg* 79:29-38, 1980

Fundamental Study of Myocardial Protection with Terminal Warm Blood Cardioplegia Tomita Shigeyuki, Department of Surgery (I), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. *Juzen Med Soc.*, **106**, 116—127 (1997)

Key words myocardial protection, reperfusion injury, terminal warm blood cardioplegia, myocardial oxygen metabolism, near-infrared spectroscopy

Abstract

Terminal warm blood cardioplegia (TWBC) facilitates early myocardial metabolic restoration and minimizes reperfusion injury after ischemia. This study investigated myocardial oxygen metabolism during reperfusion with TWBC as well as the optimal method of perfusion with TWBC in relation to myocardial temperature, cardiac function, serum troponin-T and myocardial nucleotides. Under cardiopulmonary bypass (CPB), 24 dogs underwent a 60-minute period of hypothermic ischemic arrest with cold crystalloid cardioplegia. The dogs were divided into 4 groups; group A (n=6) received normal blood reperfusion, group B (n=6) received TWBC (15 ml/kg) at 80 mmHg for 1 minute, group C (n=6) received TWBC (15 ml/kg) at 60 mmHg for 2.5 minutes, and group D (n=6) received TWBC (30 ml/kg) at 60 mmHg for 5 minutes. During ischemic arrest and reperfusion, myocardial tissue oxygen saturation (So_2) and the hemoglobin plus myoglobin concentration (Hb+Mb) were measured by near-infrared spectroscopy. During ischemic arrest, myocardial So_2 and Hb+Mb were kept at $56 \pm 4\%$ and $325 \pm 45 \text{ mm} \cdot \text{g/l}$, respectively. In group A, receiving normal blood reperfusion, So_2 increased slowly to $79 \pm 4\%$ and then decreased gradually below 75%, resulting in ventricular fibrillation (VF) in all 6 dogs. In group B, So_2 was maintained at $86 \pm 5\%$ during TWBC perfusion, but it decreased gradually after aortic declamping and VF occurred in 4 dogs. In groups C and D, So_2 was maintained at $82 \pm 4\%$ during TWBC perfusion and also after aortic declamping. Myocardial temperature was kept around 15°C during ischemic arrest and was recovered more rapidly after reperfusion in groups C and D. Cardiac functions evaluated by systolic blood pressure, cardiac index and left ventricular stroke work index were reduced after CPB in

all 4 groups. The rate of reduction in these parameters was smaller in groups C and D than in group A. The maximal rate of contraction and relaxation of myocardium ($\pm dp/dt \max$) was reduced in groups A and B after CPB, but not in groups C and D. After CPB, serum troponin-T levels were significantly lower in groups C and D than in groups A and B. Myocardial nucleotides did not show any significant changes during ischemia and reperfusion, except for a decrease in ATP in group A 30 min after aortic declamping. It was concluded that TWBC accelerated recovery of myocardial oxygen metabolism and myocardial temperature, minimized reperfusion injury and inhibited reperfusion arrhythmia. After a 60-minute period of hypothermic ischemic arrest, TWBC perfusion for over 2.5 minutes is necessary.