

<原 著>

未熟心筋に対する溶血の影響 非虚血時と虚血再灌流時

(平成10年6月22日受付)

(平成11年2月3日受理)

東京女子医科大学附属日本心臓血圧研究所循環器小児外科

常 徳華 青木 満 大野 英昭 根本 慎太郎
坂本 貴彦 星野 修一 高梨 吉則 今井 康晴

key words : ischemia, reperfusion, hemolysis, cardiac function, neonate

要 旨

目的：人工心肺の溶血による腎障害は広く知られているが、心筋特に未熟心筋に及ぼす影響の検討はいまだされていない。遊離ヘモグロビン中の鉄イオンは活性酸素の産生を触媒、促進し、特に虚血再灌流障害を増悪する危険性がある。今回我々は、この問題に対して溶血が心機能に及ぼす影響を非虚血時及び虚血再灌流時において家兎未熟心を用い実験的に検討した。

方法：生後8~10日家兎摘出心 Langendorf 灌流モデル (Krebs-Henseleit 溶液灌流) を用い、miller カテーテル組み込みバルーンを左室内に挿入し容積を変化させ非虚血 (baseline 15分, 30分後) 及び St. Thomas 心筋保護液による 180分の虚血前後 (再灌流 15分, 30分後) の心機能 (DP: LV developed pressure, dp/dt, -dp/dt, EDP) を測定し、後値の前値に対する回復率を算出した。それを K 群 (非虚血, 溶血 (-), n=9), H 群 (非虚血, baseline 測定後溶血による free Hb (1 mg/dL) を添加, n=8), K-I 群 (虚血, 溶血 (-), n=10), 及び H-I 群 (虚血, 再灌流時に free Hb 添加, n=7) で測定し、比較検討した。心臓より滴下する液を冠静脈還流液とし、溶存酸素、還流量より、心筋酸素消費量を求めた。有意差検定には unpaired t test を用い行った。統計数値は平均値±標準誤差で表した。検定は repeated measures ANOVA にて行い、 $p<0.05$ を有意とした。

結果：developed pressure の再灌流後 15分時の回復度 (%) は K 群 100.3 ± 5.4 , H 群 85.3 ± 6.9 , K-I 群 106.2 ± 6.1 , H-I 群 71.4 ± 6.2 , 30分時は K 群 98.8 ± 5.5 , H 群 79.7 ± 8.1 , K-I 群 104.5 ± 5.3 , H-I 群 60.9 ± 7.5 ($p<0.005$)。同様に dp/dt の最大値の再灌流後 15分時の回復度 (%) は K 群 99.7 ± 6.3 , H 群 75.1 ± 6.1 , K-I 群 109.9 ± 5.2 , H-I 群 66.5 ± 7.2 , 30分時は K 群 100.2 ± 6.3 , H 群 67.9 ± 7.4 , K-I 群 106.9 ± 5.0 , H-I 群 53.9 ± 8.0 ($p<0.001$) であった。V 10 での developed pressure の回復度 (%) は再灌流後 15分 で K 群 100.6 ± 7.5 , H 群 78.5 ± 7.6 , K-I 群 110.5 ± 10.9 , H-I 群 72.5 ± 5.3 , 30分値 は K 群 99.8 ± 6.7 , H 群 67.8 ± 7.4 , K-I 群 105.1 ± 10.4 , H-I 群 59.4 ± 8.2 ($p<0.005$)。拡張能を示す -dp/dt の回復 (%) は 15分値 K 群 99.4 ± 6.1 , H 群 76.0 ± 5.5 , K-I 群 98.4 ± 5.4 , H-I 群 65.7 ± 4.7 , 30分値 は K 群 95.3 ± 5.1 , H 群 66.4 ± 7.0 , K-I 群 93.8 ± 5.4 , H-I 群 61.0 ± 7.3 ($p<0.001$) であった。H 群は K 群に、H-I 群は K-I 群に比し、有意に低値であり特に H-I 群で著しく回復が不良であった。

結論：溶血は心筋能障害を招来し、特に虚血再灌流障害を増悪させた。よって、臨床では人工心肺による溶血予防、ハプトグロビン使用など積極的な対応が必要と考えられた。

はじめに

今日、体外循環は開心術の補助手段として安全に行われるようになったが、長時間の体外循環に伴う溶血に対する完全な予防は今なお困難である。体外循環中の溶血によって生じた血漿中の遊離ヘモグロビン (Hb) は、種々の術後合併症の原因と考えられている^{1,2)}。溶血による心筋、特に未熟心筋に及ぼす影響の検討は未だなされていない。溶血による腎機能障害の機序は、遊離ヘモグロビン中の鉄イオンが、触媒産生する、活性酸素によるものと考えられており⁴⁾⁻⁶⁾、腎障害と同様の機序で虚血再灌流後に溶血による心機能障害がおこる可能性が考えられる。そこで今回、我々は溶血が非虚血時及び虚血再灌流時において心機能に及ぼす影響を、家兔未熟心を用いて実験的に検討した。

対象および方法

実験モデル

実験動物は生後 6~7 日の家兔 (体重 70~90 g) 雌を使用した。麻酔は Pentobarbital (2 mg) を用い、0.1 cc のヘパリンと共に腹腔内に注入した。自発呼吸下、痛覚刺激に反応しなくなった時点で開胸して心臓を摘出し、4 の生理食塩水中に浸し心停止の後、Krebs-Henseleit 溶液を灌流液に用いた Langendorff 回路に装着した。開胸から灌流開始までの時間は 2 分以内で行った。灌流液は、冷温水槽を用い温度調節を行い、摘出心は冠動脈流量測定時以外は灌流液と同温度の生理食塩水に浸し、温度を一定に保った。Krebs-Henseleit 溶液の組成 NaCl, 118 mM; NaHCO₃, 25 mM; KH₂PO₄, 1.2 mM; KCL, 4 mM; MgSO₄, 1.2 mM; Glucose, 11.1 mM で、95% O₂, 5% CO₂ の混合ガスにて 37 で酸素化を行った。

データ測定

ラテックスにて作製したバルーンを左房より左室内に挿入し、バルーン内に蒸留水を注入することにより左室容量を変化させ、等容収縮中の左室内圧の変化をバルーン内圧の変化としてカテーテルチップトランスデューサー (Millar microtip catheter MPC-500, Century Medical Inc.)にて測定した。測定には日本光電社製の AP-630 G 血圧アンプと 601 G 微分アンプを使用した。左室収縮能として左室発生圧 (developed pressure, DP) と収縮期心室内圧変化率 (dp/dt) のそれぞれ最大値 (Max) および虚血前ベースラインで EDP が 10 mmHg となるときの心室内バルーン容量 (V 10) での値を、拡張能として拡張期心室内圧変化率 (dp /dt), EDP が 10 mmHg となるときの心室内バルーン

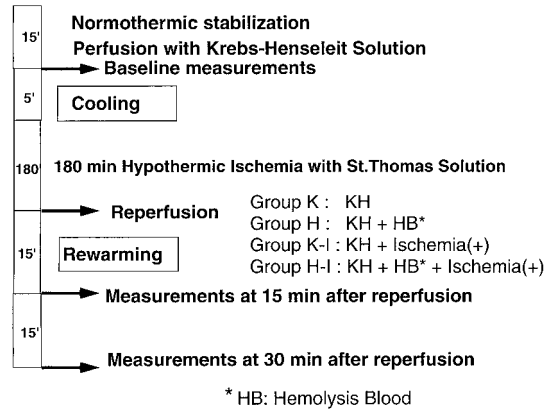


図 1 実験プロトコール

容量 V 10 を測定した 心臓より滴下する液を冠静脈還流液とし、冠血流量 (CBF), 動静脈溶存酸素をもとに下記の式に従って心筋酸素消費量 (MVO₂) を求めた¹³⁾。心筋重量は実験終了後、心臓を右室、心室中隔、左室自由壁に分割し Sartorius 社製電子天秤 A 120 S を用い計測した。

$$MVO_2 (\text{ml}/\text{min}/\text{g}) = (\text{冠動脈酸素含量} - \text{冠静脈酸素含量}) \times \text{CBF} / \text{心筋湿重量} (\text{g})$$

$$\text{酸素含量} (\text{ml}/\text{dl}) = 1.39 \times \text{Hemoglobin 濃度} (\text{mg}/\text{dl}) \times (\text{酸素飽和度} (\%) / 100) + 0.0031 \times \text{PO}_2 (\text{mmHg})$$

なお、ペーシングによる心拍数のコントロールは行わなかった。

実験プロトコール (図 1)

新生児家兔心を Langendorff 回路は装着、左室内バルーン挿入後 37 にて約 15 分間灌流し安定状態としてからベースラインの測定を行った (表 1)。

34 匹の新生児家兔心を対象に以下 4 群に分け実験を行った。非虚血、溶血 (-) の K 群 (N=9) では、37 の Krebs-Henseleit 溶液にて 15 分灌流を続け再度心機能等の測定を行った。さらに 15 分間灌流を続け、3 度めの測定を行った。非虚血、溶血 (+) の H 群 (N=8) では、ベースライン測定後溶血による遊離ヘモグロビン (1 mg/dl) を添加した Krebs-Henseleit 溶液にて 15 分灌流を続け、再度心機能等の測定を行った。さらに 15 分間灌流を続け、3 度めの測定を行った。虚血再灌流を行った K-I 群 (n=10) では、ベースライン測定後、灌流液を 10 分間で 20 まで冷却したのち灌流を停止し、St. Thomas 液を初回 3 ml、以後 30 分毎に 1.5 ml を追加投与し 3 時間虚血とした。虚血中は心臓を生理食塩水に浸し、20 に維持した。3 時間の虚

表1 ベースラインの測定・平均値±標準誤差

	group K	group H	group K-I	group H-I
Max DP (mmHg)	99.5 ± 3.8	92.6 ± 5.5	105.3 ± 3.93	66.1 ± 4.9
Max dP/dt (dyn·cm/sec)	99.9 ± 4.3	83.8 ± 6.9	108.4 ± 3.52	60.2 ± 5.4
Max-dP/dt (dyn·cm/sec)	97.4 ± 3.9	83.5 ± 6.0	96.1 ± 3.74	63.3 ± 4.2
DP at V10 (mmHg)	100.2 ± 4.9	83.0 ± 7.4	107.8 ± 7.34	65.9 ± 5.0
dP/dt at V10 (dyn·cm/sec)	101.2 ± 5.1	74.9 ± 8.18	108.4 ± 7.16	60.9 ± 5.5
dP/dt at V10 (dyn·cm/sec)	98.1 ± 5.3	74.9 ± 7.1	92.3 ± 6.32	64.9 ± 4.4
Coronary flow (ml/min/g)	77.6 ± 5.9	82.9 ± 10.58	88.0 ± 4.9	53.6 ± 6.5
O2 consumption (ml/min/g)	83.9 ± 10.25	91.5 ± 16.02	79.0 ± 8.4	60.5 ± 9.6
Heart weight (g)	0.38 ± 0.03	0.38 ± 0.03	0.38 ± 0.03	0.38 ± 0.03
Heart rate (min)	239 ± 11	223 ± 6	232 ± 8	240 ± 1

Max: 左室収縮機能の指標として左室発生圧 (developed pressure, DP) と収縮期心室内圧変化率 (dp/dt) それぞれの最大値。

DP: 左室発生圧, V10: 拡張末期圧 (end-diastolic pressure) が 10mmHg となるとき心室内バルーン容量, dp/dt: 収縮期左心室内圧変化率, dP/dt: 拡張期左心室内圧変化率。

血後, 室温の灌流液で再灌流を行い 15 分間で 37 まで復温し, 再度心機能等の測定を行った。さらに 15 分間灌流を続け, 再灌流後 2 度めの測定 (再灌流 30 分後) を行った。虚血再灌流時遊離ヘモグロビンを添加した H-I 群 (N=7) では, K-I 群と同様に虚血とし, 再灌流時に溶血による遊離ヘモグロビン (1 mg/dl) を添加した Krebs-Henseleit 溶液にて灌流し 15 分間で 37 まで復温し, 再度心機能等の測定を行った。さらに 15 分間灌流を続け, 再灌流後の 2 度めの測定 (再灌流 30 分後) を行った。

結果はすべて虚血前常温時の測定値をベースラインとして, それに対する回復率 (%Recovery) で示した。統計数値は平均値±標準誤差で表した。検定は repeated measures ANOVA, Student-Nueman-Keuls test にて行い, $p < 0.05$ を有意とした。

結 果

1. 左心機能の変化

developed pressure の灌流 (K および H 群) 再灌流後 (K-I および H-I 群) 15 分時の回復度 (%) は K 群 100.3 ± 5.4 , H 群 85.3 ± 6.9 , K-I 群 106.2 ± 6.1 , H-I 群 71.4 ± 6.2 , 30 分時では K 群 98.8 ± 5.5 , H 群 79.7 ± 8.1 , K-I 群 104.5 ± 5.3 , H-I 群 60.9 ± 7.5 ($p = 0.004$) であった。H 群は K 群に, H-I 群は K-I 群に比し, 有意に低値であり特に H-I 群で回復が著しく不良であり (図 2) 又 H-I 群は H 群に比し有意に低値であった ($p < 0.05$)。

同様に dp/dt の回復度 (%) は 15 分値で K 群 99.7 ± 6.3 , H 群 75.1 ± 6.1 , K-I 群 109.9 ± 5.2 , H-I 群 66.5 ± 7.2 , 30 分値では K 群 100.2 ± 6.3 , H 群 67.9 ± 7.4 , K-I 群

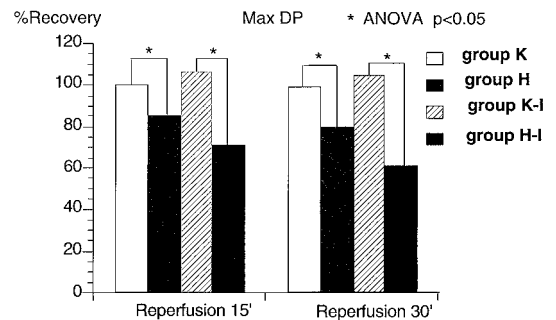


図2 左室収縮機能の回復度 (%) 1

Max: 左室収縮機能の指標として左室発生圧 (developed pressure, DP) と収縮期心室内圧変化率 (dp/dt) それぞれの最大値。

DP: 左室発生圧, Rep 15': 再灌流後 15 分時の回復 (%), Rep 30': 再灌流後 30 分時の回復 (%), KH: KH 群, H: H 群, K-I: K-I 群, H-I: H-I 群

106.9 ± 5.0 , H-I 群 53.9 ± 8.0 ($p < 0.001$) であった。dp/dt では H 群と H-I 群はそれぞれ K 群, K-I 群と比較し有意に低値をした。特に H-I 群は著明な低値を示したが (図 3), H-I 群と H 群の差は有意水準には達しなかった ($p = 0.13$)。

V10 での developed pressure の回復度 (%) は 15 分値で K 群 100.6 ± 7.5 , H 群 78.5 ± 7.6 , K-I 群 110.5 ± 10.9 , H-I 群 72.5 ± 5.3 , 30 分値は K 群 99.8 ± 6.7 , H 群 67.8 ± 7.4 , K-I 群 105.1 ± 10.4 , H-I 群 59.4 ± 8.2 ($p < 0.005$)。V10 での developed pressure では前述した 2 つのパラメータと同様に H 群と H-I 群はそれぞれ K

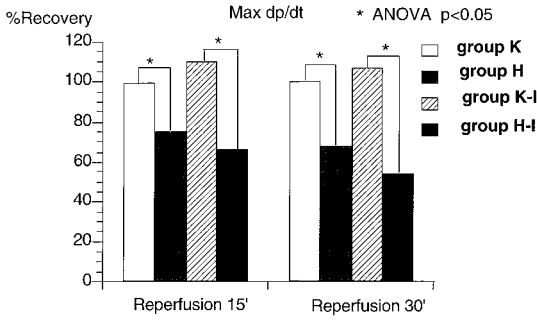


図3 左室収縮機能の回復度 (%) 2

Max : 左室収縮機能の指標として左室発生圧 (developed pressure, DP) と収縮期心室内圧変化率 (dp/dt) それぞれの最大値 . dp/dt : 収縮期左室内圧変化率, Rep 15' : 再灌流後 15 分時の回復 (%), Rep 30' : 再灌流後 30 分時の回復 (%), KH : KH 群, H : H 群, K-I : K-I 群, H-I : H-I 群

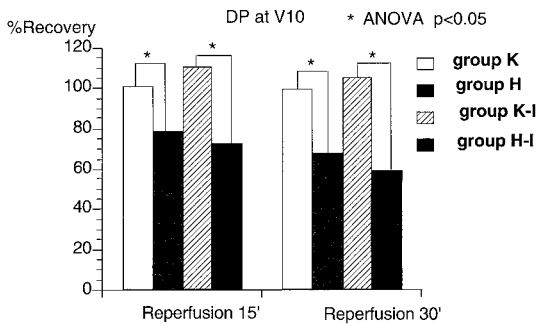


図4 左室収縮機能の回復度 (%) 3

Max : 左室収縮機能の指標として左室発生圧 (developed pressure, DP) と収縮期心室内圧変化率 (dp/dt) それぞれの最大値 .

DP : 左室発生圧, V 10 : 拡張末期圧 (end-diastolic pressure) が 10 mmHg となるときの心室内バルーン容量 . Rep 15' : 再灌流後 15 分時の回復 (%), Rep 30' : 再灌流後 30 分時の回復 (%), KH : KH 群, H : H 群, K-I : K-I 群, H-I : H-I 群

群, K-I 群と比較し有意に低値を示した(図 4) . 又 H-I 群と H 群では有意差を認めなかった (p=0.35) .

-dp/dt の回復 (%) は 15 分値が K 群 99.4 ± 6.1 , H 群 76.0 ± 5.5 , K-I 群 98.4 ± 5.4 , H-I 群 65.7 ± 4.7 , 30 分値は K 群 95.3 ± 5.1 , H 群 66.4 ± 7.0 , K-I 群 93.8 ± 5.4 , H-I 群 61.0 ± 7.3 (p<0.005) で, H 群, H-I 群はそれぞれ K 群, K-I 群と比較し有意に低値を示した(図 5) . 又 H-I 群と H 群では有意差を認めなかった (p=0.22) .

2. 冠血流量 (CBF) の変化

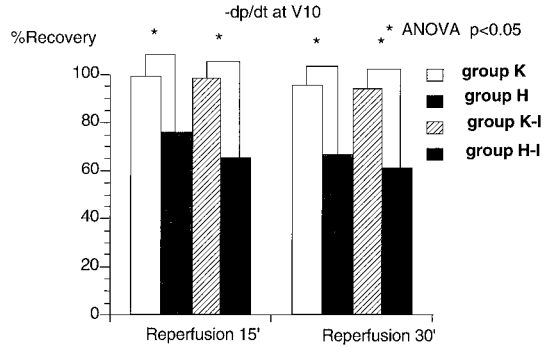


図5 Recovery of -dp/dt : 拡張期左室内圧変化率, Rep 15' : 再灌流後 15 分時の回復 (%), Rep 30' : 再灌流後 30 分時の回復 (%), KH : KH 群, H : H 群, K-I : K-I 群, H-I : H-I 群

再灌流後の冠動脈流量の回復度 (%) は, 灌流 (K および H 群) 再灌流後 (K-I および H-I 群) 15 分値が K 群 80.4 ± 8.4 , H 群 100.9 ± 29.4 , K-I 群 90.8 ± 7.4 , H-I 群 57.4 ± 10.2 , 30 分値は K 群 74.8 ± 8.7 , H 群 67.4 ± 10.1 , K-I 群 85.2 ± 6.9 , H-I 群 49.7 ± 8.6 (p=0.40) で有意差を認めなかった . 又 H-I 群と H 群とは有意差はなかった (p=0.11) .

3. 酸素消費量の変化

再灌流後の酸素消費量の回復度 (%) は, 灌流 (K および H 群) 再灌流後 (K-I および H-I 群) 15 分値が K 群 92.6 ± 15.1 , H 群 116.4 ± 47.9 , K-I 群 68.7 ± 13.7 , H-I 群 70.7 ± 16.6 , 30 分値は K 群 75.2 ± 14.1 , H 群 64.1 ± 8.7 , K-I 群 89.2 ± 9.4 , H-I 群 50.3 ± 9.5 (p=0.25) で有意差を認めなかった . 又 H-I 群と H 群とは有意差はなかった (p=0.32) .

4. 心拍数の変化

灌流 (K および H 群) 再灌流後 (K-I および H-I 群) 15 分時の心拍数 (/min) は K 群 236 ± 18.3 , H 群 179.3 ± 8.4 , K-I 群 219.6 ± 14.4 , H-I 群 180.0 ± 0 , 30 分時は K 群 236.0 ± 18.3 , H 群 169.3 ± 9.7 , K-I 群 196.0 ± 9.8 , H-I 群 160.0 ± 10.7 (p=0.007) であり, H 群と H-I 群はそれぞれ K 群, K-I 群と心拍数比較し有意に低値を示した . 又 H-I 群と H 群とは有意差はなかった (p=0.32) .

考 察

今回の結果から, 虚血再灌流有無にかかわらず, 溶血による遊離ヘモグロビンは未熟心筋に対して心機能障害を招来し, とくに虚血再灌流障害を著しく増悪させることが示唆された . 体外循環や虚血再灌流による心筋障害のメカニズムとしては, 白血球, 補体など血

液成分の活性化, 活性酸素の発生などによる細胞膜障害の関与が注目されている。体外循環中の溶血によって生じた遊離ヘモグロビン由来の鉄イオンは, 活性酸素の産生を触媒し, 細胞膜障害を増悪する可能性がある。今回の実験には, 非虚血群においても, 血液の酸素化, 回路接触などにより白血球等の活性化は生じており, 非虚血群でも溶血が心機能を悪化させた原因と考えられる。

体外循環により生じる溶血が開心術後の腎不全の重要な原因であることは広く知られている¹⁴⁾⁻¹⁶⁾。溶血により赤血球から大量に放出される遊離ヘモグロビンは通常はハプトグロビンと結合して肝臓で代謝されるが, ハプトグロビンの処理能力を越えてヘモグロビンが存在すると遊離ヘモグロビンとなって腎より排出される。そして腎系球体を通じた遊離ヘモグロビンは, 一部尿細管上皮に取り込まれ, ヘモグロビンとヘムに分解されたが, このヘムは尿細管上皮に対して毒性を示し急性尿細管壊死をもたらすことが知られている¹⁷⁾¹⁸⁾。またその詳しい機序としては, 遊離ヘモグロビン中の鉄イオンが触媒産生する活性酸素が大きな役割を担っていると考えられている⁴⁾⁻⁶⁾。腎はエネルギー消費が多く, 活性酸素生成量も多い。腎組織内の superoxide dismutase (SOD) 活性は, 皮質, 髄質外層帯, 近位尿細管で高く, SOD は活性酸素を H_2O_2 に変換するため, これらの組織では H_2O_2 が多く生成される。大量の溶血によるヘム鉄や遊離鉄が提供されると, 活性酸素は鉄イオンを触媒とする Haber-Weiss 反応を促進し, フリーラジカルが産生されることは容易に推測される⁵⁾。一方, 虚血再灌流後心機能障害においても, 再灌流時に発生する活性酸素由来のフリーラジカルが重要な役割を果たすことが示唆されている¹⁹⁾。これは, superoxide dismutase (SOD), catalase, peroxidase 等のラジカルスカベンジャーの添加により, 再灌流障害が軽減させるといふ多くの実験報告²⁰⁾⁻²³⁾と再灌流時に発生するフリーラジカルを電子スピン共鳴法 (ESR) や光化学的な手法によって直接観察する実験報告から知ることができる²⁴⁾⁻²⁶⁾。虚血再灌流に際して, 最初に生成される活性酸素はスーパーオキシドアニオン ($\cdot O_2^-$) である。この $\cdot O_2^-$ は鉄イオンを触媒とする Haber-Weiss 反応によって, より細胞毒性の強いヒドロキシルラジカル ($\cdot OH$) に変化する²⁷⁾²⁸⁾。したがって鉄イオンキレート剤 Deferoxamine を用いて, これらの反応を阻止することにより, 再灌流に伴う細胞障害が軽減されるという実験も報告さ

れている²⁹⁾。

临床上, これらの溶血による心機能・腎機能障害の予防法としては体外循環回路の改善³⁰⁾, 膜型肺の導入³¹⁾, および種々薬剤の開発などが行われてきている。1988年に Hashizume が初めてハプトグロビンが溶血性腎障害の防止に有効であることを報告した³²⁾。その作用機序として, 1) 溶血由来の free heme に結合することで Fe 錯体の conformation の変化を引き起こし, 活性酸素触媒作用を阻害する。2) free heme に結合し, 分子量が大きくなり内皮細胞との interaction が減ずる。3) ハプトグロビン自体がフリーラジカル (free radical scavenger) 作用を持つことが考えられており³³⁾⁻³⁵⁾, フリーラジカルの過剰産生を抑えられると推測され, 心機能障害の予防にも有効である可能性がある。鉄イオンは, スーパーオキシド ($\cdot O_2^-$) や過酸化水素 (H_2O_2) から Haber-Weiss 反応, Fenton 反応を介して, より反応性の強いヒドロキシルラジカル ($\cdot OH$) が産生される過程の触媒であることが知られている。ヒドロキシルラジカルは細胞膜の脂質過酸化を引き起こし, アルコキシルラジカル, ペルオキシラジカル等のフリーラジカルが, 生成されて, 細胞膜破壊に至る。この一連の反応にも鉄イオンが触媒として関与する³⁶⁾。このことから鉄イオンキレート剤 Deferoxamine はこれらの鉄依存性反応を阻害することで虚血再灌流に伴う細胞障害を軽減することが期待でき, 心筋保護作用の点で臨床的に有用である可能性があると思われる。

結 語

1. 溶血は未熟心筋に対して心機能障害を招来し, くに虚血再灌流障害を著しく増悪させた。

2. 臨床においては体外循環に伴う溶血の予防, 積極的な対応が重要であると考えられる。

なお, 本論文の要旨は, 第25回日本心臓血管外科学会 (1996年2月, 京都) にて発表した。本研究は, 文部省科学研究費 (課題 08672061) の助成を受け, 行われた。関係者各位に感謝いたします。

文 献

- 1) Nevil WE, Kantaxix A, Gravn T, Clowes GHA: Postperfusion pulmonary vasculitis, Its relationship to blood trauma. Arch Surg 1963; 81: 126
- 2) Ratliff NB, Young WG, Hackaal DB, Mikat E, Willson JW: Pulmonary injury secondary to extracorporeal circulation: Ultrastructural study. J Thrac Cardiovasc Surg 1973; 65: 425
- 3) 田口一美, 藤村顕治, 鈴木朗夫: 開心術における腎

- 不全の発生と予防的, 治療的考慮 長期体外循環の安全性の向上. 胸部外科 1966 ; 19 : 520
- 4) Southorn PA, Powis G : Free radicals in Medicine. I.chemical nature and biological reactions. Mayo Clin Proc 1988 ; 63 : 381
 - 5) Menasche P, Piwnica A : Free radicals and myocardial protection : A surgical viewpoint. Ann Thorac Surg 1989 ; 47 : 939
 - 6) Hammond B, Hess ML : The oxygen free radical system : Potential mediator of myocardial injury. J Am Coll Cardiol 1985 ; 6 : 215
 - 7) Willams RE, JL, Flaherty JT : Treatment with deferoxamine during ischemia improves functional and metabolic recovery and reduces reperfusion-induced oxygen radical generation in rabbit hearts. Circulation 1991 ; 83 : 1006
 - 8) Lesnefsky EJ, Repine JE, Horwitz LD : Deferoxamine pretreatment reduces canine infarct size and oxidative injury. J Pharmacol Exp Therap 1990 ; 253 : 1103
 - 9) Ambrosio G, Zweir JL, Jacobus WE, Weisfeldt ML, Flaherty JT : Improvement of postischemic myocardial function and metabolism induced by administration of deferoxmine at the time of reflow : The role of iron in the pathogenesis of reperfusion injury. Circulation 1987 ; 76 : 906
 - 10) Myers CL, Weiss SJ, Kirsh MM, Schlafer M : Involvement of hydrogen peroxide and hydroxyl radical in the " oxygen paradox " : Reduction of creatine kinase release by catalase, allopurinol or deferoxamine, but not by superoxide dismutase. J Mol cell Cardiol 1985 ; 17 : 675
 - 11) Ferreira R, Burgos M, Milei J, Llesuv S, Moltene L, Hourquebie H, Boveris A : Effect of supplementing cardioplegic solution with deferoxmine on reperfused human myocardium. J Thorac Cardiovasc Surg 1990 ; 100 : 708
 - 12) JC Russell, D Lu, J Lyengar, DK Das : In " Pathophysiology of Reperfusion Injury "(D.K. Das, ed), p. 471. CRC Press, Boca Raton, Florida, 1992
 - 13) Nomura F, Aoki M, Forbiss JM, Mayer JE Jr : Effects of hypercarbic acidotic reperfusion on recovery of myocardial after cardioplegic ischemia in neonatal lambs. Circulation 1994 ; 90(5 pt 2) : II 321 7
 - 14) Yeb TJ, Brachney EL, Hall DP, et al : Renal complications of open-heart surgery : predisposing factors, prevention, and management. J Thorac Cardiovasc Surg 1964 ; 47 : 79 97
 - 15) 白石義定, 村田真司, 西脇 登 : 体外循環における血中遊離ヘモグロビンの推移. 人工臓器 1983 ; 12 : 343 440
 - 16) 田中一彦, 吉矢生人, 島田康弘 : 開心術後急性腎不全の発症に関する定量的解析 第1報 術前および術中の各種項目による開心術後急性腎不全の発症予測. 日胸外会誌 1977 ; 25 : 1602 1609
 - 17) 大城 孟, 向井 清, 洪 性徳 : ハプトグロビン投与による溶血性腎障害の防止(その1). 最新医学 1975 ; 30 : 656 667
 - 18) 大城 孟, 本射滋己 : ハプトグロビン投与による溶血性腎障害の防止(その2). 最新医学 1975 ; 30 : 879 885
 - 19) Hess ML, Manson NH : Molecular oxygen : Friend or foe. The role of the oxygen free radical system in the calcium paradox, the oxygen paradox and ischemia/reperfusion injury. J Moll Cell Cardiol 1984 ; 16 : 969 985
 - 20) Menasche P, Grousset G, Gauduel, et al : A comparative study of free radical scavengers in cardioplegic solutions. J Thorac Cardiovasc Surg 1986 ; 92 : 264 271
 - 21) Schlafer M, Kane PF, Kirsh MM : Superoxide dismutase plus catalase enhances the efficacy of hypothermic cardioplegia to protect the globally ischemic, reperfused heart. J Thorac Cardiovasc Surg 1982 ; 83 : 830 839
 - 22) Werns SW, Shea MJ, Mitosos SE, et al : Reduction of the size of infarction by allopurinol in the ischemic-reperfused canine heart. Circulation 1986 ; 73 : 518 524
 - 23) Badylak SF, Simmonds A, Turek J, et al : Protection from reperfusion injury in the isolated rat heart by post ischemic deferoxamine and oxy-purinol administration. Cardiovasc Res 1987 ; 21 : 500 506
 - 24) Arroyo CM, Kramer JH, Dickens BF, et al : Identification of free radicals in myocardial ischemia/reperfusion by spin trapping with nitron DMPO. FEBS Lett 1987 ; 221 : 101 104
 - 25) Kuzuya T, Hosida S, Kim Y, et al : Detection of oxygen-derived free radical generation in the canine postischemic heart during late phase of reperfusion. Circ. Res 1990 ; 66 : 1160 1165
 - 26) Henry TD, Archer SL, Melson D, et al : Enhanced chemiluminescence as a measure on oxygen-derived free radical generation during ischemia and reperfusion. Circ Res 1990 ; 67 : 1453 1461
 - 27) Halliwell B : Superoxide dependent formation of hydroxyl radicals in the presence of iron chelates. FEBS Lett 1978 ; 92 : 321 326
 - 28) Halliwell B, Gutteridge JMC : Oxygen toxicity. Oxygen radicals, transitional metals and disease. Biochem J 1978 ; 219 : 1 14
 - 29) 三好博文 : 食道静脈瘤硬化療法におけるハプトグ

- ロビン投与の腎障害予防効果に関する研究 . 日消誌 1989 ; 86 : 280
- 30) 川畑安正, 平塚博男 : 人工心肺の吸引回路の一工夫 . 体外循環技術 1977 ; 2 : 192
- 31) Lade AJ, Edwards L, Block JH, Carlson RG, Subramanian VA, Asheim RS, Shiedt S, Fillmore S, Killip J, Lillehei CW : Clinical experience with emergence use of prolonged cardiopulmonary bypass. With membrane pump oxygenator. Ann Thorac Surg 1970 ; 10 : 409
- 32) Hashizume M, et al : Haptoglobin to protect against renal damage from ethanlamine oleate sclerosant. Lancet 1988 ; ii : 340
- 33) 長柄英男, 和田寿郎, 跡部正明, 平塚博男 : 体外循環におけるハプトグロビン投与 Hp-Hb 複合, 遊離 Hb, 遊離 Hb の分別定量 . 日胸外会誌 1979 ; 27 : 172
- 34) Menasche P, Pasquier C, Bellucci S, et al : Deferoxamine reduces neutrophil-mediated free radical production during cardiopulmonary bypass in man. J Thorac Cardiovasc Surg 1988 ; 96 : 582-589
- 35) Ferreira R, Burgos M, Milei J, et al : Effect of supplemented cardioplegic solution with deferoxamine on reperfused human myocardium. J Thorac Cardiovasc Surg 1990 ; 100 : 708-714
- 36) Badylak SF, Simmons A, Turek J, Babbs CF : Protection from reperfusion injury in the isolated rat heart by post-ischemic deferoxamine and oxypurinol administration. Cardiovasc Res 1987 ; 21 : 500

Hemolysis Impairs Cardiac Function During Cardiopulmonary bypass in Neonatal Rabbit Hearts

Chang Dehua, MD, Mitsuru Aoki, MD, Shintaro Nemoto, MD,
Shuichi Hoshino, MD and Yasuharu Imai, MD
Department of Pediatric Cardiovascular Surgery, The Heart Institute of Japan,
Tokyo Women's Medical College, Tokyo, Japan

Purpose : Hemolysis caused mechanically during cardiopulmonary bypass may impair cardiac function by producing superoxide anion catalyzed by iron in free hemoglobin. The purpose of the present study is to determine the effects of hemolysis on cardiac function and its recovery from ischemia in a neonatal rabbit model.

Methods : An isolated crystalloid-perfused newborn (birth to 7 days) rabbit heart Langendorff model was used. The hearts were divided into four groups : (1) perfused with Krebs-Henseleit bicarbonate buffer (KH) equilibrated with 95% O₂, 5% CO₂ (n=8, group K) , (2) perfused for 30 minutes after baseline measurements with KH containing 1 mg/ml of free hemoglobin (n=8, group H) , (3) reperfused with KH after 3 hours of cold global ischemia (20) with infusion of crystalloid cardioplegic solution (n=8, group KI) , and (4) reperfused with KH containing 1 mg/ml of free hemoglobin after 3 hours of cold global ischemia with infusion of crystalloid cardioplegic solution (n=8, group HI) . The maximum of the left ventricular developed pressure (maxDP) , of the maximal change of this pulse pressure with time (max dP/dt) and of the minus one (- max dP/dt) were recorded with use of a compliant fluid-filled balloon catheter that was inserted into the left ventricle through the left appendage. The values were measured again at 15 and 30 minutes after baseline measurements in group K and H, and at 15 and 30 minutes of post ischemic reperfusion in group KI and HI. The data were expressed as the percentages of recovery (%) . For statistical analysis, repeated measures ANOVA and t-test were used.

Results : Data are expressed mean \pm standard error. v 10 : balloon volume to produce LVEDP of 10 mmHg. The KH group and K-I group showed better functional recovery than H group and H-I group. maxDP : 98.8 ± 5.5 (K) vs. 79.7 ± 8.1 (H) vs. 104.5 ± 5.3 (KI) vs. 60.9 ± 7.5 (HI) ($p < 0.005$) , max dp/dt : 100.2 ± 6.3 (K) vs. 67.9 ± 7.4 (H) vs. 106.9 ± 5.0 (KI) vs. 53.9 ± 8.0 (HI) ($p < 0.001$) , DP at v 10 : 99.8 ± 6.7 vs. 67.8 ± 7.4 vs. 105.1 ± 10.4 vs. 59.4 ± 8.2 ($p < 0.005$) , -maxdp/dt : 95.3 ± 5.1 vs. 66.4 ± 7.0 vs. 93.8 ± 5.4 vs. 61.0 ± 7.3 ($p < 0.0005$) at 30 minutes of reperfusion.

Comments : These results suggest that hemolysis impairs cardiac function in neonatal hearts especially ischemia-reperfusion period, with possible vulnerability to the iron catalyzed superoxide anion. Prevention of hemolysis, use of haptoglobin, or use of iron-chelating agents may be useful to improve cardiac function after open heart surgery in neonates. Further studies are required to support these speculations.
