

白血球除去による保存心再灌流障害の 軽減効果について

岡山大学医学部第二外科学教室 (指導: 寺本 滋教授)

寺 岡 広 道

(平成4年12月24日受稿)

Key words : 再灌流障害, 好中球集積, 酸素フリーラジカル

緒 言

不足する移植臓器の確保と移植手術の安全性を高めるといふ2つの目的のために, 生体外での臓器保存法の確立は重要課題の1つである。臓器保存法の改良の試みは現在なお続いており, 全臓器保存法¹⁾や低温灌流保存^{2,3)}, 低温浸漬保存^{4,5)}などそれぞれすぐれた成績が期待される一方でその安全限界もしだいに明らかになってきている。他方, 近年, 保存臓器の viability の低下の一部は, reperfusion injury に起因すると考えられるようになり⁶⁾, すぐれた保存条件と再灌流障害の予防の両面を考慮するべきであると考えられるようになってきている。

虚血一再灌流障害のメカニズムは, 初期再灌流圧⁷⁾, 温度などの物理的な因子と多くの化学的因子⁸⁻¹⁵⁾によると考えられる (図1)。特に, 活性酸素による障害については, 心臓だけでなく, 腸管¹⁶⁻¹⁸⁾, 脳¹⁹⁾など他の臓器においても膨大な証拠が集積されている。その発生源としては, 多数の系が提唱されているが²¹⁾, 生体内で量的に重要なものとしては, xanthine oxydase 系とともに, 白血球の NADPH oxydase 系と考えられる。白血球の役割については, Romson ら²⁰⁾や Engler ら²¹⁾が心臓において, Grisham ら¹⁷⁾が腸管において指摘してきた。これらの報告は, 虚血後の再灌流中に組織中に好中球の集積 (neutrophil accumulation) が生じ, 組織障害の原因となるというものである。しかしながら, これらの報告は温阻血モデルであり, cold protection をほどこした保存臓器の再灌流中には異つ

た状況である可能性がある。以上のような観点から, 本実験では保存臓器再灌流中の白血球の役割りを明らかにするために, まず再灌流にともなう neutrophil accumulation について検討し, 次いで白血球除去再灌流液との比較によって, 白血球が血管抵抗を増大させ, 内皮細胞を傷害するのか, さらに, 心筋細胞にも障害をおよぼしているかどうかを検討した。

材 料 と 方 法

雑種成犬 (体重12.5kg-20.5kg) を用いた。

1. 保存前心機能の測定

ketamine hydrochloride (50mg/kg) 筋注, pentobarbital (5-8 mg/kg) 静注後, 気管内挿管し, 1回換気量20cc/kg, 12回/minの調節呼吸を行なった。両側開胸下に心尖部より左心室 (LV) に, 左肺静脈より左心房 (LA) に5Fカテーテルを挿入し, 左房圧 (LAP) 左室圧 (LVP) およびその一次微分値 (LV dp/dt) を測定記録した。

2. 心臓摘出およびその保存

奇静脈を結紮切離した。無名動脈を結紮しその中枢側より大動脈基部に向け, 心停止液注入用カテーテルを挿入固定した。ヘパリン300IU/kgを静注後, 左鎖骨下動脈を結紮した。上下大静脈を結紮して左心室が empty beating となった後, 左鎖骨下動脈末梢で大動脈を遮断した。

4℃生食による局所冷却を行ないつつ modified St Thomas 液 (表1, cardioplegic solution) にて心停止を得た。摘出した心は, 4℃ modified Collins 液 (表1, immersed solution) に浸漬

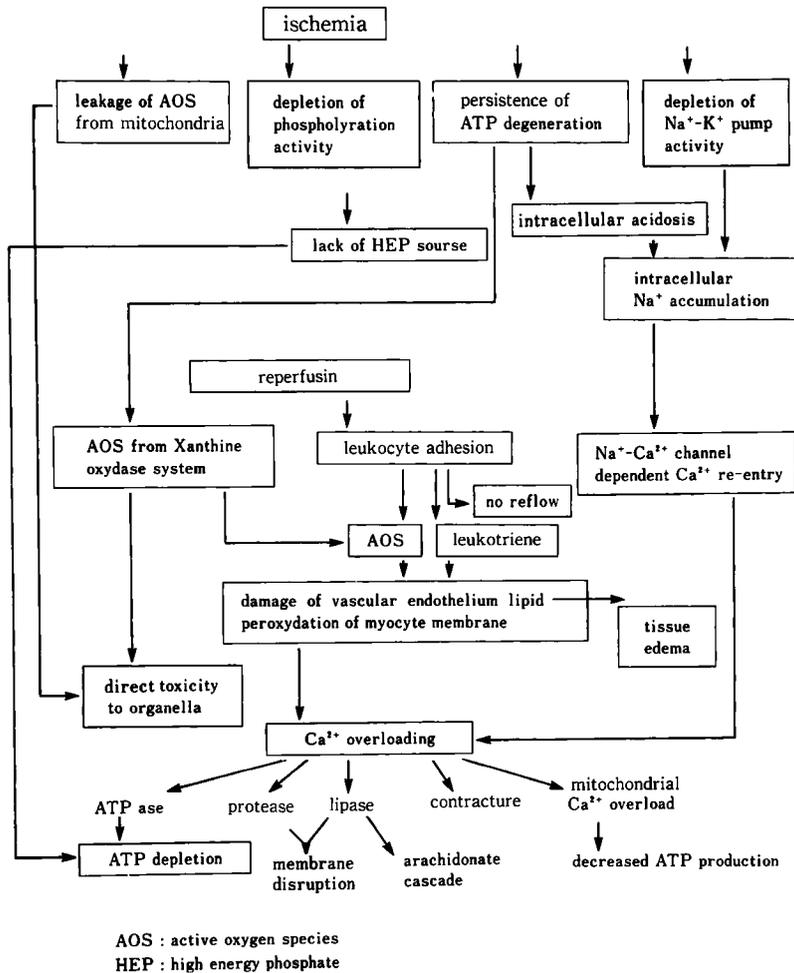


図1 Possible mechanism of ischemic-reperfusion injury

し、同時に心停止液注入用カテーテルから、同液を200ml注入し、6時間保存した。胸腔内動静脈を切開し、再灌流用に血液を採取した。

3. 初期再灌流液の作成

a) 白血球除去血液

Donor 犬より採取した血液を TERUMO 社製白血球除去フィルターにて2回濾過し、白血球を除去した。この白血球除去血液をリンゲル液にて希釈しヘマトクリット値を25~30%とした。

b) 白血球、血漿蛋白除去血液

aと同様にして白血球除去血液を作成した。この血液を3,000rpm 10分間遠沈分離し血漿と血球に分離した。血漿に1N HCl 1ml/100mlを

表1 心筋保護液、浸漬液の組成

| | Cardioplegic solution | Immersed solution |
|-------------------------------|-----------------------|-------------------|
| Na ⁺ mEq | 140 | 10 |
| K ⁺ | 20 | 110 |
| Mg ²⁺ | 32 | 8 |
| Ca ²⁺ | 1 | (-) |
| Cl ⁻ | 140 | 10 |
| HCO ₃ ⁻ | 3 | 10 |
| SO ₄ ²⁻ | 32 | 8 |
| glucose | 2 | 30 |
| osmolarity | 380 | 350 |

加え蛋白成分を凝固させた。再度3000rpm 10分間遠沈し、血漿成分を分離しこれを1N NaOH および、8.4% Na₂CO₃にてPH=7.4に滴定し

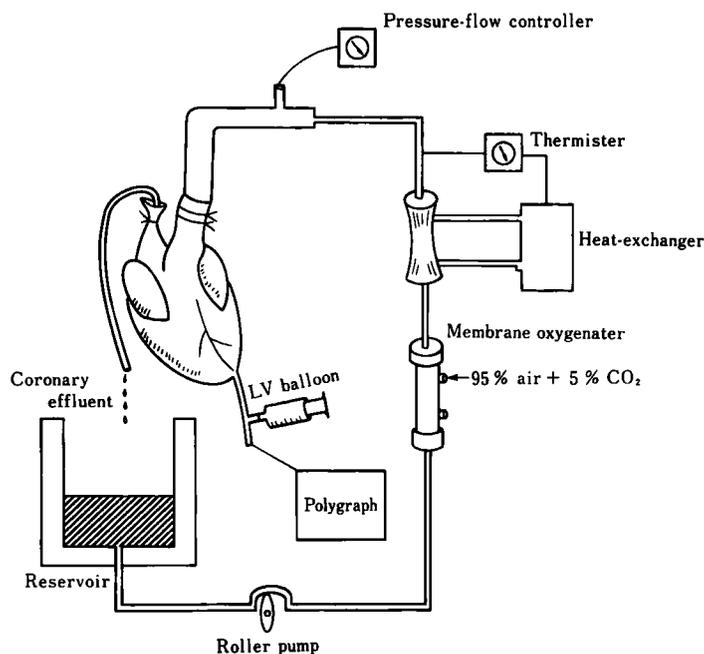


図2 Perfusion circuit for functional assessment

た。同液とリンゲル液にて血球成分を希釈し、ヘマトクリット値を25%~30%とした。さらにCa濃度を1mmol/lとなるようCaCl₂を加えた。

4. 再灌流

図2に示した回路を用い再灌流を行ない以後1時間 non-working beating を維持した。摘出心は、6時間保存後、4℃ St Thomas 液を冠動脈に注入し、浸漬液を洗い流した。次いで20℃生食内に40分浸漬した後 (Simulation of implantation) 回路に接続し、冠灌流を再開した。灌流液は95% air と5% CO₂で酸素化した。再灌流開始時の液温は28℃とし、初期灌流圧は20mmHg に設定した。1分ごとに灌流圧を20mmHg づつ上昇させ、3分後には80mmHg とし以後一定圧で灌流した。液温は灌流圧を一定とした後上昇させ37℃に維持した。

5. 実験群

初期再灌流液および全血への置換時期により、以下の諸群に分けた。

group I (n = 7) : control 群で全血による再灌流を行なった。

group IIa (n = 7) : 白血球除去血液による15分間の初期灌流を行なった後、回路内を全血に置換し、さらに45分間の灌流を行なった。

group IIb (n = 7) : 白血球除去血液による30分間の初期灌流後、全血による灌流を開始した。

group III (n = 7) : 白血球、蛋白除去血液による30分間の初期灌流後、全血による灌流を開始した。

6. 測定

a) 左心室機能回復率

心尖部より挿入した左室バルーンに生理食塩水を注入し、左室拡張末期圧を保存前測定値と同一値に設定して、LVP, LV dp/dt を測定記録した。

b) 白血球

全血による灌流開始直前、開始直後、開始後5分、15分、30分の各時点で回路内血液を採取し、白血球数および分画を測定した。

c) 冠血流量

肺動脈からの流出血液を1分間採取し、その実測値を冠血流量とした。

d) 心筋浮腫

再灌流直前の心筋重量を測定し、これを control 値とし、60分灌流後の心筋重量と比較し% control として算出した。

e) ミトコンドリア呼吸能

灌流終了後の心は、modified St Thomas 液で心停止を得、ice slush 内で冷却した。この心筋から Sohdarl ら²²⁾の方法で採取したミトコンドリア浮遊液を作成し、Chance ら²³⁾の白金電極法を用いて respiratory control index (RCI) を測定した。なお保存前値と保存中の RCI を測定するため5頭からの摘出心を実験心と同様に保存し、保存前、保存3時間後、6時間後の心筋のミトコンドリアについて RCI を測定した。

7. Data 表示および分析

Data は、mean±SD で表示した。白血球数については Wilcoxon test によって、他の Data は Student t test にて有意差検定を行ない、 $p < 0.05$ を有意差ありと判定した。

結 果

1. 白血球

Donor より採取した血液の白血球数は、2600~12700/mm³であった。白血球除去フィルターによる濾過を行なうと、白血球数は測定不能域に低下した。全血による心筋灌流を5分間行なうと、group I と group IIa では、回路内血液の白血球数は有意に減少した ($p < 0.01$) しかし group IIb, group III では有意の減少は認めなかった (Wilcoxon T test)。次いで回路全体からの白血球減少数を心組織への accumulation とすると、group I (mean=4.7±2.1×10⁶/100g wet wt) group IIa (3.6×10⁶/100g wet wt) で group 間に有意差を認めた ($p < 0.025$ Wilcoxon U test)。また、白血球分画に着目すると、好中球分画の減少は、I 群94.4±2.6% IIa 群87.7±3.6%で各群の灌流液中の I 群72.6±4.3% IIa 群74.2±3.8%と比較して好中球分画が有意に捕捉された。

2. 左室機能 (表2)

I~II 群とも、LVDP, max LV dp/dt 値は保存前値と比較して有意に低値であった。I 群と比較して LVDP 値は、III 群のみ有意にすぐ

表 2

| | LVDP | max LV dp/dt | CF |
|-------------------|-------------------------|--------------------------|-----------------------|
| group I (n = 7) | 74.2±2.8 | 54.3± 7.3 | 53.1±8.1 |
| group IIa (n = 7) | 73.9±7.1 | 62.6± 8.8 | 72.4±5.4 ^a |
| group IIb (n = 7) | 75.1±4.2 | 64.8±10.9 ^a | 72.5±5.2 ^a |
| group III (n = 7) | 82.0±4.3 ^{abc} | 76.3± 8.7 ^{abc} | 76.8±3.6 ^a |

values are mean ± SD

LVDP : % control

max LV dp/dt : % control

CF : coronary flow (ml/min/100g wet wt.)

a : $p < 0.05$ vs group I b : $p < 0.05$ vs group IIa

c : $p < 0.05$ vs group IIb

れた回復を示し、max LV dp/dt 値は、IIb 群、III 群がそれぞれ有意にすぐれていた。IIa 群と比較した場合、IIb 群では改善されなかったが III 群は有意にすぐれていた。また III 群は IIb 群と比較しても有意にすぐれていた。

3. 冠血流量 (表2)

I 群と比較して IIa, IIb, III 群はそれぞれ有意に大きな値を示した。しかしながら IIa, IIb, III 群間には有意差はなかった。

4. 心筋浮腫 (図3)

再灌流前心筋重量と比較して、各群とも有意に心筋重量は増大した。I 群と比較すると IIb 群、III 群がそれぞれの重量増加が抑制された。IIa 群と比較した場合、III 群のみ有意に重量増加が抑制された。

5. ミトコンドリア呼吸能 (図4)

保存中は、ミトコンドリア呼吸能は時間経過とともに低下したが再灌流により各群とも有意に回復した ($p < 0.001$)。しかしながら保存前値と比較すると、各群とも低値であった。I 群と比較した場合、IIa, IIb 群ともに有意に回復はよかった。また IIa 群と比較した場合、IIb 群、III 群は有意にすぐれていた。IIb 群と III 群の間には有意差はなかった。

考 察

心筋の虚血再灌流障害に対する白血球の役割りについての知見は、Romson ら²⁰⁾によってもたらされた。彼らは、90分間の冠動脈結紮後の再灌流中に流血中より白血球除去を行ない、梗塞巣の縮小に成功した。Engler ら²¹⁾は虚血再灌

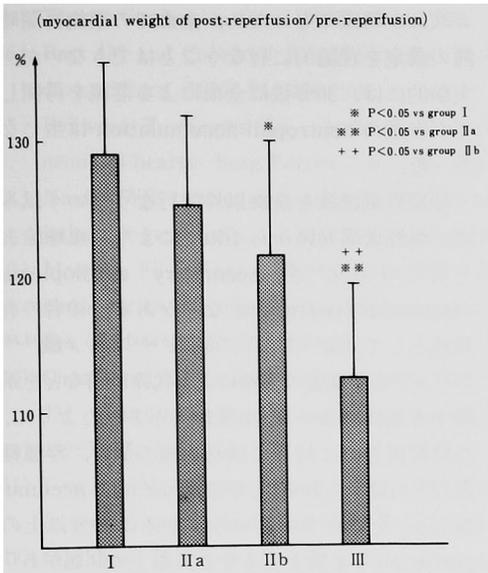


図3 心筋浮腫

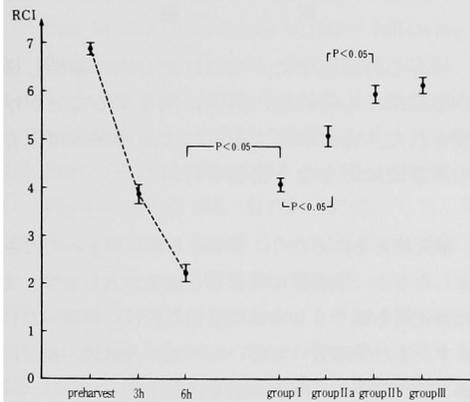


図4 ミトコンドリア呼吸機能

流後5分ですでに心内に多数の neutrophil accumulation が生じ、循環抵抗の増大や組織浮腫をもたらすことを示した。一方 Shlafer²⁴⁾Casale²⁵⁾は、血液成分を含まない灌流液中に投与した superoxide dismutase (SOD) と catalase が再灌流障害を軽減することを示し、また Grisham¹⁷⁾は、腸管虚血モデルで xanthine oxidase inhibitor である allopurinol もしくは SOD により、ischemia-reperfusion にもなう neutrophil accumulation が減少することを観察した。この事実は、再灌流にもなう neutrophil accumulation が再灌流障害の原因になっているのか、

単に他の原因による組織障害に対して反応性に生じる現象であるのか改めて不明なものとしたが、Hernandez¹⁸⁾は同一の系で好中球の血管内皮への粘着を抑制する monoclonal 抗体を投与することで、血管透過性の増大を抑制したと述べており、血管内皮の障害には、好中球由来の活性酸素種が重要な役割を持つことが示された。好中球は、種々の因子で respiratory burst と呼ばれる活性状態となり、NADPH oxidase 活性が上昇し、酸素消費量は50~100倍となり、その大部分は superoxide anion (O₂⁻) に変換される。もしこの周辺に Fe イオンが存在すれば hydroxy radical (HO[•]) が発生し (Haber-Weiss reaction) 種々の radical 反応が進行する。しかしその反応速度が大きいため、生体内では周辺の生体成分と容易に反応するため、発生部位から到達可能な距離は最大でも45nm程度と考えられる²⁶⁾。このため血管内に集積した好中球由来の superoxide とトランスフェリンなどの担鉄蛋白由来の Fe との反応で生じた HO[•] は容易に血管内皮を傷害するが、心筋細胞には到達しない。しかし内皮の透過性が上昇すれば血管内で発生した活性酸素種も血管外に到達できると考えられる。Burton¹⁵⁾は superoxide 発生系とトランスフェリンを含む灌流液で心筋灌流を行ない内皮細胞だけでなく心筋細胞の各小器官も傷害されることを形態的に示しており、本実験でも、ミトコンドリア機能面から、好中球由来の活性酸素種による心筋細胞の傷害が示唆された。

好中球はまた多くの lipoxigenase 代謝産物を産生分泌することが知られており²⁷⁾、これら一連の物質により血管透過性の亢進、細小静脈の収縮、血小板との相互作用²⁸⁻³⁰⁾により微小循環系を閉塞するなどして、冠血管抵抗を高めたり、極端な場合 no reflow phenomenon の原因ともなる。

再灌流後の心筋浮腫の発生は、compliance 低下の原因となり、同一前負荷に対する拡張末期容積を減少させる。本実験における IIb 群と III 群間での心機能の相違は、主にこの因子によると考えられる。長時間保存心再灌流時には、細胞性浮腫と間質性浮腫が混在して出現すると考

えられるが、もし colloid 成分の漏出が生じる程度の傷害が血管内皮面に発生していなければ再灌流液の colloid oncotic pressure が高いほど組織浮腫は軽減するはずである。Follette ら³¹⁾は、secondary blood cardioplegia に関する一連の実験の中で、初期再灌流液中に mannitol を加えた場合、心筋水分含量の増加を抑制しなかっただけでなく、かえって rebound 現象を認めたと述べている。また Hernandez ら¹⁸⁾は上述したように、好中球の粘着を抑制することで、血管透過性の増大を抑制したがこれを完全に予防できなかったと述べている。本実験でも colloid 成分を含まない III 群に比べ、これを含む I ~ II b 群が再灌流にともなう心筋重量の増大が有意に大きいことから、白血球除去血液による再灌流によっても、内皮傷害は完全に防止することはできないと考えられた。しかしながら、冠血流量の改善、ミトコンドリア機能の改善、心機能回復率の改善からみて、白血球、特に好中球が再灌流傷害の原因の1つであり、これを初期再灌流液から除去することで、保存心再灌流にともなう微小循環系および心筋への傷害を軽減しうると考えられた。

初期再灌流液を全血以外のものにした場合、いつ全血での灌流を再開するかは重要な問題である。Breda ら³²⁾は保存肺の再灌流モデルにおいて、初期再灌流液から好中球を除去したが、1時間以内に灌流液中に好中球を再添加すると、肺の組織傷害が再開したと述べている。虚血再灌流組織への neutrophil accumulation のメカ

ニズムが明確でないため、全血での灌流再開時間の設定を理論的に行なうことはできないが、実験的には、30分後に全血による灌流を再開しても有意の neutrophil accumulation は生じなかった。

初期再灌流液を全血以外で行なうという試みは、体外循環回路から filter により白血球除去を行なう方法³³⁾や、secondary cardioplegia (secondary perfusion) などがある。後者の有効性として、Ca²⁺イオンの制限^{31,34)}アミノ酸^{35,36)}プリン³⁷⁾など基質の補給による代謝改善などを示唆する証拠は多いが、本実験で示されたように、長時間保存心に対しては冠血流量の改善、浮腫軽減なども認められる。しかし neutrophil accumulation を防止するという点からは30分以上の perfusion を必要とするなど実用上の問題がありなお検討の余地が残されている。

結 語

保存心再灌流中に、白血球が心内に集積し微小循環系、心筋細胞の傷害に関与することが示唆された。白血球除去血液による再灌流は保存心再灌流にともなう傷害を軽減した。

稿を終えるにあたり、懇切なる御指導をいただきました寺本 滋教授に深甚なる謝意を表します。また御校閲を賜りました妹尾嘉昌助教授に深謝いたします。また御助力いただいた多胡 護講師、並びに第二外科諸学兄に感謝の意を表します。

文 献

- 1) Chien S, Todd EP, Diana JN and O'Connor WN: A simple technique for multiorgan preservation. *J Thorac Cardiovasc Surg* (1988) **95**, 55-61.
- 2) Thomas FT, Schatzki PF, Hudson BH and Wolf JS: Successful 24-hr ischemic cardiac preservation using a new hyperosmolar perfusate. *Surg Forum* (1975) **26**, 253-255.
- 3) Tago M, Subramanian R and Kaye MP: Light and electron microscopic evaluation of canine hearts orthotopically transplanted after 24 hours of extracorporeal preservation. *J Thorac Cardiovasc Surg* (1983) **86**, 912-919.
- 4) Reitz BA, Brody WR, Hickey PR and Michaelis LL: Protection of the heart for 24 hr' with intracellular (high K⁺) solution and hypothermia. *Surg Forum* (1974) **25**, 149-151.
- 5) Kohno H, Shiki K, Ueno Y and Tokunaga K: Cold storage of the rat heart for transplantation. *J*

- Thorac Cardiovasc Surg (1987) **93**, 86–94.
- 6) Burt JM and Copeland JG : Myocardial function after preservation for 24 hours. J Thorac Cardiovasc Surg (1986) **92**, 238–246.
 - 7) Fujiwara T, Kurtts TA, Anderson WD and Mayer JE Jr : High-pressure reperfusion injury in neonatal hearts. Surg Forum (1987) **38**, 231–233.
 - 8) Nayler WG, Panagiotopoulos S, Elz JS and Daly MJ : Calcium-mediated damage during post-ischaemic reperfusion. J Mol Cell Cardiol (1988) **20** (Supple. II), 41–54.
 - 9) Meerson FZ, Kagan VE, Kozlov YP, Belkina LM and Arkhipenko YV : The role of lipid peroxidation in pathogenesis of ischemic damage and the antioxidant protection of the heart. Basic Res Cardiol (1982) **77**, 465–485.
 - 10) Chambers DE, Parks DA, Patterson G, Roy R, McCord JM, Yoshida S, Parmley LF and Downey JM : Xanthine oxidase as a source of free radical damage in myocardial ischemia. J Mol Cell Cardiol (1985) **17**, 145–152.
 - 11) Downey JM, Hearse DJ and Yellon DM : The role of xanthine oxidase during myocardial ischemia in several species including man. J Mol Cell Cardiol (1988) **20** (Supple. II), 55–63.
 - 12) Marklund SL : Role of toxic effects of oxygen in reperfusion damage. J Mol Cell Cardiol (1988) **20** (Supple. II), 23–30.
 - 13) Vandeplassche G, Hermans C, Thoné F and Borgers M : Mitochondrial hydrogen peroxide generation by NADH-oxidase activity following regional myocardial ischemia in the dog. J Mol Cell Cardiol (1989) **21**, 383–392.
 - 14) Tada M, Kuzuya T, Hoshida S and Nishida M : Arachidonate metabolism in myocardial ischemia and reperfusion. J Mol Cell Cardiol (1988) **20** (Supple. II), 135–143.
 - 15) Burton KP, McCord JM and Ghai G : Myocardial alterations due to freeradical generation. Am J Physiol (1984) **246**, H776–H783.
 - 16) Granger DN, Rutili G and McCord JM : Superoxide radicals in feline intestinal ischemia. Gastroenterology (1981) **81**, 22–29.
 - 17) Grisham MB, Hernandez LA and Granger DN : Xanthine oxidase and neutrophil infiltration in intestinal ischemia. Am J Physiol (1986) **251**, G657–G674.
 - 18) Hernandez LA, Grisham MB, Twohig B, Arfors KE, Grisham MB, Twohig B, Arfors KE, Harlan JM and Granger DN : Role of neutrophils in ischemia-reperfusion-induced microvascular injury. Am J Physiol (1987) **253**, H699–H703.
 - 19) Kontos HA, Wei EP, Ellis EF, Dietrich WD and Povlishock JT : Prostaglandins in physiological and in certain pathological responses of the cerebral circulation. Fed Proc (1981) **46**, 2326–2330.
 - 20) Romson JL, Hook BG, Kunkel SL, Abrams GD, Schork MA and Lucchesi BR : Reduction of the extent of ischemic myocardial injury by neutrophil depletion in the dog. Circulation (1983) **67**, 1016–1023.
 - 21) Engler RL, Dahlgren MD, Peterson MA, Dobbs A and Schmid-Schönbein GW : Accumulation of polymorphonuclear leukocytes during 3-h experimental myocardial ischemia. Am J Physiol (1986) **251**, H93–H100.
 - 22) Sohdar LA, Johnson C, Blalock ZR and Schwartz A : The mitochondrion. Methods Pharmacol (1971) **1**, 247–286.
 - 23) Chance B and Williams GR : Respiratory enzymes in oxidative phosphorylation : 1. kinetics of oxygen utilization. J Biol Chem (1956) **217**, 383–393.

- 24) Shlafer M, Kane PF and 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.
- 25) Casale AS, Bulkley GB, Bulkley BH, Flaherty JT, Gott VL and Gardner TJ : Oxygen free-radical scavengers protect the arrested, globally ischemic heart upon reperfusion. *Surg Forum* (1983) **34**, 313—316.
- 26) Boag JW : Oxygen diffusion and oxygen depletion problems in radiobiology. *Curr Top Radiat Res Q* (1969) **5**, 141—195.
- 27) Ford-Hutchinson AW : Leucotrienes : their formation and role as inflammatory mediators. *Fed Proc* (1985) **44**, 25—36.
- 28) Mehta JL, Nichols WW and Mehta P : Neutrophils as potential participants in acute myocardial ischemia : Relevance to reperfusion. *J Am Coll Cardiol* (1988) **11**, 1309—1316.
- 29) Tzeng DY, Deuel TF, Huang JS, Senior RM, Boxer LA and Baehner RL : Platelet-derived growth factor promotes polymorphonuclear leucocyte activation. *Blood* (1984) **64**, 1123—1128.
- 30) Canoso RT, Rodvien R, Scoon K and Levine PH : Hydrogen peroxide and platelet function. *Blood* (1974) **43**, 645—656.
- 31) Follette DM, Fey K, Buckberg GD, Helly JJ Jr, Steed DL, Foglia RP and Maloney JV Jr : Reducing postischemic damage by temporary modification of reperfusate calcium, potassium, pH, and osmolarity. *J Thorac Cardiovasc Surg* (1981) **82**, 221—238.
- 32) Breda MA, Hall TS, Stuart RS, Baumgartner WA, Borkon AM, Brawn JD, Hutchins GM and Reitz BA : Twenty-four hour lung preservation by hypothermia and leucocyte depletion. *J Heart Transplant* (1985) **4**, 325—329.
- 33) Bando K, Pillai R, Cameron DE, Brawn JD, Winkelstein JA, Hutchins GM, Reitz BA and Baumgartner WA : Leukocyte depletion ameliorates free radical-mediated lung injury after cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* (1990) **99**, 873—877.
- 34) Menasche P, Grousset C, Boccard G and Piwnica A : Protective effect of an asanguineous reperfusion solution on myocardial performance following cardioplegic arrest. *Ann Thorac Surg* (1984) **37**, 222—228.
- 35) Rau EE, Shine KI, Gervais A, Douglas AM and Amos EC III : Enhanced mechanical recovery of anoxic and ischemic myocardium by amino acid perfusion. *Am J Physiol* (1979) **236**, H873—H879.
- 36) Lazar HL, Buckberg GD, Manganaro AM and 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* (1980) **80**, 350—359.
- 37) Ely SW, Mentzer RM, Lasley RD, Lee BK and Berne RM : Functional and metabolic evidence of enhanced myocardial tolerance to ischemia and reperfusion with adenosine. *J Thorac Cardiovasc Surg* (1985) **90**, 549—556.

**Leukocyte depletion reduced reperfusion
injury in hearts preserved
hypothermically for 6 hours**

Hiromichi TERAOKA

**Second Department of Surgery,
Okayama University Medical School,**

Okayama 700, Japan

(Director : Prof. S. Teramoto)

Recent studies suggest that circulating leukocytes trapped in the post ischemic-reperfused organ release active oxygen species and leukotrienes, and cause tissue damage.

Canine hearts statically preserved for six hours, were reperfused with whole blood (group I, n=7), with leukocyte depleted blood (group II, n=14), and with leukocyte and protein depleted blood (group III, n=7). After initial perfusion, whole blood perfusion was started at 15 minutes of post reperfusion (group IIa, n=7) and at 30 minutes of post reperfusion (group IIb, n=7 ; group III, n=7). Significant leukocytes sequestration was demonstrated only in group I and group IIa. Left ventricular function recovery, coronary flow and mitochondrial phospholyration activity were significantly better preserved in the groups reperfused with leukocyte depleted blood, especially group III. These data suggest that leukocyte depletion ameliorates reperfusion injury of preserved hearts.