

## 冠状動脈短時間反復結紮が虚血心筋に及ぼす効果に関する 実験的研究；急性期および慢性期における 高エネルギーリン酸化合物濃度に関する検討

野中晴彦 清見定道 平山陽示  
中川規夫 市来健生

東京医科大学内科学第二講座  
(指導：伊吹山千晴教授)

**【要旨】** 本研究では、preconditioning が、急性期と慢性期の虚血心筋に及ぼす影響を高エネルギーリン酸化合物 (HEP) から検討した。体重 8~15 kg の雑種成犬 48 頭を使用し、以下の 6 群に分類した。対照群として C 群 11 頭。preconditioning 操作として左冠状動脈回旋枝を 5 分間結紮 10 分間再灌流を 4 回反復した P 群 9 頭。同様の操作後 1 時間結紮した PL 群 7 頭。更にその後 7 日間再灌流した PLR 群 7 頭。先の操作なしに直ちに 1 時間結紮した L 群 6 頭。その後 7 日間再灌流した LR 群 8 頭である。これらの操作後、心臓を摘出し、虚血部心内・外膜側の ATP, ADP, AMP を測定した。さらに ATP + ADP + AMP の式より、total adenine nucleotides (TAN) を算出した。

P 群は C 群に比し、HEP は有意に低値を示したが、PL 群と L 群間に有意差は認めなかった。PLR 群は LR 群に比し、HEP は有意に高値を示した。PLR 群は、PL 群に比し心内膜側で HEP は有意に高値を示し、心外膜側でも同様の傾向を認めた。L 群と LR 群間に HEP の有意差は認めなかった。

本研究により preconditioning は、虚血心筋内 HEP の保持に対して、急性期には効果を認めなかったが、慢性期には、その効果を顕著に認めた。このことは、再灌流後の心筋エネルギー代謝改善に preconditioning が効果的に作用していると考えられた。

### はじめに

本邦の諸施設において急性心筋梗塞の治療として、経静脈性血栓溶解療法や、PTCR (percutaneous transluminal coronary recanalization), PTCA (percutaneous transluminal coronary angioplasty) 等の発症早期の再灌流療法が、確立した治療法として積極的に行われている。それに伴い、冠状動脈閉塞後の再開通、すなわち虚血、再灌流が心筋に及ぼす影響についての関心が高まり、様々な研究が進められている。一方、臨床的に心筋梗塞患者において、狭心症の既往のある場合とない場合とで、前者の方

が予後良好であるという報告がある<sup>1)</sup>。Jennings 等は犬を用いた実験により狭心症を想定した冠状動脈の短時間反復結紮、すなわち preconditioning を施行することで、非施行例に比較して梗塞範囲の縮小を認めたと報告している<sup>2,3,4,5)</sup>。その後、諸施設において、preconditioning に関する多様な角度からの研究が進められており、preconditioning の虚血心筋代謝に対する保護効果が認められている。本研究では、虚血、再灌流が心筋代謝に及ぼす影響について、preconditioning を中心に、各種モデル犬を作成し、虚血心筋内高エネルギーリン酸化合物 (HEP; high energy phosphate) の変動を観察する

1996年8月5日受付, 1998年4月20日受理

キーワード：プレコンディショニング, 心筋虚血, 高エネルギーリン酸化合物。

(別刷請求先：〒160-0023 東京都新宿区西新宿 6-7-1 東京医科大学病院内科学第二講座 野中晴彦)

ことにより考察し、さらに、急性期と慢性期の比較検討を行った。

### 研究材料および方法

体重8～15 kgの雑種成犬48頭を使用し第1図のごとく6群に分類した。すなわち、冠状動脈を結紮せず心臓を摘出した対照群（以下C群と略す）11頭、左冠状動脈回旋枝近位部を5分間結紮した後10分間再灌流する操作を4回反復した preconditioning 群（以下P群と略す）9頭、同様の preconditioning に続けて1時間結紮した preconditioning-ligation 群（以下PL群と略す）7頭、preconditioning を施行せず、直ちに1時間結紮した ligation 群（以下L群と略す）6頭、ligation に続けて1週間再灌流した ligation-reperfusion 群（以下LR群と略す）8頭、preconditioning-ligation に続けて1週間再灌流した preconditioning-ligation-reperfusion 群（以下PLR群と略す）7頭である。

各群の動物はまず Ketamin 20 mg/kg を皮下注射して前麻酔した後 Pentobarbital-Na (Sodium) 10 mg/kg による静脈麻酔を施し、room air による人工呼吸管理を行った。動物は右側臥位に固定し左第3肋間にて開胸後、心膜を切開し左心耳を挙上、その直下を走行する左冠状動脈回旋枝を近位部で剝離し、同部位に縫合糸のループを有する occuluder を装着し結紮ならびに再灌流の操作を行った。また、心電図の第II誘導をモニターし、更に大腿動脈よ

りカテーテルを挿入し動脈圧を記録した。なお、冠状動脈結紮時に心電図上 ST 上昇を認めないものや心室細動に移行した症例は除外した。急性期群において、プロトコール終了後ひき続き麻酔下にて心臓を大血管基部より迅速に摘出した。慢性期群においては、一度覚醒後、通常飼育をおこない7日間後同様の麻酔を施し心臓を摘出した。本研究では、心筋内高エネルギーリン酸化合物を測定するにあたり、できるだけ短期間で心停止が必要とされたため、生体内での心停止は断念し、拍動心を摘出後すみやかに 0°C の等張な KCL 溶液に入れ3分間冷却した。なお、心摘出30秒前に 5% Fluorescein-Na 1 ml/kg を静注した。冷却後、右心室を除去し、左心室を翻転させ紫外線ランプ下で Fluorescein-Na の蛍光の有無により虚血部と非虚血部を同定し、虚血領域中心部である左室後壁の心内膜側および心外膜側より、各々約 100 mg の心筋片を採取した。C群については、他の群の虚血部に相当する部位から心筋を採取した。心筋内 ATP, ADP, AMP の測定は、第2図に示すごとく、以下の方法によった。すなわち、各心筋片は、1.5 ml の 3.6% Perchloric acid 溶液に入れ質量測定後、polytron を用いて homogenize し、0°C, 2,000 rpm で30分間遠沈。その上清を KOH/K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 溶液で pH 5.0～6.0 に調整後、さらに 0°C, 10,000 rpm で5分間遠沈し、その上清を測定に供した。測定には、島津社製高速液体クロマトグラフィー LC-6A を使用し Anderson & Murphy 等

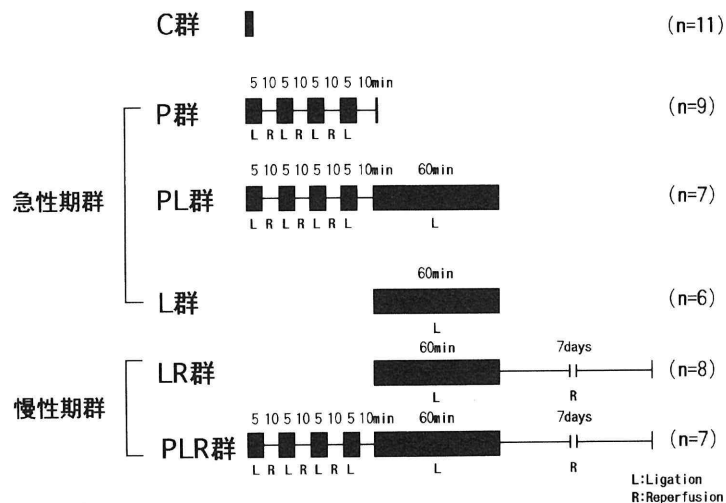


図1 各群の実験操作

図中の「L」は結紮 (ligation) を示し、「R」は再灌流 (reperfusion) を示す。

P群、PL群、L群を急性期群とし、LR群、PLR群を慢性期群として分類した。なお、各群の詳細は本文参照とする。

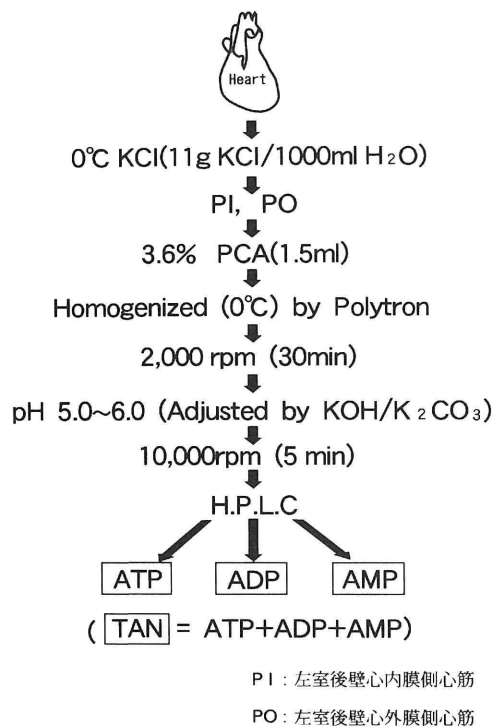


図2 心筋片処理方法  
PCA ; perchloric 溶液  
H.P.L.C. ; 高速液体クロマトグラフィー  
TAN ; total adenine nucleotides  
詳細は本文参照とする。

の変法を用いた<sup>6)</sup>。カラムは島津社製 CLC-ODS を使用し、温度 40°C、流速 1ml/min とし、移動相にはリン酸にて pH を 2.40 に調整した 0.5% トリエチルアミン溶液を用い、波長 254 nm でその吸光度を定量化し測定した。心筋内 ATP, ADP, AMP の含有量は、各標準試薬より求めた検量線をもとに換算式を用いて測定 ( $\mu\text{mol/g.wet.weight.}$ ) し、更に、これら 3 者の総和で表される total adenine nucleotides (以下 TAN と略す) を算出した。

### 結 果

7 日間の再灌流を行っていない群すなわち、P 群、PL 群、L 群を急性期群とし、7 日間の再灌流を行った群、すなわち、PLR 群と LR 群を慢性期群として成績を述べ、更に、preconditioning を施行した群と施行していない群の比較も加えて成績を述べる。各群における虚血領域中心部である左室後壁心内膜側心筋および同部心外膜側心筋内の ATP および TAN 含有量 (mean  $\pm$  SD) を以下 ( $\mu\text{mol/g.wet.weight.}$ ) に示す。各群間の検定には、two-tailed t

test を用い危険率 5% 以下を有意差ありとした。

I : 急性期群における心筋内 HEP 含有量の比較

1) P 群, PL 群, L 群間における心筋内 ATP 含有量の比較。

左室後壁心内膜側心筋における ATP 値は、C 群では  $3.737 \pm 0.480$  (mean  $\pm$  SD. 以下同様), P 群では  $2.566 \pm 0.428$ , PL 群では  $0.671 \pm 0.388$ , L 群では  $0.610 \pm 0.358$  であった。これら 4 群の比較を第 3 図左に示す。P 群, PL 群, L 群はいずれも C 群に比較して有意に低値を示した ( $P < 0.0001$ )。また, PL 群, L 群ともに P 群に比較して有意に低値を示した ( $P < 0.0001$ )。PL 群, L 群間には有意差は認めなかった。

左室後壁心外膜側心筋における ATP 値は、C 群では  $3.684 \pm 0.386$ , P 群では  $2.996 \pm 0.311$ , PL 群では  $1.828 \pm 0.568$ , L 群では  $1.304 \pm 0.742$  であった。これら 4 群間の比較を、第 3 図右に示す。P 群, PL 群, L 群はいずれも C 群に比較して有意に低値を示した ( $P < 0.001$  または、 $P < 0.0001$ )。また, PL 群, L 群ともに P 群に比較して有意に低値を示した ( $P < 0.001$  または、 $P < 0.0001$ )。PL 群, L 群間に有意差は認めないものの、PL 群が L 群に比較して高い傾向を示した。以上の成績をまとめると、心筋内 ATP 値は、操作を加えた群 (P 群, PL 群, L 群) は、全て C 群に比較して有意に低値を示した。また、P 群は、C 群に比較して有意に低値を示したにもかかわらず、P 群に更に ligation を加えた PL 群は、L 群に比較して有意差は認めず、左室後壁心外膜側心筋においては、むしろ高い傾向を認めた。

2) P 群, PL 群, L 群間における心筋内 TAN 含有量の比較。

左室後壁心内膜側心筋における TAN 値は、C 群では  $6.216 \pm 0.629$ , P 群では  $4.693 \pm 0.820$ , PL 群では  $1.834 \pm 0.695$ , L 群では  $1.852 \pm 0.451$  であった。これら 4 群の比較を第 4 図左に示す。P 群, PL 群, L 群はいずれも C 群に比較して有意に低値を示した ( $P < 0.001$  または、 $P < 0.0001$ )。また, PL 群, L 群ともに P 群に比較して有意に低値を示した ( $P < 0.0001$ )。PL 群と L 群間に有意差は認めなかった。

左室後壁心外膜側心筋における TAN 値は、C 群では  $6.195 \pm 0.776$ , P 群では  $5.486 \pm 0.476$ , PL 群では  $4.045 \pm 1.130$ , L 群では  $2.974 \pm 1.292$  であった。これら 4 群間の比較を第 4 図右に示す。P 群, PL 群, L 群, いずれも C 群に比較して有意に低値を示

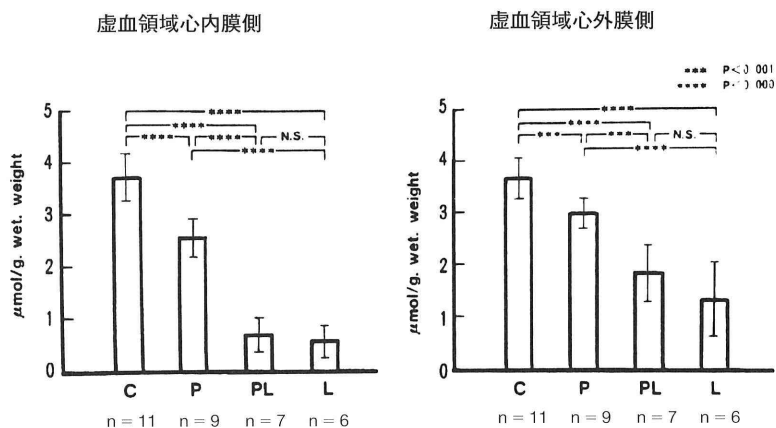


図3 P群はC群に比較して有意に低値を示したが、PL群とL群間に有意差は認めなかった。

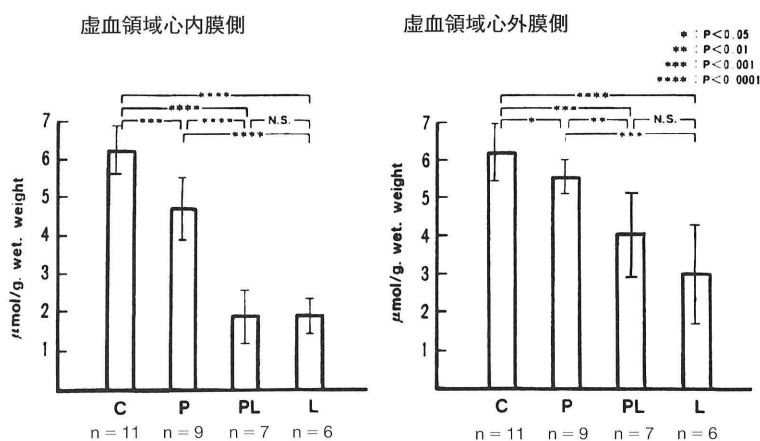


図4 P群はC群に比較して有意に低値を示したが、PL群とL群間に有意差は認めなかった。

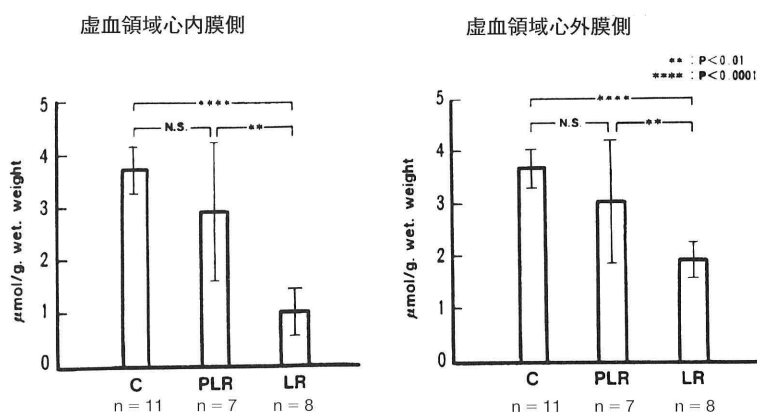


図5 C群とPLR群間に有意差は認めなかったが、PLR群はLR群に比較して有意に高値を示した。

した ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.001$  または,  $P < 0.0001$ )。また PL 群, L 群ともに P 群に比較して有意に低値を示した ( $P < 0.01$  または,  $P < 0.001$ )。PL 群と L 群間に統計学的に有意差は認めないものの, PL 群が L 群に比較して, 高い傾向を示した。

以上の成績から P 群における TAN 値は, C 群に比較して有意に低値を示したにもかかわらず, PL 群における TAN 値は, L 群に比較して有意差は認めず, 左室後壁心外膜側心筋においては, むしろ高い傾向を認めた。

## II：慢性期群における心筋内 HEP 含有量の比較

1) PLR 群と LR 群間における心筋内 ATP 含有量の比較.

左室後壁心内膜側心筋における ATP 値は、C 群では  $3.737 \pm 0.480$ 、PLR 群では  $2.844 \pm 1.416$ 、LR 群では  $0.998 \pm 0.511$  であった。これら 3 群の比較を第 5 図左に示す。C 群と PLR 群間には有意差は認めなかったが、PLR 群は LR 群に比較して有意に高値であった ( $P < 0.01$ )。

左室後壁心外膜側心筋における ATP 値は、C 群では  $3.684 \pm 0.386$ 、PLR 群では  $3.016 \pm 1.286$ 、LR 群では  $1.909 \pm 0.359$  であった。これら 3 群の比較を第 5 図右に示す。C 群と PLR 群間には有意差は認めなかったが、PLR 群は LR 群に比較して有意に高値を示した ( $P < 0.01$ )。

以上の成績から、preconditioning 施行群は、非施行群に比較して虚血心筋内の ATP 値は有意に高値であった。

2) PLR 群と LR 群間における心筋内 TAN 含有量の比較.

左室後壁心内膜側心筋における TAN 値は、C 群では  $6.216 \pm 0.629$ 、PLR 群では  $5.231 \pm 2.531$ 、LR 群では  $2.022 \pm 0.935$  であった。これら 3 群の比較を第 6 図左に示す。C 群と PLR 群間には有意差は認めなかったが、PLR 群は LR 群に比較して有意に高値を示した ( $P < 0.01$ )。

左室後壁心外膜側心筋における TAN 値は、C 群では  $6.195 \pm 0.776$ 、PLR 群では  $5.895 \pm 2.365$ 、LR 群では  $3.913 \pm 0.508$  であった。これら 3 群の比較を第 6 図右に示す。C 群と PLR 群間には有意差は認めなかったが、PLR 群は LR 群に比較して有意に高値を示した ( $P < 0.05$ )。

以上の成績から、preconditioning 施行群は、非施行群に比較して虚血心筋内の TAN 値は有意に高値であった。

## III：preconditioning 施行群での心筋内 HEP 含有量の比較

1) P 群、PL 群、PLR 群間における心筋内 ATP 含有量の比較.

左室後壁心内膜側心筋における ATP 値の比較を第 7 図左に示す。C 群に比較して P 群は有意に低値を示し ( $P < 0.0001$ )、P 群に比較して PL 群は更に有意に低値を示した ( $P < 0.0001$ ) が、PLR 群では PL 群に比較して有意に高値を示し ( $P < 0.01$ ) P 群

と有意差は認めなかった。

左室後壁心外膜側心筋における ATP 値の比較を第 7 図右に示す。C 群に比較して P 群は有意に低値を示し ( $P < 0.001$ )、P 群に比較して PL 群は更に有意に低値を示した ( $P < 0.001$ ) が、PLR 群では PL 群に比較して有意に高値を示し ( $P < 0.05$ ) P 群と有意差は認めなかった。

以上の成績から、preconditioning 施行群において、慢性期では急性期に比較して虚血心筋内の ATP 値は有意に高値であった。

2) P 群、PL 群、PLR 群間における心筋内 TAN 含有量の比較.

左室後壁心内膜側心筋における TAN 値の比較を第 8 図左に示す。C 群に比較して P 群は有意に低値を示し ( $P < 0.001$ )、P 群に比較して PL 群は更に有意に低値を示した ( $P < 0.0001$ ) が、PLR 群では PL 群に比較して有意に高値を示し ( $P < 0.01$ ) P 群と有意差は認めなかった。

左室後壁心外膜側心筋における TAN 値の比較を第 8 図右に示す。C 群に比較して P 群は有意に低値を示し ( $P < 0.05$ )、P 群に比較して PL 群は更に有意に低値を示した ( $P < 0.01$ ) が、PLR 群では PL 群に比較して有意差は認めないものの、高い傾向を示し、また P 群と有意差は認めなかった。

以上の成績から、preconditioning 施行群における虚血心筋内 TAN 値は、慢性期では急性期に比較して、左室後壁心内膜側心筋においては有意に高値を示し、また、左室後壁心外膜側心筋においては有意差は認めないものの高い傾向を示した。

## IV：preconditioning 非施行群での心筋内 HEP 含有量の比較

1) L 群と LR 群間における心筋内 ATP 含有量の比較.

左室後壁心内膜側心筋における ATP 値の比較を第 9 図左に示すが、L 群と LR 群間に有意差は認めなかった。

左室後壁心外膜側心筋における ATP 値の比較を第 9 図右に示すが、L 群と LR 群間に有意差は認めなかった。

以上の成績から、preconditioning 非施行群における虚血心筋内の ATP 値は、慢性期と急性期の間に有意な変動は認めなかった。

2) L 群と LR 群間における心筋内 TAN 含有量の比較.

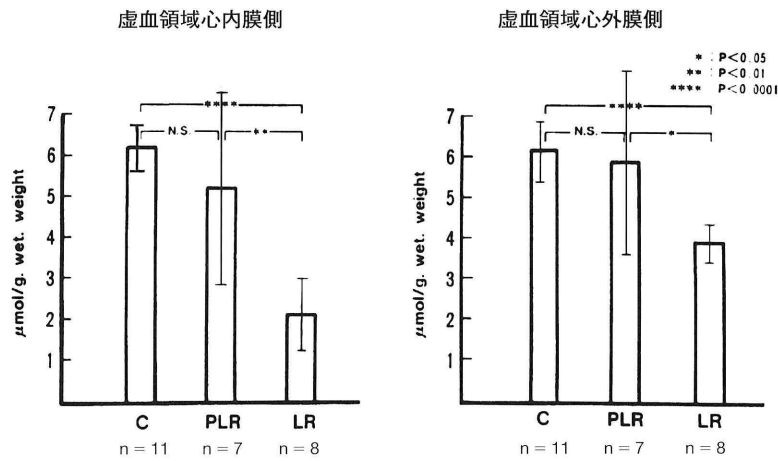


図6 C群とPLR群間に有意差は認めなかったが、PLR群はLR群に比較して有意に高値を示した。

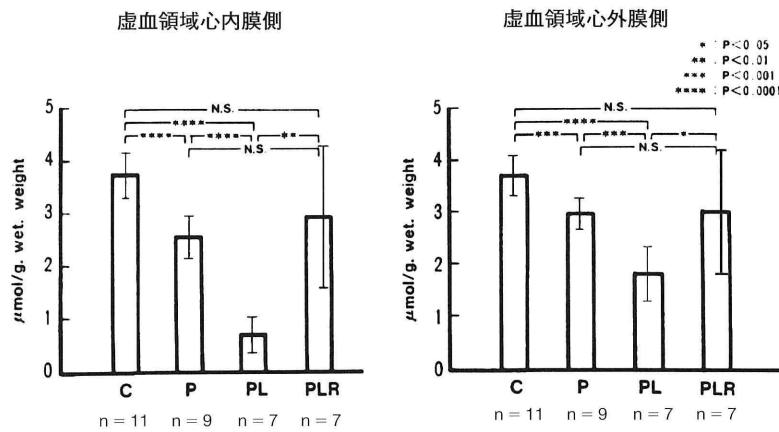


図7 PL群はP群に比較して有意に低値を示したが、PLR群とP群間に有意差は認めなかった。

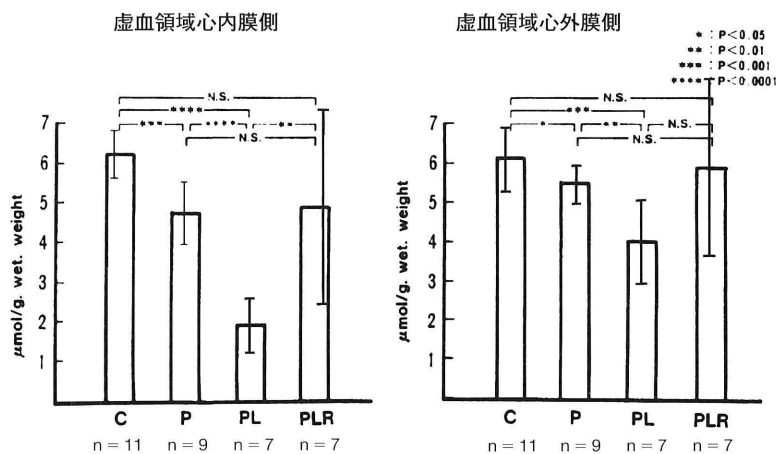


図8 PL群はP群に比較して有意に低値を示したが、PLR群とP群間に有意差は認めなかった。

左室後壁心内膜側心筋における TAN 値の比較を第 10 図左に示すが、L 群と LR 群間に有意差は認めなかった。

左室後壁心外膜側心筋における TAN 値の比較を

第 10 図右に示すが、L 群と LR 群間に有意差は認めなかった。

以上の成績から、preconditioning 非施行群における虚血心筋内の TAN 値は、慢性期と急性期の間

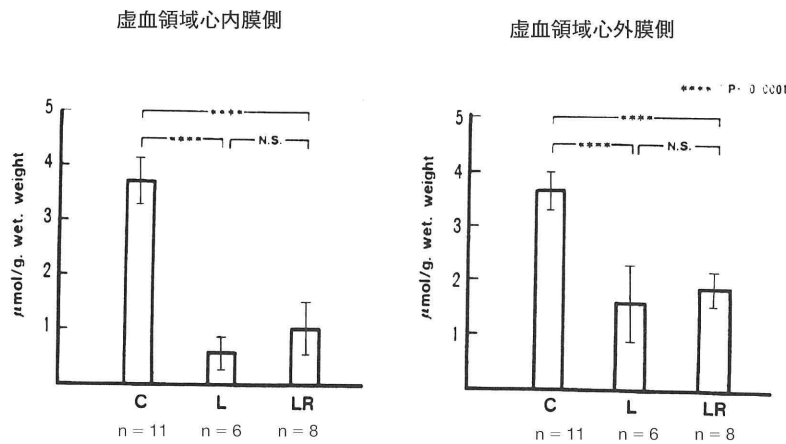


図9 L群とLR群間に有意差は認めなかった。

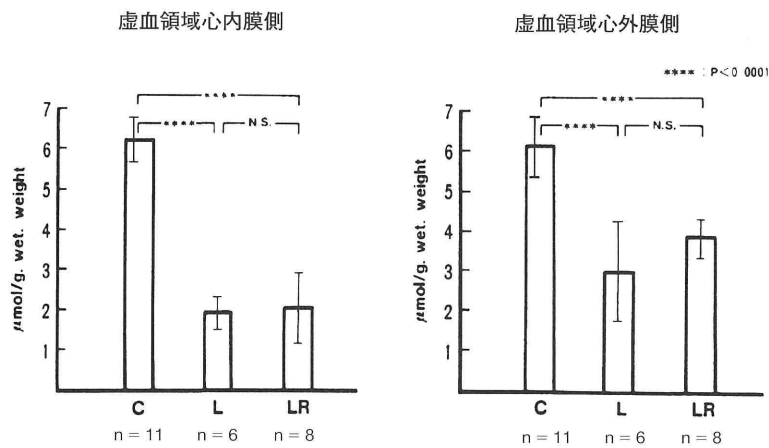


図10 L群とLR群間に有意差は認めなかった。

で有意な変動は認めなかった。

### 考 察

臨床の急性心筋梗塞患者において、狭心症の既往のある場合とない場合とでは、前者の方が予後良好であるという報告がある<sup>1)</sup>。また、心筋の虚血性変化が可逆的と考えられる15分以内の冠状動脈結紮を反復する実験を行い、心筋内のHEPは累積的減少をみないという報告がある<sup>7,8)</sup>。一方、臨床の場合において、急性心筋梗塞に対しての早期再灌流療法が盛んに行われ、一定の成績を修めているが、実際に再灌流が行われるのは心筋梗塞発症後、既に数時間経過している場合が殆どである。しかしながら、これまでに報告されている基礎的研究では、冠状動脈血流が途絶した場合、心筋細胞活動に必要なHEPの急激な減少をきたし、15~20分以内に再灌流が得られなければ、その灌流領域心筋組織の壊死とい

った不可逆的变化をきたすとされている<sup>2,3,9,10)</sup>。この臨床と基礎的研究との間にある時間的差異に関して、明確な解答は得られていない。そこで本研究では、短時間反復虚血、およびそれに続く再灌流が、虚血心筋エネルギー代謝に及ぼす影響について、preconditioningあるいはreperfusionを行い、心筋内HEPを指標として検討を行った。

急性期では、1時間持続結紮を行う前の時点では、preconditioning施行群(P群)は、非施行群(C群)に比較して有意にHEPの低値を認めた。P群はPL群の1時間持続結紮を行う前の状態を示しており、C群はL群の1時間持続結紮を行う前の状態を示していることになる。即ち、1時間持続結紮を行う前の時点では、PL群よりL群の方がHEPは有意に高値であるにもかかわらず、1時間持続結紮が終了した時点では、preconditioning施行群(PL群)と、preconditioning非施行群(L群)間では有意差

を認めなかった。このことは、急性期において preconditioning の虚血心筋エネルギー代謝に対する明らかな影響は、認められないことを示している。

また、慢性期では、preconditioning 施行群 (PLR 群) は、preconditioning 非施行群 (LR 群) に比較して有意に HEP の高値を示しており、明らかな preconditioning 効果を認めている。

この preconditioning の心筋保護効果の機序については、以下のような推測がなされる。

1) 生体の防御機転として、心筋虚血に呼応して心仕事量の低下をきたすこと (stunned myocardium) が知られているが、preconditioning においては、初回の結紮によりこの防御機転が働き、虚血心筋内の  $O_2$  および ATP 消費量の低下、lactate 蓄積の減少、ion homeostasis の維持、細胞内 pH の維持などが効果的に行われる<sup>11, 12, 13)</sup>。

2) 冠血流途絶後再灌流においては Ca overload が生じ細胞障害が惹起されるが、preconditioning はこの Ca overload を抑制する<sup>11, 13, 14, 15)</sup>。

3) 冠血流途絶後再灌流においては、creatine phosphate には虚血前値を上回った回復をきたす現象 (overshoot phenomenon) がみられ、この overshoot に伴って ATP 産生が助長されるが、overshoot は preconditioning を行った場合において、より顕著に認められる<sup>3, 13, 16)</sup>。

4) preconditioning のたびに、free-radical の産生が反復して起こり、それによって、radical 消去系の誘導および賦活化が促進される<sup>17)</sup>。

5) preconditioning が好中球の浸潤を抑制し、その結果、 $O_2^-$ 、 $^1O_2$  などの free-radical の発生<sup>18-20)</sup> が抑制される。

以上の mechanism のうち、今回の実験結果に対応した心筋内の HEP の態度から直接に支持し得るものは、overshoot phenomenon による ATP 産生量の増加であると考えられるが、文献的な考察にとどまり、また、他の mechanism を積極的に否定するものではないと考えられる。

今回の犬実験による研究では、preconditioning による明らかな心筋保護効果が確認された。さらに、この preconditioning 効果は、急性期でなく慢性期において顕著に認められた。このことは、前述した虚血再灌流に関する臨床と基礎的研究の間にある時間的差異に対して何等かの解答を示唆するものである可能性がある。しかし、preconditioning 効果自

体が、そのメカニズムに関してはまだ十分に解明されたとはいえず、今後のさらなる検討、研究が必要であると考えられる。

## 結 論

本研究では、雑種成犬 48 頭を使用し、冠状動脈持続結紮前に短時間反復結紮 (preconditioning) を施行し、この操作が虚血心筋代謝に及ぼす保護効果について、虚血心筋内の high energy phosphate を指標に、急性期と慢性期において比較検討を行い、以下の結論を得た。

1) 急性期では、P 群における ATP 値および TAN 値は、C 群に比較して有意に低値を示したにもかかわらず、preconditioning を施行した PL 群における ATP 値および TAN 値は、preconditioning を施行しなかった L 群と同程度であり、明らかな preconditioning による影響は認めなかった。

2) 慢性期では、preconditioning を施行した PLR 群は、施行しなかった LR 群に比べ、ATP 値および TAN 値ともに有意に高値を示し、明らかな preconditioning 効果を認めた。

3) 急性期と慢性期の比較では、preconditioning を施行した群では、慢性期に有意な ATP 値および TAN 値の回復を認めたが、preconditioning を施行しなかった群では、急性期と慢性期の間に、ATP 値および TAN 値に有意差を認めなかった。

以上、本研究により、preconditioning は、虚血心筋内 high energy phosphate の保持に対して、急性期においては、明らかな効果を認めなかったが、慢性期においては、その効果を顕著に認めた。このことは、preconditioning が、再灌流後の心筋エネルギー代謝改善に対して、効果的に作用していると考えられた。

本研究の要旨は、第 14 回心筋代謝研究会において報告した。

謝辞：稿を終わるに臨み、懇篤なる御指導、御校閲を賜りました東京医科大学内科学教室伊吹山千晴教授に深甚なる謝意を捧げます。また、この研究に終始御助力戴きました同大学内科学第二講座の諸兄に謹んで感謝の意を表します。



## 文 献

- 1) Brush JE, Brand DA, Acampora D, Goldman L, Cabin HS : Relation of peak creatinine kinase levels during acute myocardial infarction to presence or absence of previous manifestations of myocardial ischemia (angina pectoris or healed myocardial infarction). *Am J Cardiology* **62** : 534~537, 1988
- 2) Jennings RB, Hawkins HK, Lowe JE, Hill ML, Klotman S, Reimer KA : Relation between high energy phosphate and lethal injury in myocardial ischemia in dog. *Am J Pathol* **92** : 187~214, 1978
- 3) Kloner RA, Ellis SG, Lange R, Braunwald E : Studies of experimental coronary artery reperfusion. effects on infarct size, myocardial function, biochemistry, ultrastructure and microvascular damage. *Circulation* **68**(1) : 8~15, 1983
- 4) Li GC, Vasquez JA, Gallagher KP, Lucchesi BR : Myocardial protection with preconditioning. *Circulation* **82** : 609~619, 1990
- 5) Schott RJ, Rohmann S, Braun ER, Schaper W : Ischemic preconditioning reduces infarct size in swine myocardium. *Circ Res* **66** : 1133~1142, 1990
- 6) Anderson FS, Murphy RC : Isocratil separation of some purine nucleotide, nucleosides and base metabolites from biological extracts by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr* **121** : 251~262, 1976
- 7) 山澤埜宏, 清見定道, 永井義一, 矢田広章, 青木真, 穂坂英明, 吉崎 彰, 平山陽示, 宮下岳夫, 伊吹山千晴, 蜂谷哲也, 佐々 弘 : 阻血時間の影響. *Coronary* **4** : 381~387, 1987
- 8) 犬塚 博, 山澤埜宏, 清見定道, 永井義一, 後藤義一, 宮下岳夫, 中島 均, 吉崎 彰 : 冠状動脈短時間反復結紮時の虚血部左室心筋内, 中, 外層における high energy phosphate の変動に関する基礎的研究. *東医大誌* **46**(5) : 937~950, 1988
- 9) Reibel DK, Rovetto MJ : Myocardial ATP synthesis and mechanical function following oxygen deficiency. *Am J Physiol* **234** : H620~H624, 1978
- 10) Jennings RB, Schaper J, Hill ML, Steenbergen C Jr, Reimer KA : Effect of reperfusion late in the phase of reversible ischemic injury : changes in cell volume, electrolytes, metabolites, and ultrastructure. *Circ Res* **56** : 262~278, 1985
- 11) Tani M, Neely JR : Intermittent perfusion of ischemic myocardium possible mechanism of protective effects on mechanical function in isolated rat heart. *Circulation* **82**(2) : 536~548, 1990
- 12) Braunwald E, Kloner RA : The stunned myocardium : Prolonged, postischemic ventricular dysfunction. *Circulation* **66** : 1146~1149, 1982
- 13) Murry CE, Richard VJ, Reimer KA, Jennings RB : Ischemic preconditioning slows energy metabolism and delays ultrastructural damage during a sustained ischemic episode. *Circ Res* **66** : 913~931, 1990
- 14) Grinwald PM : Calcium uptake during post ischemic reperfusion in the isolated rat heart : influence of extracellular sodium. *J Mol Cell Cardiol* **14** : 359~365, 1982
- 15) Marban E, Korestsune Y, Corretti M, Chacko VP, Kusuoka H : Calcium and its role in myocardial cell injury during ischemia and reperfusion. *Circulation* **80**(suppl IV) : IV-17~IV-22, 1989
- 16) Reimer KA, Murry CE, Yamasawa I, Hill ML, Jennings RB : Four brief periods of myocardial ischemia cause no cumulative ATP loss or necrosis. *Am J Physiol* **251** : H1306~H1315, 1986
- 17) 葛谷恒彦 : フリーラジカルと内皮細胞. *Biomedica* **514** : 1466~1470, 1990
- 18) Kloner RA, Przyklenk K, Whittaker P : Deleterious effect of oxygen radicals in ischemia/reperfusion : resolved and unsolved issues. *Circulation* **80** : 1115~1127, 1989
- 19) Enger RL, Schmid-schonbein GW, Pavelec RS : Leukocyte capillary plugging in myocardial ischemia and reperfusion in the dog. *Am J Pathol* **111** : 98, 1983
- 20) Romson JL, Hook BG, Kunkel SL, Abrams GD, Schork MA, Lucchesi BR : Reduction of the extent of ischemic myocardial injury by neutrophil depletion in the dog. *Circulation* **67** : 1016~1023, 1983

## Effects of Preconditioning on Ischemic Myocardium in Acute and Chronic Periods Evaluated in Terms of Changes in High Energy Phosphate

Haruhiko NONAKA, Sadamichi KIYOMI, Youji HIRAYAMA,  
Norio NAKAGAWA, Takeo ICHIKI

Department of Internal Medicine, Tokyo Medical University  
(Director: Prof. Chiharu IBUKIYAMA)

### SUMMARY

The effects of preconditioning on the ischemic myocardium in acute and chronic periods were investigated by analysis of high energy phosphates (HEP).

Forty-eight adult mongrel dogs weighing 8–15 kg were divided into 6 groups. Eleven dogs in Group C served as controls. In group P (9 dogs) a procedure involving 5-minute ligation of the circumflex of the left coronary artery (LCx) and 10-minute reperfusion was repeated 4 times. In group PL (7 dogs) the LCx was ligated for 1 hour after the procedures that had been carried out in group P were performed. In group PLR 7 dogs received additional reperfusion for 7 days after the procedures for group PL. Group L consisted of 6 dogs in which the LCx was ligated for 1 hour. In group LR 8 dogs underwent ligation of the LCx for 1 hour and then reperfusion for 7 days. After these maneuvers, the heart was isolated. The levels of HEP (ATP, ADP, AMP) in the inner and outer layers of the left ischemic ventricle were measured. The levels of total adenine nucleotides (TAN) were also calculated by the formula  $ATP + ADP + AMP$ .

The values of HEP in group P were lower than those in group C. There was no difference in HEP between groups PL and L. In group PLR, HEP was higher than in group LR. In group PLR, HEP on the inner side was higher than in group PL, and a similar tendency was observed on the outer side. There was no difference in HEP between groups L and LR.

This experiment shows that although preconditioning is not effective for the maintenance of HEP in the acute period, in the chronic period preconditioning is very effective. Therefore, preconditioning is thought to be effective in improving myocardial energy metabolism after reperfusion.

---

〈Key words〉 Preconditioning, Ischemic myocardium, High energy phosphate

---