

行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

吸入性全身麻醉氣體 Desflurane 及體外循環對於內皮細胞
功能之影響

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC92-2314-B-002-260-

執行期間：92年08月01日至93年07月31日

執行單位：國立臺灣大學醫學院麻醉科

計畫主持人：王明鉅

計畫參與人員：王明鉅

報告類型：精簡報告

處理方式：本計畫可公開查詢

中 華 民 國 93 年 11 月 12 日

附件一

行政院國家科學委員會補助專題研究計畫

成果報告
期中進度報告

(計畫名稱) 吸入性全身麻醉氣體Desflurane及體外循環對於內
皮細胞功能之影響

計畫類別： 個別型計畫 整合型計畫

計畫編號：NSC - 92 - 2314 - 002 - 260 -

執行期間： 92 年 8月 1日至 93年7 月 31日

計畫主持人：王明鉅副教授

共同主持人：

計畫參與人員：

成果報告類型(依經費核定清單規定繳交)： 精簡報告 完整報告

本成果報告包括以下應繳交之附件：

赴國外出差或研習心得報告一份

赴大陸地區出差或研習心得報告一份

出席國際學術會議心得報告及發表之論文各一份

國際合作研究計畫國外研究報告書一份

處理方式：除產學合作研究計畫、提升產業技術及人才培育研究計畫、列管計畫及下列情形者外，得立即公開查詢

涉及專利或其他智慧財產權， 一年 二年後可公開查詢

執行單位：台灣大學醫學院

中 華 民 國 九十三 年 十 月 三十一 日

中文摘要：

開心手術中由於體外循環的使用，造成白血球與血小板激活、補體活化、氧自由基產生等全身性發炎反應，並因而造成血管內皮細胞傷害。血管內皮細胞最重要功能之一，為氧化氮的產生與內皮細胞依賴性血管擴張反應。影響血管內皮細胞功能的各項因素，包括吸煙、糖尿病、高血壓、高血脂症等。但這些因子對於內皮細胞功能中，內皮細胞依賴性血管擴張反應之影響則直至新的非侵犯性檢查方式發明後，始為人了解。但這些因素對於開心手術體外循環過程中，內皮細胞傷害及器官功能與預後之影響則未有詳細研究，亦缺乏針對此一開心手術後併發症之可能治療方式進行研究。本研究計劃為探討內皮細胞的重要血管擴張功能，在全身麻醉藥物作用之下，以及開心手術體外循環前後的變化。

本研究以三十位進行先天性心臟病及二尖瓣修補手術之五十歲以下之年輕成人進行研究。病人除分別於麻醉誘導前，麻醉誘導後三十分鐘但於進行體外循環前，以及體外循環結束後二十分鐘時，以高解析度血管超音波測量病人左手肱動脈之直徑，對於缺血後造成之血流性血管擴張反應。同時並將檢測病人血中相關之內皮細胞傷害標記，soluble vascular cellular adhesion molecule以及soluble E selectin等物質之血中濃度變化。

研究結果發現全身麻醉藥物desflurane對於血流性血管擴張反應，並無明顯影響。而開心手術使用體外循環後，血流性血管擴張反應則有明顯減少。且其減少之狀況，與血中內皮細胞活化後所產生之物質濃度有明顯相關。

本研究發現，吸入性全身麻醉氣體desflurane對於內皮細胞功能並無明顯影響。而體外循環過程則會對於血流性血管擴張反應產生明顯抑制效果，且其抑制效果與內皮細胞活化後所釋放之物質之血中濃度呈正相關。顯示在體外循環過中，由於全身發炎反應所造成之內皮細胞活化，可能造成內皮細胞功能傷害，進而影響內皮細胞功能指標之血流性血管擴張功能。在本研究中我們係針對年輕之先天性心臟病及因二尖瓣閉鎖不全進行瓣膜修補手術的病人進行研究。在此病人群中無因可能具較多動脈硬化的冠狀動脈繞道手術病人，並且係於手術中，體外循環結束後立即進行血管內皮細胞功能研究，因此較之前學者所進行之相關研究更能明確了解，體外循環所造成之內皮細胞功能影響。

三、英文摘要：（限本頁）

關鍵詞 (Keywords): Flow mediated vasodilatation, endothelial dysfunction, cardiopulmonary bypass

During cardiopulmonary bypass, systemic inflammatory response manifested as activation of complement system, generation of cytokines and free oxygenation radicals activated the leukocytes and vascular endothelial cells. Interaction between activated neutrophils and vascular endothelial cells cause vascular endothelial injury after cardiac operations with cardiopulmonary bypass. Endothelium dependent vasodilatation is one of the most important function of vascular endothelium. The purpose of the current project was to assess first the effect of inhaled general anesthetic agents desflurane on the flow mediated vasodilatation and second the effect of cardiopulmonary bypass on the flow mediated vasodilatation and its correlation with the markers of endothelial activation.

Thirty adults younger than 50 years old who were underwent repair of atrial or ventricular septal defects or mitral valve repair for mitral regurgitation were studied. Flow mediated vasodilatation of the left brachial artery was evaluated with high resolution vascular ultrasound machine equipped with linear array transducer. The flow mediated vasodilatation was studied before the induction of the general anesthesia, after surgical incision but before the start of cardiopulmonary bypass and 20 after the termination of the cardiopulmonary bypass. The flow mediated vasodilatation was determined as the relative change of the diameter of the brachial artery in response to reactive hyperemia.

The study showed that the flow mediated vasodilatation did not change significantly after the anesthetic induction with desflurane. However, the flow mediated vasodilatation was decreased significantly after the procedure of the cardiopulmonary bypass. The extent of the decrease of the flow mediated vasodilatation was positively correlated with the plasma concentration of the soluble vascular cellular adhesion molecule and the soluble E-selectin, both were thought to be markers of endothelial cell activation caused by cardiopulmonary bypass.

Our study demonstrated that the inhalational anesthetic agents, desflurane, did not alter the endothelial function. The other main finding of our study is that the process of cardiopulmonary bypass decrease the flow mediated vasodilatation significantly and the extent of the decrease of the flow mediated vasodilatation was positively correlated with the plasma concentration of markers of endothelial activation. The results suggested that the endothelial activation caused by the systemic inflammatory response induced during cardiopulmonary bypass may impair the endothelium dependent-flow mediated vasodilatation. Patients under coronary artery bypass surgery were not included in the study for their impaired endothelial function. The immediate measurement after the termination of cardiopulmonary bypass and the exclusion of patients with complex risk factors in the current study suggested that the cardiopulmonary bypass may be the most important factor for the significant

impairment of flow mediated vasodilatation after cardiopulmonary bypass.

前言

開心手術中由於體外循環的使用，造成白血球與血小板激活、補體活化、氧自由基產生等全身性發炎反應，並因而造成血管內皮細胞傷害。血管內皮細胞最重要功能之一，為氧化氮的產生與內皮細胞依賴性血管擴張反應。影響血管內皮細胞功能的各項因素，包括吸煙、糖尿病、高血壓、高血脂症等。但這些因子對於內皮細胞功能中，內皮細胞依賴性血管擴張反應之影響則直至新的非侵犯性檢查方式發明後，始為人了解。但這些因素對於開心手術體外循環過程中，內皮細胞傷害及器官功能與預後之影響則未有詳細研究，亦缺乏針對此一開心手術後併發症之可能治療方式進行研究。

研究目的

將利用高解析度超音波，以非侵襲性診斷模式，探討全身麻醉藥物，對於身體中內皮細胞的重要功能之一的flow mediated vasodilatation之血管擴張功能，所產生之影響。同時並進一步接續探討，此一flow mediated vasodilatation在開心手術體外循環前後的變化。除了了解全身麻醉藥物對於內皮組織正常功能之影響外，並可有助於了解開心手術中所常使用之体外循環，對於手術後產生之器官傷害之可能致病機轉。

文獻探討

內皮細胞傷害指標與內皮細胞功能異常的評估

在關於內皮細胞傷害與功能異常的研究中，判斷血管內皮細胞活化與傷害程度的方法之一是，利用由內皮細胞在活化之後。在細胞表面大量表現，以及釋放於血中的分子的血中濃度變化作為評估內皮細胞傷害的依據¹⁻³。這些具有內皮細胞相對特異性的分子包括了von Willebrand因子，以及內皮細胞活化後所表現的E-selectin⁴、VCAM-1(vascular adhesion molecule-1)與ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1)^{1-3, 5}以及Thrombomodulin^{6, 7}等分子。von Willebrand因子是由內皮細胞所產生的一種，它除了具有促進血小板與血管內皮細胞接合以進行凝集過程與血栓形成之生理功能之外，von Willebrand因子的血漿中濃度，由於它只由內皮細胞產生的特異性，也普遍被認為是內皮細胞受傷害程度的重要指標⁸⁻¹⁰，而且也是目前在研究中被認為最具有內皮細胞特異性的物質之一¹¹。除了內皮細胞傷害指標的von Willebrand因子之外，白血球激活之後所產生的elastase以及白血球與血小板表面上所表現的L-selectin以及P-selectin等物質¹²，在體外循環之中也都可能產生明顯變化。

研究內皮細胞傷害的方法，除了測定內皮細胞相關的特異性分子的濃度變化之外，直接針對人體內皮細胞功能進行研究，也是許多學者一直尋求突破的焦點。雖然學者了解氧化氮在內皮細胞依賴性血管擴張功能中的重要性，但是由於研究模式與許多方法過於侵犯性的原因，有關於人體內皮細胞依賴性血管擴張功能的研究並不深入。這個方法學上的限制，在Celermajer等人在1992年利用高解析度超音波測量肱動脈於缺血後反應性充血時期(reactive hyperemia)的血管直徑變化¹³，得到了突破。Celermajer等人並證明這種非侵襲性檢查方式與診斷工具，可以評估內皮細胞性血管擴張功能，而且與發生冠狀動脈阻塞的危險相關之後^{13, 14}，學者們已經藉由這方法，發現影響人體內皮細胞性血管擴張功能的許多生理與病理因素。

影響內皮細胞功能的因素探討

在上述許多影響內皮細胞功能的因素中，在開心手術病人中，糖尿病與高血脂症造成的粥狀動脈硬化，是對內皮細胞功能影響相當大的兩個常見狀況。McVeigh等人研究發現，在第二型糖尿病

病人中，不論是內皮細胞依賴性或是非依賴性的血管擴張作用(endothelium-dependent or independent vasodilatation)都較正常人來得差¹⁵，甚至在葡萄糖耐受試驗中不正常的病人中，即已出現內皮細胞依賴性血管擴張作用已有所異常¹⁶。在第二型糖尿病病人血漿中，有許多內皮細胞受損的指標物質的濃度，都要比血糖值正常的人來得多。例如Gearing等人即報告在第二型糖尿病病人中，血漿中溶解型的E-selectin以及 vascular cell adhesion molecule 1 (VCAM-1)等內皮細胞特異或主要由內皮細胞所表現(expression)的濃度，都要比血糖正常的人來得高¹⁷。更有研究指出在糖尿病併發酮酸毒血症時(diabetic ketoacidosis)，血中的von Willebrand因子濃度會升高，而當酸毒血症因治療而改善時，血中的von Willebrand因子濃度也會隨之降低¹⁸。而Steiner等人也報告指出，在第二型糖尿病病人中，血漿中的von Willebrand因子與E-selectin的濃度也都比正常人來得高。在Stehouwer等人的研究中發現，有微量白蛋白尿的第二型糖尿病病人中，只有內皮細胞傷害程度指標作用的von Willebrand因子也昇高的病人，產生心臟血管病變的危險性較血漿中von willebrand因子低的病人要來得高出十倍以上。在上述這些研究中，雖然發現這些與血管內皮細胞有重要關連的物質與第二型糖尿病的關係極為密切，但是學者卻也發現，血漿中這些血管內皮細胞傷害程度的指標物質像von Willebrand因子與E-selectin等，與糖尿病病人血糖的控制程度並不呈明顯的相關性¹⁹。

血管產生粥狀動脈硬化後，對於血管功能的影響，Nabel等人研究發現，在有粥狀動脈硬化的冠狀動脈中，不會像正常的冠狀動脈一樣，亦即當血流增加時會產生舒張的反應²⁰，更有許多研究指出，在粥狀動脈硬化的冠狀動脈與其他血管中，對於依賴內皮組織存在，才有血管舒張作用的藥物(例如acetylcholine、substance P、bradykinin)的血管舒張反應，都要比正常血管要來得差很多²¹⁻²⁴。至於粥狀動脈硬化造成血管內皮細胞功能異常的原因，可能包括了1) 氧化氮合成鈣(nitric oxide synthase)的缺乏、2) 內皮細胞對於血管收縮與舒張等因子的製造之間，失去了平衡、3) 在有粥狀動脈硬化的血管中，氧自由基的產生(例如過氧根離子- superoxide anion)造成氧化氮失去作用等等²⁵。

體外循環與內皮細胞傷害

在開心手術中，由於使用人工心肺機與體外循環的過程中，血液與體外循環管路與氧合器的接觸，造成白血球與血小板活化²⁶⁻²⁸，並促使血中發炎介質濃度增加。例如補體的活化^{29,30}

以及細胞素包括介白質-1、介白質-6等的濃度大量增加³¹⁻³³。同時細胞素(cytokine)在血管傷害中所扮演的角色也逐漸清楚。研究指出在以細胞素刺激的培養內皮細胞的表面上會有與白血球產生交互作用的接合分子(adhesion molecules)的產生³⁴。另外學者也發現，在體外循環的過程中，氧自由基也會大量的產生³⁵⁻³⁷。這些血球、補體的活化以及氧自由基與發炎反應介質的增加，造成開心手術病人常在體外循環過程中，產生全身性發炎反應(systemic inflammatory response)³⁸，並造成許多器官或組織的傷害³⁹⁻⁴¹，對於開心手術後病人的血行動力學變化⁴²以及手術後心肌缺血狀態⁴³，也都可能產生不利的作用。

開心手術中的全身性發炎反應與血中增加的各種發炎介質(例如介白質-1, interleukin-1)，在體內就會接著激活白血球、補體以及內皮細胞。激活的中性白血球與內皮細胞，在細胞表面會增加黏合分子(adhesion molecules)與黏合分子受體的數目，同時激活的補體(C5a)，也會促進白血球表面黏合分子的表現⁴⁴，隨後激活的白血球就與血管內皮細胞接合進行相互作用，而使白血球附著在血管內皮細胞上，最後終於穿出血管壁並且釋放出有害的的酵素及氧自由基等物質，造成血管內皮細胞以及各組織與器官的傷害⁴⁵。

全身麻醉藥物對於內皮細胞功能的影傷害相關研究

全身麻醉藥物，例如propofol等藥物，都會產生降低血管阻力以及血壓下降之效果。但是對於其詳細機轉，則並不清楚。究其原因，其一是血管內皮細胞功能不易分析，其二則是麻醉藥物雖然

常有影響血壓及血管阻力功能，但是使用時間並不長，因此不易進行較深入之研究。但此一狀況，在Celermajer等人使用血管超音波能以無侵害方式分析血管性血流擴張功能之後，即將有所改觀，因此本研究計畫即將以此為重要研究方向。

研究方法

本研究以三十位五十歲以下將進行心房或心室中隔缺損或心臟二尖瓣修補手術進行研究。在手術前將記錄病人病史及病理生理學狀況包括:病史部份:病人是否吸煙，是否有糖尿病、週邊血管疾病、高血壓、腦血管病變、使用藥物狀況(尤其是否有 angiotensin converting enzyme 抑制劑)、以及其體重指數(body mass index=體重/身高平方)等。本研究中將以五十位將進行開心手術的病人為研究對象。由於造成內皮細胞傷害之可能影響因子很多，因此所選取的病人將以無吸煙史，沒有糖尿病、週邊血管疾病、高血壓、腦血管病變等病史者。此外如病人於手術前之生化學檢查中，於手術前之血脂肪及血膽固醇值超過正常範圍 30% 以上者亦不進入本研究。

全身麻醉藥物與體外循環對內皮細胞功能之影響：

開心手術病人均將以fentanyl (10-20 ug/kg)及diazepam(10-15 mg)進行麻醉。並於橈動脈放入動脈導管及其他血行動力監測設施。病人均將進行正常之低溫體外循環，最低肛溫在24至28間，如將有循環休止(circulatory arrest)的病人將不予計入。所有的病人均將使用膜式氧合器(membrane oxygenator)，心臟停搏液之使用方式則將利用前或後灌流方式(antegrade or retrograde cardioplegia)之低溫含血心臟停搏液。體外循環使用1500至2000ml之乳酸林格氏液來排氣，並加入重碳酸鈉及氯化鈣等電解質。在體外循環期間，動脈平均血壓的維持，將由麻醉科醫師以加深麻醉、使用phenylephrine或phentolamine等昇壓或降昇藥物來維持平均動脈血壓在50-100mmHg之間。

血管內皮細胞功能的評估

病人於進行全身麻醉之前，即在放置動脈導管的對側手臂進行肱動脈缺血後充血性血管擴張反應之測定。我們將以高解析度血管超音波探頭，測定肱動脈在缺血之後的反應性充血狀態下的血管擴張(Flow mediated vasodilatation)。肱動脈超音波的作法如Celermajer所報告¹³，我們將使用10 MHz之GE Vingmed linear array高解析度超音波血管探頭進行血管直徑的測定。在清楚看到肱動脈的前後管腔後，確定肱動脈的直徑。再將止血帶(將利用傳統之水銀血壓計)綁於前臂(forearm)，將止血帶壓力升高至動脈收縮壓(大於250mmHg)以上，維持4分半鐘以封閉上臂中的阻力動脈(resistance vessels)的血流。將止血帶壓力完全鬆開後，由於下臂會產生反應性充血現象(reactive hyperemia)，此時肱動脈將會擴張以適應突然擴張的下臂阻力動脈所需之血流量。此時即再度以超音波探頭檢視肱動脈管徑的變化三分鐘，直到肱動脈管徑回到基礎狀態，在我們初步的研究中，正如過去的研究中所已顯示的，在放開止血帶之後約一分鐘是肱動脈擴張最大的時期，計算肱動脈在基礎狀態以及最大擴張程度時之管徑即可測得肱動脈之擴張百分比。

在開心手術開始之前，病人已經進行全身麻醉後，病人將使用Desflurane(6-8% concentration)維持麻醉深度，此時將再測量肱動脈管徑大小後，再以止血帶升高壓力至250mmHg以上，並維持4分半鐘後，測量兩手之肱動脈擴張變化。同樣之超音波檢查將在在開心手術體外循環結束後，在手術室中再進行一次測量。超音波測量的全程並以MO磁光碟片記錄，在測定後進行離線分析。比較手術前後之肱動脈擴張變化。

血管內皮細胞之傷害程度之比較:除對於內皮細胞功能之評估外，並將同時測定內皮細胞傷害狀況。將以如同第一年實中定量血漿中vCAM1因子以及soluble E-selectin、的血中濃度，來判斷

血管內皮細胞傷害程度。血漿中vCAM1因子以及soluble E-selectin、的血中濃度，測定之方法均將利用已有商業生產之ELISA測定組合(Quantakine Kit, R&D System, USA)方法進行測定。其原理為利用pre-coated單株抗體的microwell plate與另一單株抗體上有酵素標記，在與受質作用之後由呈色反應及已知濃度標準曲線來定量其濃度。

開心手術中的實驗流程：

病人在進行開心手術前後，將由動脈導管抽血。抽血的時間如下：

1)全身麻醉後。2)體外循環即將開始前。3)手術結束時。4)手術後第一天。5)手術後第二天。並記錄手術過程中所進行之體外循環時間、心肌缺血時間、使用氧合器廠牌、最低肛溫及鼻咽溫等。在手術期間並將每小時記錄一次血糖值。手術中的尿量及尿液檢體，則將收集手術中全程尿量後再取樣進行分析。

結果與討論

研究結果發現全身麻醉藥物desflurane對於血流性血管擴張反應，並無明顯影響。而開心手術使用體外循環後，血流性血管擴張反應則有明顯減少。且其減少之狀況，與血中內皮細胞活化後所產生之物質濃度有明顯相關($r=0.6$, $p<0.05$)。相關數據如附表。

	全身麻醉前	全身麻醉後	體外循環前	體外循環後
Vessel size (mm)	3.2±0.3	3.3±0.4	3.3±0.4	3.4±0.3
Flow mediated vasodilatation (%)	12.5±2.7	12.9±2.9	13.1±3.3	8.5±2.7
Soluble vCAM-1 (ng/ml)	552.1±56.8	572±76.2	577.2±90.1	782±112.2
sE-selectin (ng/ml)	32.2±12.2	37.3±14	43±15.2	56.1±18.2

本研究發現，吸入性全身麻醉氣體desflurane對於內皮細胞功能並無明顯影響。而體外循環過程則會對於血流性血管擴張反應產生明顯抑制效果，且其抑制效果與內皮細胞活化後所釋放之物質之血中濃度呈正相關。顯示在體外循環過中，由於全身發炎反應所造成之內皮細胞活化，可能造成內皮細胞功能傷害，進而影響內皮細胞功能指標之血流性血管擴張功能。在本研究中我們係針對年輕之先天性心臟病及因二尖瓣閉鎖不全進行瓣膜修補手術的病人進行研究。在此病人群中無因可能具較多動脈硬化的冠狀動脈繞道手術病人，並且係於手術中，體外循環結束後立即進行血管內皮細胞功能研究，因此較之前學者所進行之相關研究更能明確了解，體外循環所造成之內皮細胞功能影響。

參考文獻：

請列出所引用的參考文獻，並於計畫內容引用處標註之。

1. Gearing AJH, Hemingway I, Pigott R, et al. Soluble forms of vascular adhesion molecules, E-selectin, ICAM-1, and VCAM-1: pathological significance. *Annals of the New York Academy of Science* 1992; 667:324-331.
2. Stehouwer CDA, Fischer HR, van Kuijk AWR, et al. Endothelial dysfunction precedes development of microalbuminuria in IDDM. *Diabetes* 1995; 44:431-436.
3. Ferri C, Desideri G, Baldoncini R, et al. Early activation of vascular endothelium in nonobese, nondiabetic essential hypertensive patients with multiple metabolic abnormalities. *Diabetes* 1998; 47(4):660-7.
4. Blann A, Taberner D. A reliable marker of endothelial cell dysfunction: does it exist? *Br J Haematol*

- 1995; 90:244-8.
5. Valen G. The search for markers of endothelial injury during open heart surgery [letter; comment]. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery* 1996; 10(4):297-8.
 6. Valen G, Sigurdardottir O, Vaage J. Systemic release of thrombomodulin, but not from the cardioplegic, reperfused heart during open heart surgery. *Thrombosis Research* 1996; 83(4):321-8.
 7. Bohrer H, Bottiger BW, Haussmann R, et al. [Thrombomodulin as endothelial cell marker in heart surgery patients]. *Anesthesiologie, Intensivmedizin, Notfallmedizin, Schmerztherapie* 1995; 30(7):417-9.
 8. Blann AD, McCollum CN. Von Willebrand factor, endothelial cell damage and atherosclerosis. *European Journal Vascular Surgery* 1994; 8:10-15.
 9. Blann AD, CN M. Adverse influence of cigarette smoking on the endothelium. *Thrombosis and Haemostasis* 1993; 70:707-711.
 10. Blann AD, Naqvi T, Waite MA, CN M. Von Willebrand factor and endothelial cell damage in essential hypertension. *Journal of Human Hypertension* 1993; 7(107-111).
 11. Blann AD, Taberner DA. A reliable marker of endothelial cell dysfunction: does it exist? *British Journal of Haematology* 1995; 90:244-248.
 12. Bevilacqua M, Nelson R, Mannori G, Cecconi O. Endothelial-leukocyte adhesion molecules in human disease. *Ann Rev Med* 1994; 45:361-378.
 13. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* 1992; 340(8828):1111-5.
 14. Celermajer DS, Sorensen KE, Bull C, et al. Endothelium-dependent dilation in the systemic arteries of asymptomatic subjects relates to coronary risk factors and their interaction. *Journal of the American College of Cardiology* 1994; 24(6):1468-74.
 15. McVeigh GE, Brennan GM, Johnston GD, et al. Impaired endothelium-dependent and independent vasodilation in patients with Type 2 diabetes mellitus. *Diabetologia* 1992; 35:771-776.
 16. Jaap AJ, Shore AC, Je T. Diminished endothelium-dependent microvascular vasodilation in subjects with impaired glucose tolerance. *Diabetic Medicine* 1994; II(Suppl 2):S22.
 17. Gearing AJH, Hemingway I, Pigott R, et al. Soluble forms of vascular adhesion molecules, E-selectin, ICAM-1 and VCAM-1: pathological significance. *Annals of New York Academy of Science* 1992; 667:324-331.
 18. Greaves M, Pickering C, Knight G, et al. Changes in the factor VIII complex in diabetic ketoacidosis: evidence of endothelial cell damage? *Diabetologia* 1987; 30:160-165.
 19. Steiner M, Reinhardt KM, Krammer B, et al. Increased levels of soluble adhesion molecules in type 2 (non-insulin dependent) diabetes mellitus are independent of glycaemic control. *Thrombosis and Haemostasis* 1994; 72:979-984.
 20. Nabel E, Selwyn A, Ganz P. Large coronary arteries in humans are responsive to changing blood flow: an endothelium-dependent mechanism that fails in patients with atherosclerosis. *Journal of American College of Cardiology* 1990; 16:349-356.
 21. Chester A, O'Neil G, Moncada S, et al. Low basal and stimulated release of nitric oxide in atherosclerotic epicardial coronary arteries. *Lancet* 1990; 336:897-900.
 22. Creager M, Cooke J, Mendelsohn M, et al. Impaired vasodilation of forearm resistance vessels in

- hypercholesterolemic humans. *Journal of Clinical Investigation* 1990; 86:228-234.
23. Yeung A, Vekshtein V, Krantz D, et al. The effect of atherosclerosis on the vasomotor response of coronary arteries to mental stress. *New England Journal of Medicine* 1991; 325:1551-1556.
 24. Zeiher A, Drexler H, Wollschlager H, Just H. Modulation of coronary vasomotor tone in humans: progressive endothelial dysfunction wiht different early stages of coronary atherosclerosis. *Circulation* 1991; 83:391-401.
 25. Busse R, Fleming I. Endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Journal of Vascular Research* 1996; 33:181-194.
 26. Faymonville M, Pincemail J, Duchateau J. Myeloperoxidase and elastase as markers of leukocyte activation during cardiopulmonary bypass in humans. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1991; 102:309-317.
 27. Butler J, Parker D, Pillai R, et al. Effect of cardiopulmonary bypass on systemic release of neutrophil elastase and tumor necrosis factor. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993; 105:25-30.
 28. Cameron D. Initiation of white cell activation during cardiopulmonary bypass: cytokines and receptors. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 1996; 27(Suppl 1):S1-5.
 29. Saatvedt K, Lindberg H, Geiran O, ea. Complement activation and release of tumour necrosis factor alpha, interleukin-2, interleukin-6 and soluble tumour necrosis factor and interleukin-2 receptors during and after cardiopulmonary bypass in children. *Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation* 1995; 55:79-86.
 30. Miller BE, Levy JH. The inflammatory response to cardiopulmonary bypass. *Journal of Cardiothoracic & Vascular Anesthesia* 1997; 11(3):355-66.
 31. Kawamura T, Wakusawa R, Okada K, Inada S. Elevation of cytokines during open heart surgery with cardiopulmonary bypass: participation of interleukin 8 and 6 in reperfusion injury. *Can J Anaesth* 1993; 40:1016-1021.
 32. Millar A, Armstrong L, van der Linden J, ea. Cytokine production and hemofiltration in children undergoing cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1993; 56:1499-1502.
 33. Butler J, Chong G, Baigrie R, et al. Cytokine responses to cardiopulmonary bypass with membrane and bubble oxygenation. *Ann Thorac Surg* 1992; 53:833-838.
 34. Pigott R, Dillon L, Hemingway I. Soluble forms of E-selectin, ICAM-1 and VCAM-1 are present in the supernant of cytokine-activated endothelial cells. *Biochem Biophy Res Comm* 1992; 187:584-589.
 35. Prasad K, Kalra J, Bharadwaj B, Chaudhary AK. Increased oxygen free radical activity in patients on cardiopulmonary bypass undergoing aortocoronary bypass surgery. *American Heart Journal* 1992; 123(1):37-45.
 36. Davies SW, Duffy JP, Wickens DG, et al. Time-course of free radical activity during coronary artery operations with cardiopulmonary bypass. *Journal of Thoracic & Cardiovascular Surgery* 1993; 105(6):979-87.
 37. Sellke FW, Shafique T, Ely DL, Weintraub RM. Coronary endothelial injury after cardiopulmonary bypass and ischemic cardioplegia is mediated by oxygen-derived free radicals. *Circulation* 1993; 88(5 Pt 2):II395-400.
 38. Butler J, Rocker G, S. W. Inflammatory response to cardiopulmonary bypass. *Annals of Thoracic Surgery* 1993; 55:552-559.

39. Das DK, Engelman RM, Liu X, et al. Oxygen-derived free radicals and hemolysis during open heart surgery. *Molecular & Cellular Biochemistry* 1992; 111(1-2):77-86.
40. Barsacchi R, Pelosi G, Maffei S, et al. Myocardial vitamin E is consumed during cardiopulmonary bypass: indirect evidence of free radical generation in human ischemic heart. *International Journal of Cardiology* 1992; 37(3):339-43.
41. Kayal S, Jais JP, Aguin N, et al. Elevated circulating E-selectin, intercellular adhesion molecule 1, and von Willebrand factor in patients with severe infection. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine* 1998; 157(3 Pt 1):776-84.
42. Cremer J, Martin M, Redl H, et al. Systemic inflammatory response syndrome after cardiac operations [see comments]. *Annals of Thoracic Surgery* 1996; 61(6):1714-20.
43. Hennein H, Ebba H, Erren M, et al. Relationship of the proinflammatory cytokines to myocardial ischemia and dysfunction after uncomplicated coronary revascularization. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 1994; 108:626-635.
44. Rinder C, Fitch J. Amplification of the inflammatory response: adhesion molecules associated with platelet/white cell responses. *Journal Cardiovascular Pharmacology* 1996; 27:S6-12.
45. Wan S, LeClerc JL, Vincent JL. Inflammatory response to cardiopulmonary bypass: mechanisms involved and possible therapeutic strategies. *Chest* 1997; 112(3):676-92.