

# Hemodilution に伴うラット視床血流量の変動

—Laser Doppler 血流計による連続的測定—

奈良県立医科大学第2外科学教室

奥地 一夫, 平松 謙一郎, 金 良根, 榎 寿右

## EFFECT OF HEMODILUTION ON CEREBRAL BLOOD FLOW —CONTINUOUS MEASUREMENT OF MICROCIRCULATORY REGIONAL CEREBRAL BLOOD FLOW BY LASER-DOPPLER FLOWMETRY—

KAZUO OKUCHI, KEN-ICHIROH HIRAMATSU, YANG-KEUN KIM and TOSHISUKE SAKAKI

The 2nd Department of Surgery, Nara Medical University

Received July 22, 1991

**Summary:** The object of this investigation is to study the effects of isovolemic hemodilution on regional cerebral blood flow (rCBF) in non-ischemic rats. Regional CBF was measured by Laser-Doppler flowmetry and hydrogen clearance method in the rat's thalamus simultaneously. It is possible for the Laser-Doppler flowmeter (LDF) to make continuous measurement of rCBF. Thirteen Wistar rats were anesthetized with 1.5% halothane by mask. Isovolemic hemodilution was performed to exchange of 7ml of human albumin for 7ml rat blood gradually. After this process the values of hematocrit (Hct) decreased from 44.8 to 31.7. The rCBF of the thalamus measured by LDF increased by 25.8%. The increase in rCBF correlated almost linearly with the decrease in Hct. The decrease of mean red cell density caused by hemodilution in the tissue is a decrease factor of CBF which is the theoretical basis of this method. In spite of the decrease factor measured CBF was increased. These data suggest that the remarkable increase in red cells velocity may occur with hemodilution.

### Index Terms

hemodilution, Laser Doppler flowmeter, rCBF, albumin, hematocrit

### はじめに

ヘマトクリット (Hct) は血液粘度を決定する最も重要な因子である。in vitro では Hct の低下が血液の流動性を改善し血流量を増加させることはよく知られている<sup>1)</sup>。しかし、pressure autoregulation をはじめとして様々な feedback control の存在する生体においては、hemodilution (HD) の局所脳血流量 (rCBF) におよぼす影響はそれほど単純なものではなく、今日に至るまで多くの議論がなされてきている。Isotope clearance 法などをもちいた大脳皮質レベルにおける血流量の測定結果

によれば、正常状態の動物では HD に伴う皮質血流量がほとんど変化しないとするもの<sup>2)</sup>、HD により血流量が増加するという報告<sup>3)</sup>もあり、その見解は一定していないが、これに対して虚血病態では有意の血流改善が生ずるとの一般的な結論が出されている<sup>4)5)</sup>。しかし、従来の方法で測定 of 困難な大脳深部における HD の影響に関する検討は少なく、特に穿通枝と呼ばれる皮質とは異なる血管系によって栄養される視床の血流が HD に伴ってどの様に影響を受けるかについての報告はほとんどなされていない<sup>6)</sup>。

今回、我々は最近各臓器の血流量の測定<sup>7)8)</sup>に応用され

ている Laser Doppler 血流量 (LDF) のプローベをラットの視床に挿入し, HD に伴って血流値の real time の連続測定を施行した. あわせて水素クリアランス法 (H<sub>2</sub>法) にても同部位の rCBF の変動を測定し, 大脳基底核部の微小循環動態について検討を加えた.

### 方 法

実験動物は 8 週から 12 週齢, 250-350 g の Wistar 系ラット 13 匹をもちいた. 1.5% ハローセンによるマスク麻酔下に大腿動静脈に polyethylen catheter を挿入し, 定位脳固定装置に腹臥位に固定した. 頭皮を正中切開して翻転後, Bregma から 4 mm 尾側, 中心線から 3 mm 外側にドリルで直径約 2.5 mm の骨窓を作製した. 顕微鏡下に硬膜を開き, 皮質血管を温存しつつ Laser Doppler 血流量 (半導体レーザー式組織血流計: バイオメディカル社製 LBF-221) のニードル型のプローベ (LFN-50: 直径 0.55 mm) と水素クリアランス式組織血流計 (ユニークメディカル社製: MHG-D1) の白金電極 (UHE-100: 直径 0.3 mm) を刺入した. 両方のプローベは刺入前に密着させ, micromanipulator をもちいて定局的に脳表から 4 mm 刺入し, 視床の同一部位における血流量を二つの方法で同時に測定できるようにした. 刺入後約 1 時間, LDF の血流値の安定するのを待ってこれを control 値とした. また同時に H<sub>2</sub>法でも rCBF を測定し, HD 施行前の基準値とした. 希釈操作は動脈ルートにより徐々に 1 ml の脱血を行なった後, 血清に対する浸透圧比を約 1 として 44 mg/ml に調整した albumin の 1 ml を静脈ルートより注入した. 脱血した動脈血をもちいて血液ガス分析, Hct の測定を行なった. この操作を 5-10 分間隔で 7 回繰り返して総容積 7 ml の血液-albumin の置換を行なった. この間持続的に rCBF を LDF にて測定し, 全身血圧 (SABP) も連続的に測定した. この希釈操作の終了後 H<sub>2</sub>法で再度 rCBF を測定した.

### 結 果

#### 1. 生理学的パラメーターの変動

経時的な動脈血ガス分析の結果を Fig. 1 示す. pH, PaCO<sub>2</sub>, PaO<sub>2</sub>ともにその値は実験中はほぼ一定であった. SABP は脱血時に一過性の低下が認められるが注入後はすみやかに元の値に復し, 実験中全経過を通じて SABP の有意な変動は認めなかった.

#### 2. 希釈操作による Hct の変化

希釈操作で得られた各々の動脈血をもちいて測定した Hct は段階的に減少し, 1 ml の isovolemic HD によって Hct は 2.2 の減少を示した. 操作前に 44.8±3.5(以

下すべて mean±SD)であった Hct が 7 回の希釈操作終了後 31.7±3.2 にまで直線的に低下した (Fig. 2). 希釈操作後も更に Hct は低下し最終的にはまた 29.5±3.0 で定常状態に達した.

#### 3. H<sub>2</sub>法による rCBF の測定

今回の実験にもちいた 13 匹のラットのうち 10 匹において H<sub>2</sub>法により HD 前後の rCBF の測定を行なった. HD 前に 87.3±25 ml/100 g/min であったものが希釈操

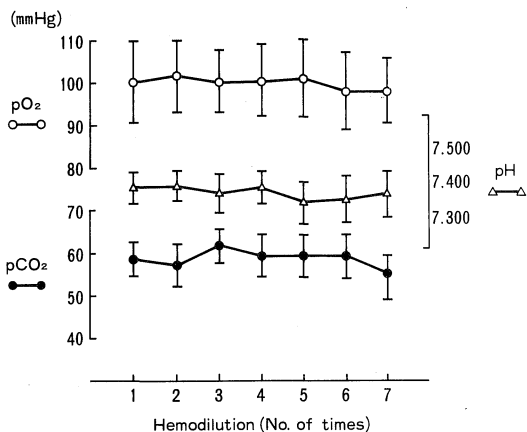


Fig. 1. No significant changes occurred in the arterial blood gas analysis. As our experiment was performed under general anesthesia with mask, the pCO<sub>2</sub> level rather high.

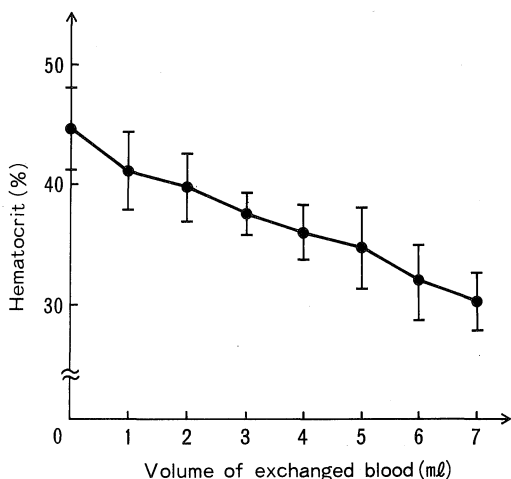


Fig. 2. The sequential changes of hematocrit(Hct) during isovolemic hemodilution; the Hct values gradually decreased in the course of the dilutional process. After exchange of 7ml plasma for 7ml blood, the values decreased from 44.8 to 31.7.

作終了直後には  $105 \pm 25$  ml/100 g/min へと 20.3% の有意な増加を認めた ( $P < 0.01$ ) (Fig. 3).

#### 4. Laser Doppler 血流計による rCBF の測定

LDF による連続的な rCBF の変動状況をみた実例を Fig. 5 に示す。脱血およびアルブミン注入時に一過性の脳血流の減増はあるが、HD が進むにつれて血流量は徐々に増加し、希釈操作終了後約 30 分で定常状態に達した (Fig. 4)。以上の結果を、control 値に対する増加率として百分率で表すと Fig. 5 に示すごとくである。血流量は HD 終了直後で  $25.8 \pm 7.3\%$ 、その後の最終的な定常状態では  $35.2 \pm 8.6\%$  の増加が認められた。

### 考 察

Laser Doppler 血流計による微小循環動態の測定は 1975 年、Stern ら<sup>9)</sup>により皮膚血流の測定に使用されて以来、小腸、胃を中心とした消化器各臓器、皮膚、筋などの血流の測定に応用されてきた<sup>9)</sup>。その原理は、生体に Laser 光を照射した場合、赤血球のように運動しているものから後方に散乱した光はドップラー周波数偏移 (Doppler-shift) を生ずるが、静止構造物からの散乱光は shift を生じないという Laser 光の特性を応用したもので、両者の光の強度の比から組織内運動赤血球密度が求められ、また shift の大きさは様々な方向に運動している各々の赤血球の流速に比例するために、この時発生する周波数スペクトルの広がりから平均赤血球流速が求められる。こうして得られた赤血球密度と赤血球流速の積から血流量が導かれる。しかし、Laser 光に対する組織の吸収率、透過率が部位によって異なるため、組織血流量の絶対値を求めることはきわめて困難である。Dirnagl<sup>10)</sup>らは LDF と autoradiography による rCBF の測定値を比較し、絶対値に関しては相関はないが、control 値に対する変化率にはきわめて高い相関があると報告している。rCBF 測定法として絶対値を求めるのは困難であるとしても、Laser Doppler 法は即時応答性でかつ連続的な測定が可能であることなど利点も多い。さらに H<sub>2</sub>法などとの同時測定による較正を行なうことによって定量的な連続測定も可能となる。

近年、Hct の低下にともなう脳血流の変動に関して多くの知見が重ねられている。Wood<sup>11)</sup>らは一側の中大脳及び内頸動脈を閉塞した犬において低分子デキストランによる hypervolemic HD を施行し、特に虚血領域に血流の増加が認められたとしている。一般に、実験的に血管を閉塞し、虚血を加えた脳においては autoregulation は消失している。また低下した脳血流を代償するために脳微小血管は最大限に拡張するが、その流速は遅く

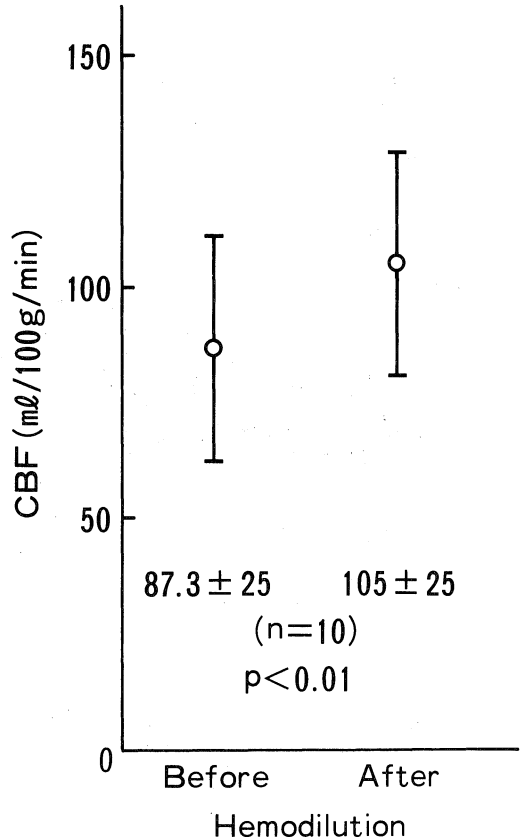


Fig. 3. Regional cerebral blood flow measured by hydrogen clearance method. Values are mean  $\pm$  SD. For statistical analysis, Student's t-test was used.

share rate も低いといわれている。このような虚血病態下では HD による血液粘性の低下が血液の流動性を改善し rCBF の増加をもたらすと考えられている<sup>12)</sup>。

我々の行なったような虚血侵襲のない脳における HD の影響に関してはいまだ報告は少ない。Muizelaar<sup>13)</sup>は cranial window 法により正常脳には血液粘性に対する autoregulation が存在し、血液粘度の低下が代償的な皮質の血管径の収縮をひきおこして rCBF を一定にしているとし、HD の効果に関して否定的な意見を述べている。これに対して Thomas<sup>14)</sup>、Humphrey ら<sup>15)</sup>は、Hct の高い患者では正常者に比して脳皮質血流量が低下しており、瀉血して Hct を 50 から 40 台へ下げることによって rCBF が上昇したと報告した。Maruyama ら<sup>3)</sup>は電磁血流計をもちいて Hct をきわめて低い値にまで段階的に低下させた場合の脳血流の変化について検討した結果、Hct の低下にともなって全脳血流量は指数関数的に増

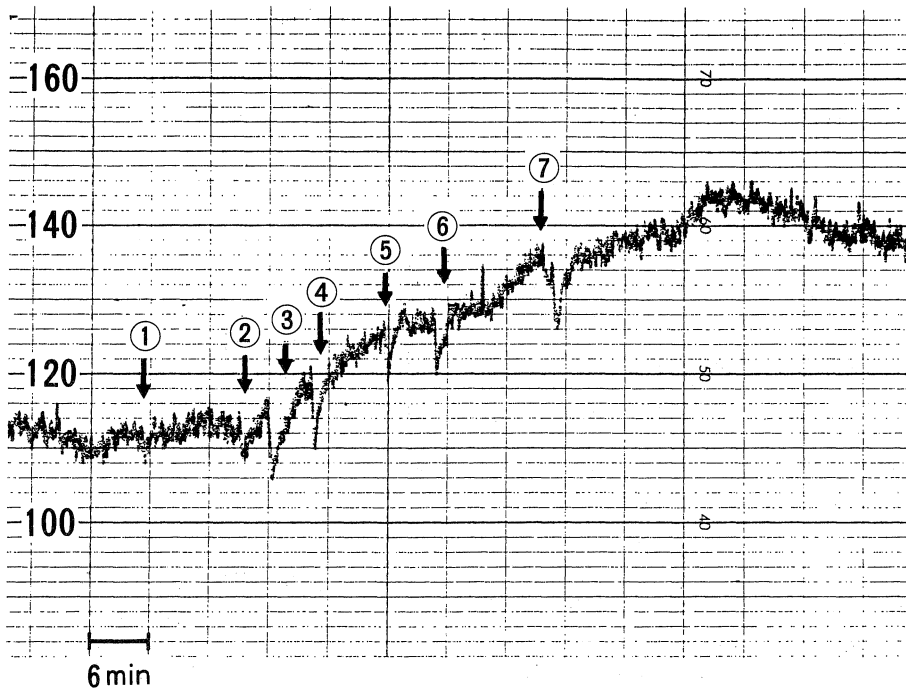


Fig. 4. Pattern of rCBF change by LDF during isovolemic hemodilution. The numbers (①-⑦) indicate the serial hemodilution.

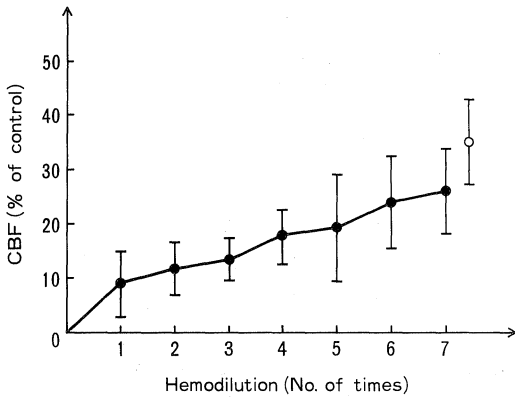


Fig. 5. Regional cerebral blood flow (in per cent of control) alterations in the thalamus following the dilution process. Open circle indicates the value of stable state.

加すると報告した。今回我々が行なった HD は Hct 値が約 30 となる中等度のものであるが、視床の rCBF は H<sub>2</sub> 法および Laser Doppler 法による測定結果では control 値に比して 25 から 35 % 増加した。LDF による連続測定では HD 開始とほぼ同時に rCBF は増加しはじめ、終了後約 30 分で定常状態に達した。この 30 分間において

Hct は約 2 % の変動を示すにすぎないが、これに対し rCBF は約 10 % 上昇している。大血管系と脳局所微小循環系においては Hct の格差が存在する<sup>16)</sup>といわれており、この HD の終了から定常状態までの期間は、急速な HD に続いて起る血球と血漿の再分布が微小循環におよぶまでの時間を意味していると思われる。

HD にもなる非虚血脳の基底核における rCBF の変化をそれだけ単独で調べた報告はきわめて少ない。Tur<sup>17)</sup>の犬をもちいた報告では、非虚血側大脳半球および sham-operated animal の基底核および皮質における rCBF を Microsphere 法で測定しており、control 群 (Hct=47) に比して HD 群 (Hct=30) の rCBF は皮質では数%の上昇にとどまったにもかかわらず、基底核では 20-22 % の上昇が認められたとしている。この HD の程度と基底核での測定値はわれわれの結果ときわめて類似している。HD に伴う rCDB の増加は血液粘度の低下による流動性の改善が主要因と考えられるが、Kummer<sup>18)</sup>らの指摘するような血液希釈に基づく酸素運搬能力の低下に対する代償性血管拡張も要因として関与しているかもしれない。後者の要因については脳血管の部位的差異ならびに生理学的特性を考慮しながら in vivo での動態変化を観察する必要がある、今後の詳細な検討が望まれ

る。

Hct を低下させて Laser Doppler 法で脳血流量を測定した場合、組織赤血球密度の減少という器械の特性上の血流低下因子が存在するはずである。それにもかかわらず測定値が有意に上昇したのは低下因子を上回る赤血球流速の飛躍的上昇が生じたためであると考えられる。また、Laser Doppler 法による測定値が  $H_2$ 法による測定値に比して同一部位の測定でありながら高い上昇を示したが、この相違は血液が赤血球および血漿という細胞成分および液体成分の2大成分から構成され、各々が独立した速度を持って流動しているという事<sup>13)</sup>から説明される。Laser Doppler 法において測定しているのは、主に赤血球因子であり、これに対して  $H_2$ 法では血漿因子がより関与しており、この相違が測定値に影響していると考えられる。すなわち、HD にともなう血流速度の増加において赤血球流速の上昇が血漿流速の上昇より大きいため、Laser Doppler 法による局所脳血流量が  $H_2$ 法のそれより高い値を示したものと考えられた。

## 結 語

1. 正常ラットをもちいて Hct 値 44.8 から 29.5 にいたる hemodilution を施行し Leser Doppler 血流計および水素クリアランス法にて視床における rCBF の測定をおこなった。
2. Leser Doppler 血流計により局所脳血流量の連続測定の結果、Hct の低下にともない局所脳血流量は段階的に増加した。最終的な定常状態では control 値に対して 35.2% の増加が認められた。
3. 同時に測定した水素クリアランス法でも 20.3% の rCBF の上昇を認めた。Leser Doppler 血流計の測定結果との相違は測定標的因子が異なるためと考えられた。

尚、本論文の要旨は第 14 回日本脳卒中学会総会(1989年3月、東京)にて発表した。

## 文 献

- 1) 岡 小天：バイオレオロジー。裳華房，東京，p 49-51, 1984.
- 2) Haggendal, E., Nilsson, N. J. and Norback, B. : Effect of blood corpuscle concentration on cerebral blood flow. Acta Chir. Scand. Supple. 364 : 13-22, 1966.
- 3) Maruyama, M., Shimoji, K. and Ichikawa, T. : The effect of extreme hemodilution on the autoregulation of cerebral blood flow, electroencephalogram and cerebral metabolic rate of oxygen in the dog. Stroke 16 : 675-679, 1985.
- 4) Wood, J. H. and Kee, D. B. : Hemorheology of the cerebral circulation in stroke. Stroke 16 : 765-772, 1985.
- 5) Little, J. R., Slugg, R. M., Latchaw, J. P. : Treatment of acute focal cerebral ischemia with concentrated albumin. Neurosurgery 9 : 552-558, 1981.
- 6) Kummer, R., Scharf, J. and Back, T. : Autoregulatory capacity and the effect of isovolemic hemodilution on local cerebral blood flow. Stroke 19 : 594-597, 1988.
- 7) Stern, M. D. : In vivo evaluation of microcirculation by coherent light scattering. Nature 254 : 56-58, 1975.
- 8) Stern, M. D., Lappe, D. L. and Brown, P. D. : Continuous measurement of tissue blood flow by laser-doppler spectroscopy. Am. J. Physiol. 232 : H441-448, 1977.
- 9) 柳橋健, 今村正之, 戸部隆吉：レーザードップラー微小循環血流測定法の消化器領域への応用。呼吸と循環 34 : 741-747, 1986.
- 10) Dirnagl, U., Kaplan, B. and Jacewicz, M. : Continuous measurement of cerebral cortical blood flow by Laser-doppler flowmetry in a rat stroke model. J. Cereb. Blood Flow Metab. 9 : 589-596, 1989.
- 11) Wood, J. H., Simeone, F. A. and Fink, E. A. : Hypervolemic hemodilution in experimental focal cerebral ischemia. J. Neurosurg. 59 : 500-509, 1983.
- 12) Kee, D. B. and Wood, J. H. : Influence of blood rheology on cerebral circulation in Cerebral Blood Flow (Wood, J. H., ed.). New York, McGraw-Hill, p173-185, 1987.
- 13) Muizelaar, J. P., Wei, E. P. and Kontos, H. A. : Cerebral blood flow is regulated by changes in blood pressure and in blood viscosity alike. Stroke 17 : 44-48, 1985.
- 14) Thomas, D. J., Du Boulay, G. H. and Marshall, J. : Effect of hematocrit on cerebral blood flow in man. Lancet 941-943, 1977.
- 15) Humphrey, P. R. D.; Du Boulay, G. H. and Marshall, J. : Cerebral blood flow and viscosity in relative polycythemia. Lancet 27 : 873-876,

1979.

- 16) 坂井文彦, 五十嵐久佳, 鈴木秀一: 脳血管障害者における局所脳ヘマトクリットの測定. *Brain Hypoxia* 2 : 79-82, 1988.
- 17) **Tu, Y. K., Heros, R. C., Candia, G. and Hyodo, A.** : Isovolemic hemodilution in experimental focal cerebral ischemia. *J. Neurosurg.* 69 : 72-81, 1988.
- 18) **Tomita, M. and Goto, F.** : Which circulates faster through the cerebral microcirculatory system, red cells or plasma? *Stroke* 13 : 722, 1982.