

Ocena wpływu filtrowanej kardiopleginy krwistej na stymulację ekspresji molekuł adhezyjnych u chorych poddanych chirurgicznej rewaskularyzacji mięśnia sercowego



Evaluation of the effect of filtered blood cardioplegia on adhesion molecule expression during coronary artery bypass grafting procedures

Jarosław Jasiński¹, Paweł Burchardt², Tomasz Poprawka¹, Ryszard Kalawski¹, Jan Żeromski³, Henryk Wysocki⁴, Tomasz Siminiak²

¹Szpital Miejski im. Strusia, Poznań

²Szpital Rehabilitacyjno-Kardiologiczny w Kowanówku, AM, Poznań

³Katedra Immunologii Klinicznej, AM, Poznań

⁴Katedra i Klinika Intensywnej Terapii Kardiologicznej i Chorób Wewnętrznych, AM, Poznań

Kardiochirurgia i Torakochirurgia Polska 2006; 3 (3): 270–274

Streszczenie

Wstęp: Zarówno krążenie pozaustrojowe, jak i niedokrwienie serca w trakcie CABG stymulują aktywację granulocytów obojętnochłonnych (PMN) do produkcji cytotoksycznych wolnych rodników. W wyniku aktywacji dochodzi również do wzrostu ekspresji molekuł adhezyjnych przez PMN. Z prac doświadczalnych wiemy, że redukcja PMN docierających do obszaru niedokrwienia i reperfuzji przez zastosowanie filtrów leukocytarnych powinna ograniczać niekorzystne efekty wywołane przez te komórki.

Cel: Celem pracy była ocena zmiany ekspresji molekuł adhezyjnych na powierzchni wzorcowych PMN pod wpływem osocza u osób poddanych CABG w krążeniu pozaustrojowym z podaniem kardiopleginy krwistej filtrowanej i niefiltrowanej.

Materiał i metody: U 40 pacjentów poddawanych CABG pobierano osocze z aorty, żyły głównej i zatoki wieńcowej, przed niedokrwieniem, na początku i 25 min po reperfuzji. Po inkubacji próbek osocza z wzorcowymi PMN ekspresję molekuł adhezyjnych oceniano za pomocą cytometrii przepływowej.

Wyniki i wnioski: W przebiegu niedokrwienia i reperfuzji dochodzi do wzrostu ekspresji molekuł adhezyjnych na PMN z krwi tętniczej, a zmniejsza się ekspresja tych antygenów po niedokrwieniu w krwi żyłnej. Zastosowanie filtrów leukocytarnych przy kardioplegii krwistej, w trakcie jej kolejnych podań, nie ma wpływu na ekspresję molekuł adhezyjnych PMN.

Słowa kluczowe: filtry leukocytarne, molekuły adhezyjne, niedokrwienie, reperfuzja.

Abstract

Background: Neutrophil (PMN) activation is stimulated during CABG by both cardio-pulmonary bypass and myocardial ischaemia. PMN activation leads to over-expression of adhesion molecules. As indicated by experimental data, depletion of leucocytes within the ischaemic and reperfusion area by PMN filters should inhibit their injurious effect.

Aim: Our goal was to evaluate the changes in expression of adhesion molecules on the surface of control neutrophils treated by serum collected from CABG patients during CPB with donation of filtered and non-filtered blood cardioplegia.

Materials and methods: Blood from 40 CABG patients was collected from the aorta, vena cava and coronary sinus before ischaemia, during and 25 minutes after reperfusion. Plasma samples were incubated with control PMN and the expression of adhesion molecules was measured by flow cytometry.

Results and conclusion: We observed increasing adhesion molecule expression on neutrophils after incubation with plasma collected from arterial blood and decreased expression with plasma from venous blood. Use of neutrophil filters to improve blood cardioplegia during each donation did not have any impact on molecule expression.

Key words: leucocytes filters, adhesive molecules, ischaemia, reperfusion.

Adres do korespondencji: Paweł Burchardt, Szpital Rehabilitacyjno-Kardiologiczny, Akademia Medyczna w Poznaniu, 64-600 Kowanówko, ul. Sanatoryjna 34, tel. +48 61 297 34 00, faks +48 296 16 15, e-mail: pab2@tlen.pl

Pierwsze udokumentowane pomostowanie aortalno-wieńcowe (CABG) zostało przeprowadzone w 1967 r. przez Rene Geronimo Favalaro. Zabieg ten jest uznaną metodą leczenia określonych przypadków choroby naczyń wieńcowych. Na przestrzeni lat wyjaśniono wiele mechanizmów zachodzących w poddawanej rewaskularyzacji w krążeniu pozaustrojowym mięśniu sercowym, polegających na torowaniu metabolizmu beztlenowego, mobilizacji wolnych rodników, co może prowadzić do dysfunkcji serca, polegającej na uszkodzeniu miocytów w trakcie niedokrwienia i reperfuzji. Liczne dane z literatury [1–4] jako największe źródło wolnych rodników wskazują aktywowane PMN. W wyniku chemotaksji docierają one do ogniska niedokrwienia, przylegają i agregują z śródbłonkiem naczyniowym oraz fagocytują nie tylko uszkodzone komórki, ale także miocyty, które mogłyby regenerować. Opisane przyleganie do śródbłonka zależy od udziału L-selektyny znajdującej się na powierzchni PMN [5], a reagującej z E-selektyną i antygenem aLevis (x) ulegającym ekspresji na aktywnych komórkach śródbłonka. W trwałej adhezji biorą udział glikoproteiny z rodziny β 2-integrin, zawierające wspólny łańcuch β (antygen CD 18), oraz jedna z podjednostek α (CD11a, CD11b, CD11c.) Najliczniej na PMN występują CD11b/CD18, oddziałujące z molekułami ICAM-1 śródbłonka, CD11a/CD18 łączą się nie tylko z ICAM-1, ale i ICAM-2, pozostałe odgrywają znikomą rolę w tym procesie. Wspomniane agregaty granulocytarne wywołują leukoembolizację, co znacznie utrudnia przepływ elementów morfotycznych krwi przez naczynia włosowate obszaru niedokrwienia i reperfuzji i jest podstawą zjawiska *no-reflow* [6]. Niekorzystne procesy mechaniczne, w których biorą udział PMN, są dodatkowo potęgowane aktywowaniem przez nie procesów biochemicznych, czyli wydzielaniem między innymi wazokonstrukcyjnego leukotrienu LTB4 w obszarze niedokrwienia i dużych ilości wolnych rodników tlenowych (anion podtlenkowy, rodnik hydroksylowy, nadtlenek wodoru). Rodniki, utleniając lipidy błon komórkowych (dysfunkcja błony i napływ jonów Ca) oraz kwasy nukleinowe komórki, uszkodzają miocyty. W miarę poznawania tych zjawisk przeprowadzono prace eksperymentalne ograniczające ich niekorzystne efekty, stąd doświadczenia na modelach zwierzęcych z redukcją PMN docierających do obszaru niedokrwienia i reperfuzji przez zastosowanie filtrów leukocytarnych oraz surowic antygranulocytarnych [7], hamowanie procesu przylegania do śródbłonka przez przeciwciała monoklonalne przeciwko molekułom adhezyjnym [8] czy ograniczanie czynności wydzielniczej PMN przez stosowanie np. inhibitora leukotrienu LTB-4.

W praktyce kardiologicznej do ogólnie przyjętych sposobów kardioprotekcji należą hipotermia miejscowa i ogólna, ograniczenie okresu niedokrwienia i kardioplegia. Płyny kardioplegiczne, oprócz składu (kardiopleginy krystaliczne i krwiste), różnią się drogą podania (*retrograde* i *antegrade*), a także właściwościami, ponieważ krew jako nośnik płynu kardioplegicznego zawiera własne mechanizmy antyoksydacyjne (glutathion, peroksydaza), zatem ma zdolność wymiatania wolnych rodników. Dodatkowo daje możliwość aerobowego zatrzymania serca z pokryciem zapotrzebowa-

nia energetycznego, a jej wyższe ciśnienie onkotyczne zapobiega obrzękowi śródbłonka w okresie reperfuzji. Prace kliniczne [9, 10] potwierdzają przewagę kardiopleginy krwistej (zawiera 1 objętość kardiopleginy krystalicznej i 4 objętości krwi z oksygenatora) nad krystalicznymi w operacjach CABG.

Mając na uwadze niekorzystny wpływ aktywowanych PMN na poddawany częściowemu niedokrwieniu mięsień sercowy podczas zabiegu CABG, w realizowanym projekcie badawczym podjęliśmy próbę zastosowania filtrów leukocytarnych w trakcie donacji kardiopleginy krwistej w celu redukcji PMN oraz oceny ekspresji ich powierzchniowych antygenów (białek uczestniczących w procesie adhezji do śródbłonka).

Cel

Ocena zmiany ekspresji molekuł adhezyjnych reprezentowanych przez antygeny CD18, CD11b i leu-8 na powierzchni wzorcowych PMN pod wpływem osocza osób poddanych bezpośrednio rewaskularyzacji mięśnia sercowego w krążeniu pozaustrojowym z podaniem kardiopleginy krwistej filtrowanej filtrem PALL-BC1B i niefiltrowanej.

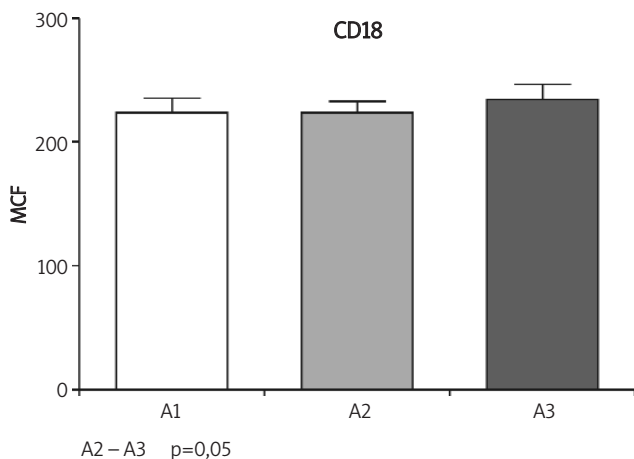
Materiał i metody

Grupa badana – 40 pacjentów (po uzyskaniu zgody indywidualnej i akceptacji Terenowej Komisji Etyki Badań Naukowych przy Akademii Medycznej w Poznaniu) z chorobą wieńcową w postaci choroby 3 naczyń lub zwężeniem pnia LTW, poddanych CABG, w wieku 28–68 lat, średnio 56,2, z frakcją wyrzutową 38–67%. U wszystkich chorych wykonano pełną rewaskularyzację mięśnia sercowego, stosując 2–4 pomostów, średnio 2,9. Czas zakleszczenia aorty wynosił 18–42 min. Czas krążenia pozaustrojowego wynosił 43–78 min. U wszystkich pacjentów wykonano pomostowanie z zastosowaniem LIMA, u 4 pacjentów RIMA, u następnych 4 lewej tętnicy promieniowej. U 20 pacjentów zastosowano donację kardiopleginy krwistej filtrowanej (filtr), u pozostałych kardioplegina nie była filtrowana. Pobierano osocze z aorty, żyły głównej i zatoki wieńcowej przed niedokrwieniem, na początku i 25 min po reperfuzji. U pacjentów, którym podawano filtrowaną kardiopleginę, pobierano próbki z linii przed filtrem i za filtrem w trakcie pierwszego i ostatniego podania kardiopleginy.

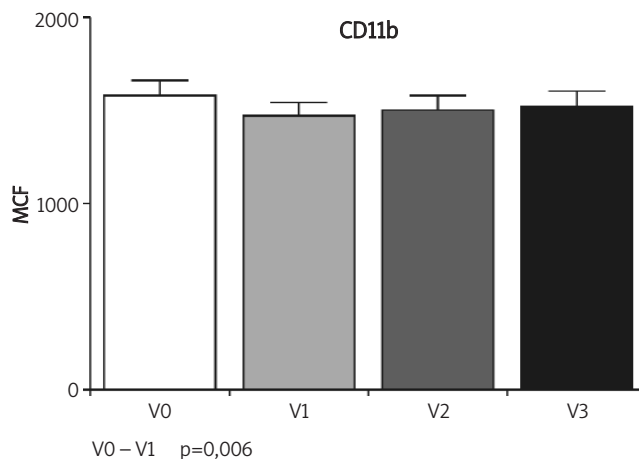
Ekspresji antygenów CD11b, CD18 i leu-8 na powierzchni PMN dokonywano za pomocą cytometrii przepływowej (cytofluorometr FACson, Becton-Dickinson). Wyniki przedstawiono jako średni kanał fluorescencji (MCF). Ze względu na brak rozkładu normalnego wyników (stwierdzono w teście Kromogorova-Smirnowa) do oceny statystycznej zastosowano testy nieparametryczne (test Wilcoxon i Friedmana).

Wyniki

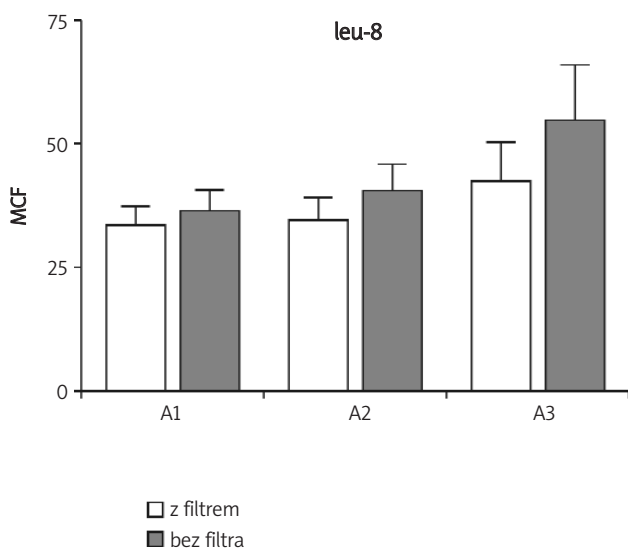
Stwierdzono istotny statystycznie wzrost ekspresji CD18 i CD11b pod wpływem badanego osocza uzyskanego podczas kolejnych etapów zabiegu. W przebiegu niedokrwienia i reperfuzji dochodzi do wzrostu ekspresji molekuł adhezyjnych na PMN pod wpływem osocza z krwi tętniczej,



Ryc. 1. Wpływ osocza chorych poddanych zabiegowi CABG (n=40) uzyskanego z krwi tętniczej, przed niedokrwieniem (A1), po niedokrwieniu (A2) oraz po 25 min reperfuzji (A3) na ekspresję antygenu CD18 przez PMN. Wartości średnie \pm SEM, średnie kanały fluorescencyjne



Ryc. 2. Wpływ osocza chorych poddanych zabiegowi CABG (n=40) uzyskanego z krwi żylniej, przed urochomieniem CPB (V0), przed niedokrwieniem (V1), po niedokrwieniu (V2) oraz po 25 min reperfuzji (V3) na ekspresję antygenu CD11b przez PMN. Wartości średnie \pm SEM, średnie kanały fluorescencyjne



Ryc. 3. Wpływ osocza chorych poddanych zabiegowi CABG (n=40) uzyskanego z krwi tętniczej z filtrem i bez filtra, przed niedokrwieniem (A1), po niedokrwieniu (A2) na ekspresję antygenu CD18 przez PMN. Wartości średnie \pm SEM, średnie kanały fluorescencyjne MCF

a zmniejsza się ekspresja tych antygenów po niedokrwieniu w wyniku inkubacji z osoczem krwi żylniej. Zastosowanie filtrów leukocytarnych przy kardioplegii krwistej, w trakcie jej kolejnych podań, nie ma wpływu na ekspresję molekuł adhezyjnych PMN pod wpływem badanego osocza w porównaniu z osoczem chorych operowanych przy użyciu kardiopleginy niefiltrowanej. Wyniki zastawiono w tabelach I–III.

Dyskusja

W ostatnich latach pojawiło się wiele danych z badań eksperymentalnych, głównie na modelu zwierzęcym, dotyczących skuteczności stosowania filtrów leukocytarnych

do poprawy wyników leczenia operowanych z użyciem aparatu do krążenia pozaustrojowego (CPB). CPB stymuluje aktywację PMN [11, 12] poprzez ich oddziaływanie z urządzeniem do wymiany gazowej, różnice temperatur tkanek chorego i perfuzatu, a także w zależności od rodzaju użytej pompy [13, 14]. Wykazano, że perfuzja obszaru zawatu krwią pozbawioną PMN prowadziła do wzrostu przepływu wieńcowego (w porównaniu z obszarem perfundowanym pełną krwią [15]), a przy operacjach sinicznych wad serca – do zmniejszenia poziomu wolnych rodników [16].

Zastosowanie filtrów leukocytarnych w celu oczyszczenia kardiopleginy krwistej w trakcie rewaskularyzacji mięśnia sercowego z zastosowaniem CPB pozwoliło na redukcję PMN przylegających do śródbłonna naczyń włosowatych (a tym samym zmniejszenie ryzyka zatorowo-zakrzepowego, czasowej niewydolności wielonarządowej i zaburzeń homeostazy), co stwierdzono na podstawie badania histopatologicznego bioptatów mięśnia sercowego [17].

Aktywacja PMN następuje nie tylko pod wpływem oddziaływania z niedokrwionym śródbłonnikiem (a konkretnie z wydzielanymi przez te komórki interleukiną-8 i endoteliną-1), ale również pod wpływem szeregu czynników osoczowych, m.in. PAF, NO [18], adenozyiny, pochodnych kwasu arachidonowego, w tym wspomnianego LTB-4.

W wyniku aktywacji dochodzi do wzrostu ekspresji molekuł adhezyjnych [19, 20], ich rozpuszczalnych form, czy do uwolnienia składowych dopełniacza [22], działających silnie chemotaktycznie i przyczyniających się do progresji obszaru martwicy [23].

W przeprowadzonych badaniach własnych dotyczących pacjentów poddanych CABG stwierdzono wzrost ekspresji wszystkich badanych antygenów (CD18, CD11b i leu-8) pod wpływem osocza krwi tętniczej po niedokrwieniu i po 25 min reperfuzji. Jest to prawdopodobnie wynikiem systemowego uwalniania PMN, ponieważ filtr stosowano w stopniu koniecznym do uzyskania kardiopleginy krwistej, co stanowi-

Tab. I. Ekspresja wybranych antygenów w krwi tętniczej, żyłnej i z zatoki wieńcowej przed niedokrwieniem, w trakcie niedokrwienia i 25 min po reperfuzji (wynik podany wraz z odchyleniem standardowym)

| | CD11b | CD18 | LEU-8 |
|--|----------------|----------------|----------------|
| przed niedokrwieniem/krew tętnicza | 1394,9±69,4 | 223,4±12,3 | 32,2±2,9 |
| niedokrwienie/krew tętnicza | 1422,8±66,6 | 222,6±71,7 | 37,7±3,5 |
| poziom istotności 1–2 | p=0,02 | p=NS | p=0,025 |
| 25 min reperfuzji/krew tętnicza | 1503,9±67,4 | 23,6±12,5 | 48,8±6,7 |
| poziom istotności 1–3 | p=0,01 | p=0,05 | p=0,015 |
| przed niedokrwieniem/krew z zatoki wieńcowej | 1441,9±67,5 | 221,9±11,1 | 39,6±3,2 |
| niedokrwienie/krew z zatoki wieńcowej | 1401,0±64,1 | 237,2±11,9 | 45,1±5,1 |
| poziom istotności 4–5 | p=NS | p=0,011 | p=NS |
| 25 min reperfuzji/krew z zatoki wieńcowej | 1510±77,1 | 237,2±11,9 | 42,3±4,0 |
| poziom istotności 4–6 | p=0,02 | p=0,006 | p=NS |
| przed uruchomieniem CPB | 1575,2±84,6 | 262,1±15,8 | 32,6±3,3 |
| początek niedokrwienia/krew żylna | 1469,9±71,8 | 224,3±12,5 | 42,0±5,0 |
| poziom istotności 7–8 | p=0,006 | p=0,002 | p=0,029 |
| po niedokrwieniu/krew żylna | 1507±71,8 | 232,3±11,9 | 43,8±4,7 |
| poziom istotności 7–9 | p=NS | p=0,012 | p=0,02 |
| 25 min reperfuzji/krew żylna | 1518,0±74,6 | 233,9±13,4 | 50,7±8,0 |
| poziom istotności 7–10 | p=NS | p=0,05 | p=0,024 |

Tab. II. Ocena ekspresji antygenów CD11b, CD18, leu-8 na powierzchni PMN u pacjentów, u których użyto filtrowanej i niefiltrowanej kardiopleginy (wynik podany wraz z odchyleniem standardowym)

| | CD11b z i bez filtra | CD18 z i bez filtra | leu-8 z i bez filtra |
|---|-----------------------------|--------------------------|----------------------|
| przed niedokrwieniem/krew tętnicza | 1363,8±94,8 1367,7±103,0 | 225,3±13,0 221,4±21,5 | 33,7±3,9 36,8±4,3 |
| niedokrwienie/25 min reperfuzji/krew tętnicza | 1374,8±98,3 1374,8±98,4 | 216,9±14,9 228,4±17,9 | 34,7±4,5 40,7±5,3 |
| poziom istotności 1–2 | brak | brak | brak |
| przed niedokrwieniem/krew z zatoki wieńcowej | 1378,3±91,5 1431,0±107,0 | 211,6±14,9 232,9±16,5 | 38,6±5,3 40,5±3,9 |
| niedokrwienie/krew z zatoki wieńcowej | 1310,1±101,8 1358,3±99,6 | 220,1±13,3 222,2±17,2 | 42,0±7,6 48,2±7,0 |
| poziom istotności 4–5 | brak | brak | brak |

to niewielki procent rzutu minutowego serca. W krwi pobieranej z zatoki wieńcowej również uzyskano istotny statystycznie wzrost ekspresji antygenów po niedokrwieniu i 25 min reperfuzji, a za ten proces odpowiedzialny był niedokrwiony mięsień sercowy [4, 19]. Po 25 min reperfuzji zaobserwowaliśmy spadek ekspresji antygeny leu-8. Prawdopodobnie dochodzi do jej złuszczenia [24]. Badając krew żylną,

stwierdziliśmy spadek ekspresji CD11b i CD18 pod wpływem osocza pobranego po niedokrwieniu (efekt rozcieńczenia krwi krótko po włączeniu CPB). W kolejnych punktach pomiarowych obserwowaliśmy wzrost ekspresji tych antygenów. Nie wykazaliśmy istotnego statystycznie obniżenia ekspresji badanych antygenów po zastosowaniu filtrów leukocytarnych, chociaż tendencja taka była widoczna.

Tab. III. Ocena ekspresji antygenów CD11b, CD18, leu-8 na powierzchni PMN w kardioplegii krwistej przed filtrem i po filtrze leukocytarnym (wynik podany wraz z odchyleniem standardowym)

| | CD11b przed i za filtrem | CD18 przed i za filtrem | leu-8 przed i za filtrem |
|-----------------------------------|----------------------------|--------------------------|--------------------------|
| I donacja kardiopleginy krwistej | 1299,9±99,9 1244,3±85,1 | 209,2±12,3 192,5±12,4 | 47,7±8,0 51,1±10,4 |
| II donacja kardiopleginy krwistej | 1307,4±112,4 1245±99,3 | 199,5±14,9 205,6±11,8 | 44,7±6,1 42,9±5,4 |

Eliminacja PMN z kardiopleginy krwistej podawanej w trakcie zabiegu CABG nie zmniejsza uwalniania mediatorów aktywujących te komórki przez niedokrwiony mięsień sercowy, co tłumaczy brak istotnego zmniejszenia ekspresji badanych antygenów w kolejnych donacjach kardiopleginy. Celem pracy nie była jednak ocena kliniczna pacjentów poddanych CABG, zróżnicowanych filtracją kardiopleginy lub jej brakiem. Nie odnotowaliśmy zgonu ani poważnych powikłań. IABP nie było stosowane, a pacjenci byli wypisani w stanie ogólnym dobrym.

Wnioski

W przebiegu niedokrwienia i reperfuzji dochodzi do wzrostu ekspresji molekuł adhezyjnych CD11b, CD18 i leu-8 na PMN pod wpływem osocza uzyskanego z krwi tętniczej. Zmniejsza się ekspresja tych antygenów pod wpływem osocza uzyskanego z krwi żyłnej w przebiegu CABG. Zastosowanie filtrów leukocytarnych przy kardioplegii krwistej, w trakcie jej kolejnych podań, nie ma wpływu na ekspresję molekuł adhezyjnych PMN.

Piśmiennictwo

- Hess ML, Rowe GT, Caplan M, Romson JL, Lucchesi B. Identification of hydrogen peroxide and hydroxyl radicals as mediators of leukocyte-induced myocardial dysfunction. Limitation of infarct size with neutrophil inhibition and depletion. *Adv Myocardiol* 1985; 5: 159-162.
- Mc Cort JM. Oxygen-derived radicals: a link between reperfusion injury and inflammation. *Fed Proc* 1987; 46: 2402-2406.
- Siminiak T, Ozawa T. Neutrophil mediated myocardial injury. *Int J Biochem* 1993; 25, 2: 1147-1156.
- Suzuki I, Ogoshi N, Chiba M, Komatsu T, Moizumi Y. Clinical evaluation of leukocyte-depleting blood cardioplegia filter (BC1B) for elective open-heart surgery. *Perfusion* 1998; 13: 205-210.
- Kishimoto TK, Warnock RA, Jutila MA, Butcher EC, Lane C, Anderson DC, Smith CW. Antibodies against human neutrophil LECAM-1 (LAM-1/Leu-8/DREG-56 antigen) and endothelial cell ELAM-1 inhibit a common CD-18-independent adhesion pathway in vitro. *Blood* 1991; 78: 805-811.
- Schmid-Schönbein GW, Sung KLP, Tozeren H, Skalak R, Chien S. Passive mechanical properties of human leukocytes. *Biophys J* 1981; 36: 243-256.
- 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* 1983; 67, 5: 1016-1023.
- Ma XL, Weyrich AS, Lefer DJ, Buerke M, Albertine KH, Kishimoto TK, Lefer AM. Monoclonal antibody to L-selectin attenuates neutrophil accumulation

- and protects ischemic reperfused cat myocardium. *Circulation* 1993; 88: 649-658.
- Fremes SE, Christakis GT, Weisel RD, Mickle DA, Madonik MM, Ivanov J, Harding R, Seawright SJ, Houle S, McLaughlin PR, et al. A clinical trial of blood and crystalloid cardioplegia. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1984; 88: 726-741.
 - Loop FD: Crystalloid versus blood cardioplegia. *Sem Thorac Cardiovasc Surg* 1993; 5: 122-123.
 - Chello M, Mastroberro P, Marchese AR, Maltese G, Santangelo E, Amantea B. Nitric oxide inhibits neutrophil adhesion during experimental extracorporeal circulation. *Anesthesiology* 1998; 89, 2: 443-448.
 - Macey MG, McCarthy DA, Trivedi UR, Venn GE, Chambers DJ, Brown KA, et al. neutrophil adhesion molecule expression during cardiopulmonary bypass: a comparative study of roller and centrifugal pumps. *Perfusion* 1997; 12, 5: 293-301.
 - Chello M, Mastroberro P, Romano P. Complement and neutrophil activation during cardiopulmonary bypass: a randomized comparison of hypothermic and normothermic circulation. *Eur J Cardiothorac Surg* 1997; 11, 1: 162-168.
 - Kalawski R., Majewski M., Kaszkowiak E, Wysocki H, Siminiak T. Transcardiac release of soluble adhesion molecules during coronary artery bypass grafting. *Chest* 2003; 123, 5: 1355-1360.
 - van de Watering LM, Hermans J, Houbiers JG, van den Broek PJ, Bouter H, Boer F, Harvey MS, Huysmans HA, Brand A. Beneficial effects of leukocyte depletion of transfused blood on postoperative complications in patients undergoing cardiac surgery. *Circulation* 1998; 97: 562-568.
 - Webb DP, Altenbern CP, Tritt C, et al. Pulmonary implication of filtering various mediators of morbidity found in salvaged blood. *J Extra Corpor Technol* 1998; 20: 108-114.
 - Sawa Y, Taniguchi K, Kadoba K, et al. Leukocyte depletion attenuates reperfusion injury in patients with left ventricular hypertrophy. *Circulation* 1993; 9: 1640-1646.
 - Civelek A, Roth M, Lemke P, Klovekorn WP, Bauer EP. Leukocyte-depleted secondary blood cardioplegia attenuates reperfusion injury after myocardial ischemia. *Thorac Cardiovasc Surg* 2003; 5, 51: 249-254.
 - Bugajski P, Kalawski R, Baliński M, Wysocki H, Olszewski R, Szczepanik A, Siminiak T. Coronary artery bypass grafting: role of endothelin-1. *Thorac Cardiovasc Surg* 1999; 47: 144-147.
 - Siminiak T, Egdell RM, Dye JF, et al. Soluble adhesion molecules ICAM-1 and E-selectin release during myocardial infarction and coronary angioplasty. *J Mol Cell Cardiol* 1995; 27, 6: A252.
 - Kalawski R, Bugajski P, Baliński M, et al. Coronary artery bypass grafting: plasma mediated neutrophil superoxide anion production. *Kardiologia Pol* 1999; 7: 35-38.
 - Wysocki H, Poniżyński A, Wierusz-Wysocka B, Brocki Z, Czarnecki R. Cardiopulmonary bypass-induced complement activation. Evidence for C5a participation. *Int J Artif Organs* 1982; 5: 305-308.
 - Bennett WR, Yawn DH, Migliore PJ, Young JB, Pratt CM, Raizner AE, Roberts R, Bolli R. Activation of the complement system by recombinant tissue activator. *J Am Coll Cardiol* 1987; 10: 627-632.
 - Le Deist F, Menasche P, Bel A, Lariviere J, Piwnica A, Bloch G. Patterns of changes in neutrophil adhesion molecules during normothermic cardiopulmonary bypass. A clinical study. *Eur J Cardiothorac Surg* 1996; 10, 4: 279-283.