Archive of SID

Physiology and Pharmacology, 13 (2), 199 - 208
Summer 2009 [Article in Persian]

Physiology and Pharmacology

Quantitative evaluation of hemodynamic parameters during acute alveolar hypoxia and hypercapnia in the isolated ventilated-perfused rabbit lung

Farzaneh Ketabchi[1], Mostafa Shid-Moosavi[1], Norbert Weissmann[3], Gholam A. Dehghani[1,2*]

1. Department of Physiology, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran
2. Medicinal & Natural Products Chemistry Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran
3. University of Giessen Lung Center (UGLC), Medical Clinic II, Justus-Liebig-University, 35392 Giessen, Germany

Received: 13 April 2009 **Revised: 1 Jul 2009** **Accepted: 14 Jul 2009**

Abstract

Introduction: Acute respiratory disorders such as obstructive pulmonary diseases and hypoventilation may lead to alveolar hypoxia and hypercapnia. The effect of these events on the pulmonary vascular beds remains controversial. The aim of this study was to establish an isolated perfused lung setup and investigate the effects of alveolar hypoxia and hypercapnia on pulmonary vascular resistance.

Methods: White New Zealand rabbits were anaesthetized, heparin was administered as anticoagulant and trachea was cannulated. Then the lung was exposed and perfused with Krebs solution through a pulmonary artery cannula. The ventilated-perfused lung was carefully excised from the chest and the healthy lungs were randomly divided into three groups (n = 7 each group). Ventilation was performed for 30 min with normoxic-normocapnic, hypoxic-normocapnic, or hypoxic-hypercapnic gas mixtures. The percent changes of pulmonary vascular resistance per min (%PVR) and their maximum values were evaluated.

Results: Hypoxic-normocapnic ventilation resulted in an initial sharp rise in PVR that reversed to a slow decline after 8 min of exposure. After 12 min of exposure, a second steady rise in PVR occurred and continued until the end of the experiment. The rate of rise of PVR during hypoxic-hypercapnia was steeper (17.3 ± 2.4% /min) compared to hypoxic-normocapnia (8.86 ± 1.6% /min), but the maximum increases observed in PVR were similar in both conditions.

Conclusion: In the isolated ventilated perfused lung, acute alveolar hypoxia had a complex influence on PVR and the combination of hypoxia with hypercapnia transiently strengthened PVR without affecting its maximum level.

Keywords: Isolated lung; Vascular resistance; Hypoxia; Hypercapnia; Rabbit.

* Corresponding author e- mail: dehghang@sums.ac.ir
Available online @: www.phypha.ir/ppj

www.SID.ir

Archive of SID

فیزیولوژی و فارماکولوژی ۱۳ (۲)، ۱۹۹ – ۲۰۸
تابستان ۱۳۸۸

روش اندازه‌گیری پارامترهای همودینامیک در زمان هیپوکسی و هیپرکپنی حاد حبابچه‌ای در ریه ایزوله تهویه و پرفیوز شده در خرگوش

فرزانه کتابچی[۱]، سید مصطفی شید موسوی[۱]، نوربت ویزمن[۳]، غلام‌عباس دهقان[۲،۱*]
۱. گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران
۲. مرکز تحقیقات شیمی داروئی و گیاهی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران
۳. دانشگاه UGLC ،کلینیک پزشکی شماره ۲، گیسن، آلمان

دریافت: ۲۴ فروردین ۱۳۸۸ بازبینی: ۱۰ تیر ۱۳۸۸ پذیرش: ۲۳ تیر ۱۳۸۸

چکیده

مقدمه: اختلالات حاد تنفسی مانند بیماری‌های انسدادی ریه و کاهش تهویه ریه ممکن است به صورت هیپوکسی و هیپرکپنی حبابچه‌ای بروز کرده که اثرات متناقضی بر عروق ریوی دارد. هدف از مطالعه حاضر، راه اندازی مدل (setup) ریه ایزوله و پرفیوز شده و بررسی اثرات هیپوکسی و هیپرکپنی حبابچه‌ای روی مقاومت عروق ریه می‌باشد.

روش‌ها: مطالعه بر روی ریه خرگوش سفید نیوزلندی انجام شد. بعد از بیهوشی حیوان و تزریق هپارین جهت جلوگیری از تشکیل لخته، تراشه حیوان کانول گذاری شد. سپس قفسه سینه باز و شریان ریوی را کانول گذاری و ریه پرفیوز و تهویه شده به دقت از قفسه سینه خارج شد. ریه‌های سالم به صورت تصادفی به سه گروه ۷ تائی تقسیم گردیدند. هر ریه به مدت ۳۰ دقیقه با گاز نورموکسیک-نورموکپنیک، یا هیپوکسیک-نورموکپنیک و یا هیپوکسیک-هیپرکپنیک تهویه شده و تغییرات مقاومت شریان ریوی در دقیقه و ماکزیمم مقاومت مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: تهویه ریه ایزوله با گاز هیپوکسیک-نورموکپنیک ابتدا مقاومت شریان ریه را به سرعت افزایش داده که بعد از ۸ دقیقه به آهستگی شروع به کاهش کرد. بعد از ۱۲ دقیقه سیر کاهشی معکوس شده و به تدریج تا پایان آزمایش افزایش پیدا کرد. در زمان تهویه ی ریه با گاز هیپوکسیک- هیپرکپنیک ابتدا مقاومت عروقی به سرعت (۲/۴±۳/۱۷درصد در دقیقه) در مقایسه با گروه هیپوکسیک-نورموکپنیک (۱/۶±۸/۸۶ درصد در دقیقه) افزایش یافته در حالی که ماکزیمم افزایش هر دو گروه مشابه بود.

نتیجه‌گیری: در ریه ایزوله، تهویه و پرفیوز شده خرگوش، اثر هیپوکسی حاد حبابچه ای بر مقاومت عروق ریوی پیچیده است و ترکیب هیپوکسی و هیپرکپنی به صورت گذرا مقاومت عروق ریه را بدون آنکه برماکزیمم آن اثر قابل ملاحظه‌ای داشته باشد زیاد می‌کند.

واژه‌های کلیدی: ریه ایزوله، مقاومت عروقی، هیپوکسی، هیپرکپنی، خرگوش.

مقدمه

بیماری‌های تنفسی از جمله بیماری‌های بسیار شایع در جهان بوده و همواره تلفات زیادی را به خود اختصاص می‌دهد. بر طبق آخرین گزارشات سازمان بهداشت جهانی روزانه چندین میلیون نفر ازبیماری‌های حاد و مزمن تنفسی رنج می‌برند که از میان آنها، بیماری‌های انسدادی مزمن ریوی (COPD) و آسم اصلی‌ترین عامل ناتوانی و مرگ در همه سنین می‌باشند [۳۰،۲۶]. یکی از عمده ترین مشکلات بیماری‌های تنفسی،

* نویسندهٔ مسئول مکاتبات: dehghang@sums.ac.ir
وبگاه مجله: www.phypha.ir/ppj

www.SID.ir

Archive of SID

کاهش فشار اکسیژن (هیپوکسمی) و افزایش فشار دی‌اکسیدکربن (هیپرکپنی) خون شریانی به دلیل کاهش تهویه حبابچه‌ای (hypoventilation) می‌باشد [۱۲].

در شرایط فیزیولوژیک هیپوکسی حبابچه‌ای به طور موضعی با ایجاد انقباض عروق ریوی (hypoxic pulmonary vasoconstriction, HPV) موجب جابجائی خون از نواحی کم اکسیژن ریه به نواحی که تهویه بهتری دارند شده و در نهایت با تنظیم نسبت تهویه به جریان خون ریوی (ventilation/perfusion; V/Q)، بدون اینکه بار اضافی بر قلب تحمیل نماید و یا تغییر قابل توجهی در فشار شریان ریوی ایجاد کند، تا حد زیادی به بهبود میزان اکسیژن خون شریانی کمک می‌کند [۱۳]. چنانچه هیپوکسی حبابچه‌ای به مدت طولانی در نواحی وسیعی از ریه اتفاق بیافتد، مثل زندگی در ارتفاعات و آسم مزمن، هیپرتانسیون ریوی آشکار شده که خود مشکلات قلبی عروقی را به دنبال خوهد داشت [۲۲]. علی‌رغم گذشت بیش از ۶۰ سال از کشف پدیده HPV توسط دو دانشمند معروف Von Euler و Lilgestrand [۵] ، هنوز مکانیسم‌های درگیر در این پدیده به طور کامل شناخته نشده اند. به عنوان مثال هنوز در رابطه با گیرنده‌های (sensors) اولیه و شروع کننده این پدیده اتفاق نظر وجود ندارد. گروهی این پاسخ را یک پدیده پیچیده معرفی می‌کنند و معتقدند که مکانیسمهای متعددی در این فرایند درگیر می‌باشند [۱۵،۲۴]. از طرفی مطالعات انجام شده در رابطه با اثرات هیپرکپنی بر عروق ریوی بر خلاف اثر هیپوکسی متناقض بوده و از انقباض عروقی در انسان، خرگوش و خوکچه هندی [۲۷،۱۱،۱] تا پاسخ‌های مخلوط در موش صحرائی، گربه و سگ گزارش شده است [۲۳،۲۰،۴،۲]. این نتایج متناقض ممکن است به علت تفاوت شرایط آزمایش، پاسخ متفاوت ریه در داخل و یا در خارج از بدن، تفاوت در گونه‌های حیوانی، سطح دی اکسید کربن بکار شده و طول دوره آزمایش باشد. لذا با وجود این همه تناقض در رابطه با اثر عروقی هیپرکپنی، هنوز بین دانشمندان در گیر در این پدیده اتفاق نظر وجود ندارد.

گرچه اعصاب خودمختار عامل اصلی کنترل کننده جریان خون ریوی نمی‌باشند، ولی اثرات تحریک سیستم سمپاتیک را بر عروق ریوی از طریق تحریک کمورسپتورهای محیطی و مرکزی در زمان هیپوکسی و یا هیپرکپنی نمی‌توان نادیده گرفت [۱۴،۱۰]. همچنین احتمال تداخل هورمون‌ها و مواد ناشناخته‌ی دیگری که توسط بافت‌هائی غیر از سیستم ریوی در پاسخ به هیپوکسی و هیپرکپنیا آزاد می‌شوند هم وجود دارد. بنابراین در سالیان اخیر توجه زیادی به روش‌های مطالعاتی شده است که تا حد امکان فاکتورهای مداخله کننده خارج از سیستم ریوی را حذف نموده و واکنش‌های مستقیم عروق ریوی را به اختلال‌های گازهای تنفسی مورد مطالعه قرار دهند. یکی از این روش‌ها بررسی پارامترهای همودینامیک و مکانیسم‌های درگیر در ریه ایزوله شده می‌باشد. از زمانی که این روش توسط Knowlton و Starling در ۱۹۱۲ به کار گرفته شد [۸] مدل‌های متنوعی پیشنهاد شده است که مطلوب‌ترین آنها روش ریه ایزوله‌ی تهویه و پرفیوز شده حیوانی می‌باشد. از مهمترین مزیت‌های این روش این است که ارتباطات بین سلولی و قطبیت سلولی این ارگان حفظ شده و امکان بررسی‌های همودینامیک و متابولیک بافت ریه، بدون واهمه از عدم تحمل حیوان در مقابل تغییرات شدید گازهای تنفسی وجود دارد [۱۸].

جهت مطالعه عملکرد ریه در شرایط فیزیولوژی، مدل (setup) ریه ایزوله در بخش فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی شیراز طراحی و راه اندازی شده و اثرات جدا و توام هیپوکسی و هیپرکپنی حبابچه‌ای بر پاسخ عروقی بدون دخالت سیستم‌های دیگر، به خصوص سیستم عصبی، مورد مطالعه قرار گرفت.

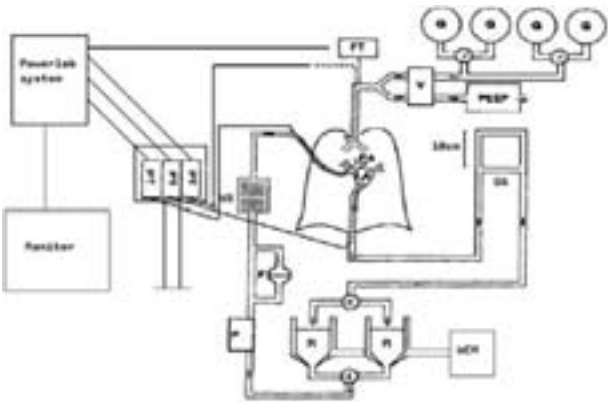
مواد و روش‌ها

مطالعه بر روی ریه خرگوش سفید نیوزلندی و بر اساس مقررات آئین نامه کمیته اخلاق پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شیراز انجام شده است. حیوانات با محدوده وزنی ۳/۲-۲/۸ کیلوگرم از حیوان خانه دانشگاه تهیه و در خانه حیوانات گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی در دمای ۲۴-۲۲ درجه سانتیگراد و دوره ۱۲ ساعته روشنائی- تاریکی در شرایطی که دسترسی آزاد به آب و مواد غذائی داشتند نگهداری شدند.

در روز آزمایش ورید مارجینال گوش حیوان کانول‌گذاری شده و جهت جلوگیری از ایجاد لخته و استاز خون در ریه، هپارین به میزان ۱۵۰۰ U/kg به صورت وریدی تزریق شده و بلافاصله با تزریق کتامین (۵۰-۳۰mg/kg) و زایلازین (۱۰-۶ mg/kg) حیوان به طور عمیق بی‌هوش می‌شد. پس از

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱- شماتیک ریه ایزوله، تهویه و پرفیوز شده خرگوش را کـه در ایـن مطالعـه بکار گرفته شده نشان می‌دهد. این شکل مدل اصلاح یافته Seeger می‌باشد [۱۸، ۱۹]

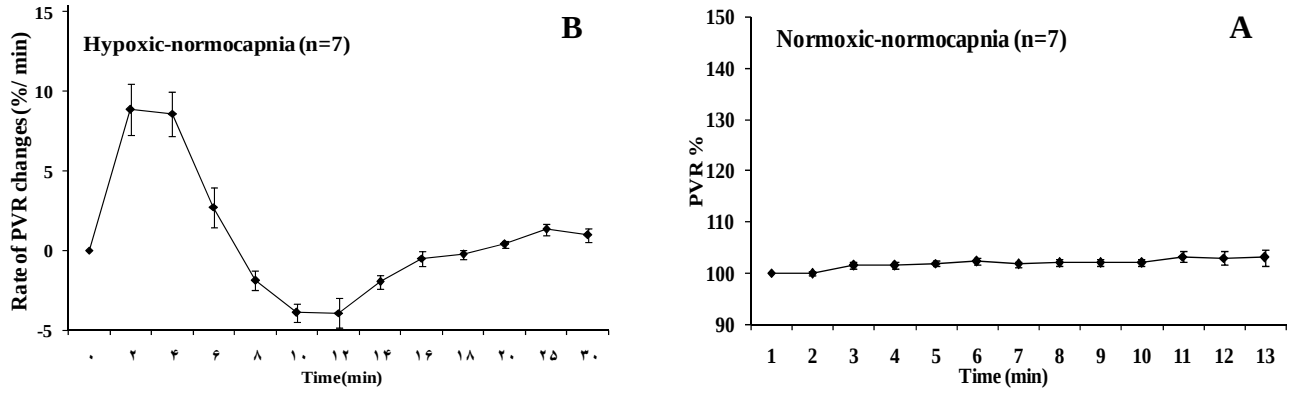
LA: left atrium; G: gas supply; B: bubble trap; F: filter; FT: force transducer; T: trachea; P: perfusion pump; PA: pulmonary artery; PT: pressure transducer; V: ventilator; WS: warming supply; WCM: warming-cooling machine; OA: Obstruction area for hydrostatic challenges.

کـانول گـذاری تراشـه، حیـوان بـا کمـک پمـپ تنفسـی (SAR-830/P, USA) با حجم جاری ml/animal ۳۰ و تعداد تـنفس min/ ۳۰ از هـوای اتـاق تهویـه شـد. پـس از حصـول اطمینان از تهویه مناسب، قفسـه سـینه را از خـط وسـط (وسـط استرنوم) یک برش طولی داده و بـا دقـت و بـا کمـک رترکتـور مخصوص طوری باز می‌شد تا به راحتی امکان دسترسی به ریـه و ضمائم آن فـراهم گـردد. بعـد غـده تیمـوس را برداشـته و در پریکارد برشی ایجاد نموده تا عـلاوه بـر قلـب، ریشـه آئـورت و شریان ریوی آشکار گردد. با استفاده از پنس و قیچی سـر خـم و نوک کند به آرامی و با دقت بالا عروق مـذکور از یکـدیگر جـدا گردیدند. سپس شریان ریوی را با کانول مخصوص (قطر داخلـی ۳ میلی مترکه قبلا با محلول کربس ۴ درجه سانتیگراد پر شـده) کانول گذاری نموده و بلافاصله به طور مـداوم بـا کمـک پمـپ پریسـتالتیک (Vera Stoelting, USA) از محلـول کـربس بـا جریان کم، معادل۲۰ میلی لیتر در دقیقه، پرفیوز مـی‌شـد. بـرای جلوگیری از ادم ریوی به طور همزمان با برقراری جریان ریـوی نوک بطن چپ بریده شده تا مایع به راحتی از ریه خـارج گـردد. تمامی مراحل کانول گذاری باید با دقت کامل انجام شـود تـا از ورود حبـاب هـوا بـه سیسـتم پرفیـوز کننـده (شـکل ۱) و ریـه جلوگیری شود. با انتخاب دمای پائین (۴ درجـه سـانتی‌گـراد) در شروع آزمایش متابولیسم سلولی ریه کم شده و با جریان و فشـار کم از ایجاد ادم ریوی جلوگیری می‌شـود. همزمـان بـا برقـراری جریان ریوی عمل تهویه با گاز نورموکسیک–نورموکپنیک (۲۱٪ اکسیژن، ۵/۳٪ دی اکسید کـربن در نیتـروژن) انجـام شـده تـا حبابچه‌ها و مجاری هوائی دچار کلاپـس نشـوند و pH محلـول کربس و به تبع آن pH محیط داخلی ریـه در محـدوده طبیعـی ۷/۳۵ تا ۷/۴۰ حفظ شود.

بعد از اطمینان از برقراری و مناسب بـودن جریـان و تهویـه ریوی، ریه و باقیمانده قلب را بـا احتیـاط کامـل از داخـل قفسـه سـینه حیـوان خـارج نمـوده، بافـت‌هـای اضـافی جـدا و ریـه و کانول‌های متصل به آن به طور موقـت روی یـک پایـه آویـزان می‌شد. به دلیل حساس بودن بافت ریه و احتمال ایجاد ادم، این مرحله باید با دقت زیاد انجام شود تا با تماس دست ویـا وسـائل جراحی کوچکترین آسیبی به بافت ریه وارد نشود. در مرحله بعـد بطن‌ها جدا شده و با برداشتن دریچه میترال یک کـانول خمیـده (با قطر داخلی ۴ میلی‌متر) در محل ورودی دهلیـز و بطـن چـپ قرار داده و از باقیمانده قلب چپ بـه عنـوان نگهدارنـده اسـتفاده نموده و با کمک نخ جراحی کانول‌ها در محل ثابت می‌شدند. در این مرحله ریه‌ها به دقت بررسی شده تـا از عـدم وجـود علائـم آتلکتازی، هموستاز خـون و عفونـت اطمینـان حاصـل شـود. در صورت وجود هر یک از علائم ذکر شده ریه‌ها غیر قابل اسـتفاده بوده و انجام آزمایش متوقف می‌گردید. در صورت سـالم بـودن، ریه‌ها را جهت انجام مراحل بعدی در محفظه دو جداره شیشه‌ای (قفسه سینه مصنوعی، Humidified chamber) قرار داده و به منظور حذف کامل سلول‌های خـونی موجـود در عـروق ریـه بـا کمک جریان یکطرفه (حـداقل یـک لیتـر محلـول کـربس نیـاز می‌باشد) سیستم را شسته و به طور همزمان و بـه آرامـی دمـای محلول و کل سیستم تا ۳۸/۵ درجه سـانتیگراد گـرم و در طـول دوره آزمایش در این حد حفظ می‌شد. بعد از شستشوی کامل بـه آرامی جریان محلول کربس از ۲۰ میلی لیتـر در دقیقـه بـه ۱۵۰ میلی‌لیتر در دقیقه افزایش یافته و با تنظیم فشار دهلیز چپ در حد ۲ mmHg و PEEP (positive end expiratory pressure) در حد ۲ cmH_2O توزیع جریان مـایع در ریـه تقریبـا یکنواخـت می‌شد (نزدیک ناحیه ۳). حد ۲ cmH_2O برای PEEP بر اساس نتایج آزمایشات pilot در نظر گرفته شد تا کمترین اختلاف فشار گازی بین حبابچه‌ها و مویرگ‌های ریه وجود داشته باشـد. بـرای طراحی مدل ریه پرفیوز شـده خرگـوش در ایـن مرکـز از مـدل

www.SID.ir

Archive of SID



شکل۲- درصد مقاومت عروقی در گروه نورموکسیک-نورموکپنیک (A) وسرعت تغییرمقاومت عروق ریه در زمانی که با گاز هیپوکسیک- نورموکپنیک (اکسیژن ۳٪، دی اکسید کربن ۵/۳٪ در نیتروژن) تهویه می‌شود (B). * معنی‌دار بودن ($P<0.05$) نسبت به مقاومت در زمان تهویه ریه با گاز نورموکسیک-نورموکپنیک (اکسیژن ۲۱٪، دی اکسیدکربن ۵/۳٪ در نیتروژن) را نشان می‌دهد.

Seeger و همکاران [۱۹،۱۸] که بر اساس شرایط و وسائل موجود در آزمایشگاه تغییراتی در آن لحاظ شده بود استفاده شده است (شکل ۱ مدل شماتیک ریه ایزوله را در مطالعه حاضر نشان می‌دهد). در این سیستم ریه به صورت مداوم تهویه و با مایع مشابه پلاسما و بدون گلبول‌های خون (محلول کربس) پرفیوز می‌شد. در طول دوره آزمایش با استفاده از دستگاه پاور لب و ترانسدیوسرهای فشار متصل به کانول‌های شریان ریوی، دهلیز چپ و تراشه، فشارهای مورد نظر اندازه گیری و مانیتور می‌شد. همچنین ریه و ضمائم آن به یک ترانسدیوسر نیرو آویزان شده تا بتوان به طور مداوم تغییرات وزن ریه را، که خود به عنوان مشخصه ادم می‌باشد از طریق دستگاه پاور لب اندازه‌گیری و کنترل کرد.

یکی از مشکلات بزرگ کار با ریه ایزوله به خصوص وقتی جریان ریوی بدون استفاده از خون برقرار می‌شود ایجاد ادم ریوی به دلیل نفوذپذیری بالای مویرگ‌های ریه به مواد موجود در محلول پرفیوز شده می‌باشد که پاسخ‌های همودینامیک ریه را تحت الشعاع قرار می‌دهد. بعلاوه چون سیستم لنفاوی ریوی در خارج از بدن کارائی ندارد نمی‌تواند مانع بروز ادم شود. لذا فشار اسمزی کلوئیدی محلول پرفیوز کننده با حفظ تعادل نیروهای استارلینگ نقش فوق‌العاده مهمی در جلوگیری از ادم ریوی در مدل ریه ایزوله ایفا می‌کند. امروزه از مواد با وزن مولکولی بالا که با بافت ریه سازگاری داشته و در واکنش‌های ریه به تغییرات گازهای تنفسی دخالتی ندارند استفاده می‌شود. در مدل ریه ایزوله به کار گرفته شده در این مرکز مواد مختلفی با وزن مولکولی بالا و سازگار با سیستم ریوی نظیر آلبومین، دکستران با وزن مولکولی ۷۰۰۰۰ مورد آزمایش قرار گرفته و در نهایت از آمیلوپکتین که علاوه بر اقتصادی بودن از ایجاد ادم در ریه ایزوله جلوگیری می‌کند استفاده می‌شود.

سه ترکیب مختلف گازی به شرح زیر از سه کپسول، اکسیژن, دی‌اکسید کربن و نیتروژن به کار برده شد. برای تهیه این مخلوط گازها از فلومترهای گازی ساخته شده در بخش فیزیولوژی استفاده شده و نسبت‌های مختلفی از گازها تهیه شده و با استفاده از دستگاه blood gas analyzer (Easy blood gas, USA) غلظت‌های دلخواه مورد بررسی و تایید قرار می‌گرفت. این مخلوط گازها به ترتیب شامل گاز نورموکسیک-نورموکپنیک (اکسیژن ۲۱٪، دی اکسیدکربن ۵/۳٪ در نیتروژن)، گاز هیپوکسیک-نورموکپنیک (اکسیژن ۳٪، دی اکسید کربن ۵/۳٪ در نیتروژن) و گاز هیپوکسیک- هیپرکپنیک (اکسیژن ۳٪، دی اکسید کربن ۱۱٪ در نیتروژن) بودند. محلول کربس مورد استفاده در این مطالعه دارای ۵۰ g hydroxy ethyl amylopectin/1lit، mM NaCl ۱۲۰، mM KH_2PO_4 ۱/۱، mM $MgPO_4$ ۱/۳، mM KCl، ۴/۳ mM $CaCl_2$، ۲/۴ mM glucose، ۱۳/۳ mM، بوده و pH محلول با اضافه کردن تدریجی $NaHCO_3^-$ در محدوده طبیعی ۷/۴۰-۷/۳۵ تنظیم می‌شد [۲۵].

جهت اطمینان از پاسخ‌دهی طبیعی ریه ۳۰ دقیقه بعد از آنکه ریه تهویه و پرفیوز می‌شد اگر شرایط کاملا ثابت و وزن و شکل ظاهری ریه تغییر نمی‌کرد برای بررسی پاسخ انقباضی به هیپوکسی به مدت ۱۰ دقیقه با گاز هیپوکسیک تهویه شده آنهائی‌که دارای پاسخ غیرطبیعی بودند از مطالعه حذف می‌شدند.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۱- فشارهای اکسیژن، دی اکسید کربن و pH در محلول کربس در شرایط آزمایشی مختلف در ریه ایزوله. داده‌ها به صورت میانگین آزمایشات ± خطای معیار استاندارد ارائه شده است. * دلالت بر معنی دار بودن نسبت به گروه نورموسیک- نورموکپنیا با $P<0.05$ در نظر گرفته شده است.

Table1. PO2, PCO2, pH, and [HCO3-] in the perfusate during each experimental condition

Parameters	Normoxic-normocapnia	Hypoxic-normocapnia	Hypoxic-hypercapnia
PO_2 (mmHg)	157.7±2.3	51±5.6	61,8±1.4*
PCO_2 (mmHg)	36.7±0.1	37.1±0.1	72±0.5*
pH	7.38±0.00	7.36±0.00	7.09±0.00*
HCO_3^- (mmol/L)	21±0.1	20.35±0.2	21.08±0.1

سپس ریه‌هائیکه پاسخ طبیعی داشتند مجددا به مدت ۱۵ دقیقه با گاز نورموکسیک تهویه شده و بر اساس برنامه آزمایش به سه گروه ۷ تایی تقسیم شده و به صورت تصادفی به مدت ۳۰ دقیقه با گاز نورموکسیک-نورموکپنیک، یا۳۰ دقیقه با گاز هیپوکسیک-نورموکپنیک و یا ۳۰ دقیقه با گاز هیپوکسیک-هیپرکپنیک تهویه می‌شدند. با توجه به متفاوت بودن مقادیر پایه فشار شریانی، بر اساس جریان محلول کربس، فشار دهلیز چپ و PEEP ثابت انتخاب شده، مقایسه تغییرات فشار بین گروه‌های مورد آزمایش مشکل بوده لذا در این روش درصد تغییرات فشار شریانی محاسبه شده و بجای تغییرات فشارهای مطلق مورد استفاده قرار می‌گرفت. ازطرفی چون جریان محلول کربس در طول آزمایش ثابت نگاه داشته می‌شد تغییرات فشار شریانی ثبت شده مؤید تغییرات مقاومت عروق ریوی (pulmonary vascular resistance; PVR) بوده و به عنوان اندیکس پاسخ‌های عروقی در نظر گرفته می‌شد. در این شرایط تغییرات مقاومت در واحد زمان (دقیقه) و ماکزیمم مقاومت مورد ارزیابی قرار گرفته و به طور همزمان تغییرات وزن ریه به عنوان پارامتر مشخصه ادم ریوی مورد بررسی قرار می گرفت.

کلیه داده‌های این تحقیق به صورت میانگین ± خطای معیار استاندارد ارائه شده است. برای مقایسه آماری نتایج از One way ANOVA و post hoc از SNK استفاده شده است. همچنین برای مقایسه بین دو گروه از t-test استفاده شده است و تفاوت آماری در میانگین نتایج در موارد $P<0.05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

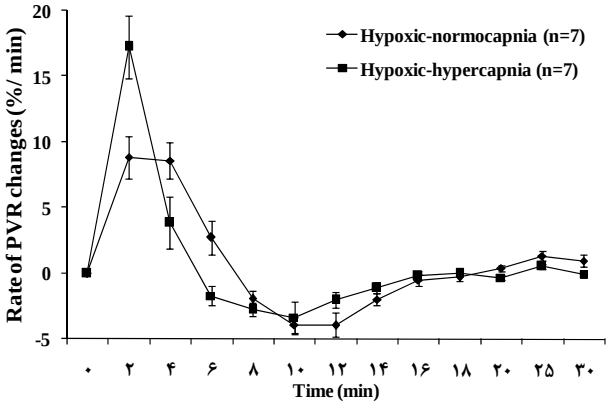
یافته‌ها

نتایج آنالیز فشار گازهای اکسیژن، دی اکسید کربن و pH محلول کربس در جدول ۱ آورده شده است. همانطوریکه در جدول مشخص شده pH محلول کربس در شرایط نورموکسیک- نورموکپنیک و هیپوکسیک-نورموکپنیک در محدوده ۷/۳۶ و ۷/۳۸ بوده و تفاوت معنی‌داری بین آنها وجود نداشت. همچنین بین فشار اکسیژن دو گروه هیپوکسیک-نورموکپنیک و هیپوکسیک- هیپرکپنیک تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (۵۱±۶mmHg در مقابل ۶۲±۱). در حالی که میانگین فشار دی اکسید کربن (۷۲±۱mmHg) و pH (۷/۰۹±۰/۰۰) در گروه هیپرکپنیک به طور معنی‌داری بیشتر از گروه‌های هیپوکسیک-نورموکپنیک و نورموکسیک- نورموکپنیک بود (جدول ۱).

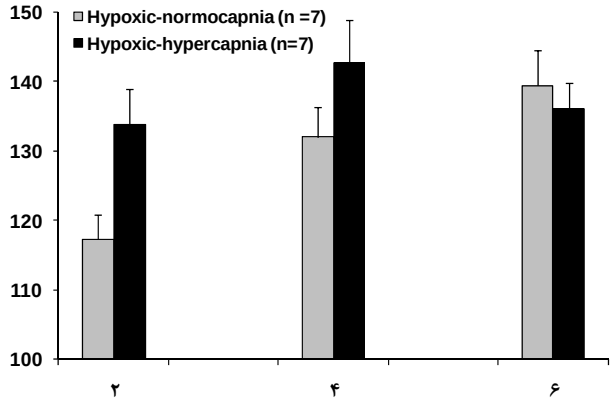
فشار شریان ریوی در تمامی گروه‌های آزمایشی در شرایط پایه و با جریان ثابت ۱۵۰ ml/min و فشار دهلیز چپ ۲ mmHg به طور متوسط ۳۳ mmHg /۱± ۱۰/۰۵ بود. تهویه ریه با گاز نورموکسیک-نورموکپنیک در طول دوره آزمایش تغییری در فشار شریانی و مقاومت عروق ریه (PVR) ایجاد نکرد. شکل ۲ تغییرات PVR در زمانی که ریه‌ها با گاز نورموکسیک-نورموکپنیک (A) و هیپوکسیک-نورموکپنیک (B) تهویه می‌شدند را نشان می‌دهد. تهویه ریه با گاز نورموکسیک-نورموکپنیک اثری را در مقاومت عروق ریه ایجاد نکرد. در پاسخ به هیپوکسی PVR در دقایق ۲ و ۴ به میزان ۱/۶±۸/۸۶ و ۱/۴±۸/۶ درصد در دقیقه افزایش یافت. در دقیقه ۶ سرعت افزایش مقاومت به آرامی کم شده و سرانجام به حد ۱/۲۴±۲/۷ درصد در دقیقه رسید. در حالی که ماکزیمم پاسخ با دقیقه چهارم تفاوت معنی‌داری نداشت (شکل ۴). جهت و سرعت تغییر مقاومت از دقیقه ۸ به بعد معکوس شده و در دقایق۱۰ و ۱۲ با حداکثر سرعت در جهت کاهش پیش رفت و به ۰/۹±۳/۹- و۰/۶±۳/۹- درصد در دقیقه رسید. بعد از دقیقه ۱۴ سرعت کاهش مقاومت کم شده و در دقیقه ۲۰ به حد صفر رسید. مقاومت از دقایق ۲۵ و ۳۰ مجددا به آرامی شروع به افزایش کرده و تا پایان آزمایش (۳۰ دقیقه) ادامه یافت. شکل ۳ سرعت تغییر در PVR را در گروهی که هیپوکسیک-هیپرکپنیک بودند

www.SID.ir

Archive of SID



شکل۳- سرعت تغییر مقاومت عروق ریه در زمانی که با گاز هیپوکسیک-نورموکپنیک (اکسیژن ۳٪، دی‌اکسید کربن ۵/۳٪ در نیتروژن) و یا هیپوکسیک-هیپرکپنیک (اکسیژن ۳٪، دی‌اکسید کربن ۱۱٪ در نیتروژن) تهویه می‌شوند را مقایسه می‌کند. * معنی‌دار بودن ($P<0.05$) نسبت به مقاومت در زمان تهویه ریه با گاز هیپوکسیک-نورموکپنیک را نشان می‌دهد.



شکل۴- ماکزیمم مقاومت عروقی در زمانی که با گاز هیپوکسیک-نورموکپنیک (اکسیژن ۳٪، دی‌اکسید کربن ۵/۳٪ در نیتروژن) و یا هیپوکسیک- هیپرکپنیک (اکسیژن ۳٪، دی‌اکسید کربن ۱۱٪ در نیتروژن) تهویه می‌شدند را مقایسه می‌کند. * معنی‌دار بودن ($P<0.05$) نسبت به مقاومت در زمان تهویه ریه با گاز هیپوکسیک-نورموکپنیک را نشان می‌دهد.

را با گروه هیپوکسیک-نورموکپنیک مقایسه می‌کند. در گروهی که با گاز هیپوکسیک-هیپرکپنیک تهویه می‌شدند سرعت تغییر در مقاومت در دقیقه دوم ۱۷/۳±۲/۴ درصد در دقیقه بود که به طور معنی‌داری بیش از گروه هیپوکسیک-نورموکپنیک در زمان مشابه بود. در دقیقه چهارم این افزایش سرعت به شدت کاهش یافته (۳/۹±۲ درصد در دقیقه) و در دقیقه ۶ جهت و سرعت تغییر مقاومت معکوس شد (۱/۷±۰/۷- درصد در دقیقه). این در حالی است که ماکزیمم افزایش مقاومت دو گروه هیپوکسیک-نورموکپنیک تفاوتی نداشت (شکل ۴). بعد از دقیقه ۶ و تا پایان آزمایش تغییرات سرعت مقاومت در دو گروه مذکور هم جهت بوده و میانگین آنها اختلاف معنی‌داری با هم نداشت.

بحث

از آنجائی که در بیماری‌های حاد و مزمن تنفسی امکان همزمانی هیپوکسی و هیپرکپنی حبابچه‌ای وجود دارد و علی‌رغم اینکه اثر انقباضی هیپوکسی بر عروق ریوی شناخته شده است، در رابطه با اثرات هیپرکپنی همراه با هیپوکسی بر عروق ریوی هنوز بین محققین اتفاق نظر وجود ندارد. گرچه اعصاب سمپاتیک تعیین کننده اصلی مقاومت عروق ریه نمی‌باشد ولی در مطالعات in vivo اثر تحریک سمپاتیک را نمی‌توان نادیده گرفت. زیرا هیپوکسی و هیپرکپنی در کنار اثرات موضعی روی عضلات عروق از طریق تحریک کمورسپتورهای محیطی و مرکزی باعث تحریک سیستم سمپاتیک شده و موجب تغییر در تون عروق سیستمیک و ریوی می‌شود [۱۰،۱۴]. با به کار بردن متد ریه ایزوله می‌توان پاسخ‌های مستقیم عروق ریه را با اطمینان از عدم تداخل اعصاب، هورمون‌ها، و مواد ناشناخته‌ای که احتمالا در زمان هیپوکسی ویا هیپرکپنی از دیگر بافت‌های بدن آزاد می‌شوند مشاهده نمود.

گردش خون ریوی خرگوش از بسیاری از جهات شباهت به گردش خون ریوی انسان دارد و خیلی از محققین اثرات وازوکنسترکسیون عروق ریوی در زمان هیپوکسی (HPV) را در ریه خرگوش مورد مطالعه قرار داده و آنرا به انسان تعمیم داده‌اند [۲۵،۲۸]. بنابراین نتایج مطالعات انجام شده در ریه خرگوش میتواند اطلاعات خوبی در مورد پاسخ‌های مستقیم عروقی ریه انسان به دست بدهد.

محلول کربس مورد استفاده در این مطالعه دارای آمیلوپکتین با غلظت ۵۰g/L بود که از پیدایش ادم در زمان آزمایش جلوگیری می‌کرد. در پاره ای از مطالعات برای ایجاد فشار اسمزی کلوئیدی از ۱۰ تا ۱۵ درصد پلاسما، آلبومین و یا خون تازه استفاده شده که هر کدام ممکن است در پاسخ‌ها محدودیت‌هائی ایجاد کنند. آلبومین به دلیل متصل شدن با بعضی مواد شیمیایی و داروها در اثرات آنها تداخل می‌کند [۸]. استفاده از خون با شرایط داخلی بدن مشابهت داشته و پاسخ‌های عروقی قویتری را ایجاد می‌کند. اما مشکل عمده استفاده از خون در ریه ایزوله نیاز به حجم بالای خون است که به این منظور

www.SID.ir

Archive of SID

باید در یک زمان خون چند حیوان را جمع آوری نمود تا به توان یک آزمایش را انجام داد و مقرون به صرفه نمی‌باشد و تفسیر نتایج به دلیل وجود هموگلوبین مشکل و پیچیده است. به کار بردن محلول کربس همراه آمیلوپکتین نسبت به خون هم از نظر اقتصادی به صرفه بوده و هم اینکه در هر آزمایش می‌توان حجم مورد نیاز را از محلول تازه ساخته شده تهیه و استفاده نمود [۱۹، ۸]. از همه مهمتر اینکه در صورت لزوم امکان تغییر غلظت مواد سازنده محلول کربس به صورت کنترل شده وجود داشته و در پایان هر آزمایش نیز می‌توان میزان و تغییرات احتمالی آنها را با آنالیز شیمیایی مشخص نمود.

چون در طول مدت آزمایش تفاوت قابل ملاحظه‌ای در فشار مجاری هوایی و وزن ریه مشاهده نشد میتوان نتیجه گرفت که تغییرات مشاهده شده در مقاومت عروقی مربوط به تغییر کمپلیانس و یا ادم ریه نمی‌باشد.. همچنین مقاومت عروقی ریه ایزوله خرگوش در زمان تهویه با گاز نورموکسیک–نورموکپنیک تغییر قابل ملاحظه‌ای پیدا نکرد (شکل 2A). بنابراین تغییرات مشاهده شده در زمان تهویه ریه با گاز هیپوکسیک و هیپرکپنیک ارتباطی به مدت زمان آزمایش نداشته و ناشی از پاسخ دهی مستقیم عروق به شرایط ایجاد شده می‌باشد. تهویه ریه با گاز هیپوکسیک به صورت پیچیده و با سرعت‌های متفاوت موجب تغییر PVR شد (شکل 2B). این الگوی پاسخ به تغییرات فشار گاز اکسیژن از نظر کمی قابل مقایسه با مطالعات صورت گرفته در گذشته بوده [۷،۲۵] ، ولی از لحاظ کیفی ارزیابی الگوهای پاسخ عروقی از نظر سرعت و جهت افزایش و یا کاهش مطالعات بیشتری را می‌طلبد.

سرعت تغییر مقاومت عروق ریوی با تهویه ریه با گاز هیپوکسیک– هیپرکپنیک در دقیقه ۲ به طور معنی‌داری بیشتر از گروه هیپوکسیک–نورموکپنیک بود ولی این سرعت در دقیقه ۴ کاهش یافت. همچنین مقاومت عروقی در دقیقه ۲ به ماکزیمم مقدار خود رسیده و بالاتر از گروه هیپوکسیک–نورموکپنیک بود در حالیکه در دقیقه ۴ ماکزیمم مقاومت در دو گروه با هم تفاوتی نداشت (شکل ۳و۴). در رابطه با اثرات هیپرکپنیا گزارشات متناقضی وجود دارد. تغییرات گذرا در کینتیک و سرعت در تغییر مقاومت ممکن است همانگونه که Kerampetz و همکاران نشان دادند به علت اثر افزاینده اسیدوز بر فشار شریان ریوی باشد [۹]. از طرفی دیگران نشان داده‌اند که در کوتاه مدت هیپرکپنیا اثری بر فشار شریان ریوی نداشته و به دلیل قدرت بافری بالای داخل سلول، اسیدوز یا آلکالوز خارج سلولی کمترین اثر را بر روی pH داخل سلولی ایجاد می‌کند [۶،۱۶]. در مطالعه حاضر گرچه سرعت تغییر در مقاومت در دقایق اولیه در گروه هیپوکسیک–هیپرکپنیک بیشتر از هیپوکسیک–نورموکپنیک بود ولی حداکثر پاسخ در دوگروه یکسان بود. به هر حال چون مدت زمان این مطالعه ۳۰ دقیقه در نظر گرفته شده ممکن است اثرات درازمدت هیپرکپنی بر روی مقاومت عروق ریوی متفاوت باشد زیرا Balanos و همکاران نشان دادند که در افراد سالم هیپرکپنیا به صورت وابسته به زمان موجب افزایش فشار شریان ریوی می‌شود که البته در مطالعات in vivo نمی‌توان اثر تحریکی اعصاب سمپاتیک بر سیستم قلب و عروق را نادیده گرفت [۱]. از طرفی بعضی مطالعات نشان می‌دهد که هیپرکپنیا همراه با اسیدوز موجب کاهش فشار شریان ریوی می‌شود [۳،۲۱] و یا اینکه تاثیری بر آن ندارد [۱۷] . علت تفاوت می‌تواند مربوط به شرایط آزمایش در داخل و یا در خارج از بدن، تفاوت در گونه‌های حیوانی، سطح دی اکسید کربن بکار شده و طول دوره آزمایش باشد. به هر حال اینکه این نوع پاسخ گوئی تنها مربوط به اثر افزایش CO_2 و یا اسیدوز ناشی از آن می‌باشد هنوز جای سوال دارد [۲۹] و مطالعات زیادی را در آینده در این راستا می‌طلبد.

نتایج مطالعه حاضر حاکی از آن است که با استفاده از متد ریه ایزوله، تهویه و پرفیوز شده در خرگوش میتوان پاسخ عروق ریوی درشرایط هیپوکسی و هیپرکپنی را در ایران مورد بررسی قرار داد. همچنین این مطالعه پیشنهاد می‌کند که هیپرکپنی در کوتاه مدت اثر گذرائی بر کینتیک پاسخ عروق ریوی به هیپوکسی دارد. اما اینکه این پاسخ‌ها در طولانی مدت ثابت باقی می‌ماند و یا تغییر می‌کند و مکانیسم‌های احتمالی دخیل در آن اهمیت بررسی در تحقیقات آتی را مطرح می‌کند.

سپاسگزاری

بدینوسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه و مرکز تحقیقات شیمی داروئی و گیاهی دانشگاه علوم پزشکی شیراز که هزینه‌های مالی این تحقیق را فرا هم نموده (طرح‌های ۲۷۵۳و ۲۸۰۱) تشکر می‌شود.

www.SID.ir

Archive of SID

References

[1] Balanos GM, Talbot NP, Dorrington KL, Robbins PA, Human pulmonary vascular response to 4 h of hypercapnia and hypocapnia measured using Doppler echocardiography. ***J Appl Physiol*** (2003) 1543-1551.

[2] Barer GR, Shaw JW, Pulmonary vasodilator and vasoconstrictor actions of carbon dioxide. ***J Physiol*** 213 (3) (1971) 633-645.

[3] Baudouin SV, Evans TW, Action of carbon-dioxide on hypoxic pulmonary vasoconstriction in the rat lung - evidence against specific endothelium-derived relaxing factor-mediated vasodilation. ***Critical Care Medicine*** 21(5) (1993) 40-746.

[4] Brimioulle S, Lejeune P, Vachiery JL, Leeman M, Melot C, Naeije R, Effects of acidosis and alkalosis on hypoxic pulmonary vasoconstriction in dogs. ***Am J Physiol*** 258 (1990) H347-353.

[5] Euler USV, Lilgestrand G, Observations on the pulmonary arterial blood pressure in the cat. ***Acta Physc Scandinavi*** 12 (1946) 301.

[6] Farrukh IS, Gurtner GH, Terry PB, Tohidi W, Yang JN, Adkinson NF Jr, Michael JR, Effect of pH on pulmonary vascular tone, reactivity, and arachidonate metabolism. ***J Appl Physiol*** 67 (1989) 445-452.

[7] Grimminger F, Spriestersbach R, Weissmann N, Walmrath D, Seeger W, Nitric oxide generation and hypoxic vasoconstriction in buffer-perfused rabbit lungs. ***J Appl Physiol*** 78 (1995) 1509-1515.

[8] Hayes AW. Principles and methods of toxicology, 4th ed, 2001, p.1548.

[9] Krampetz IK, Rhoades RA, Intracellular pH: effect on pulmonary arterial smooth muscle. ***Am J Physiol*** 260 (1991) L516-L521.

[10] Lahana A, Costantopoulos S, Nakos G, The local component of the acute cardiovascular response to simulated apneas in brain-dead humans. ***Chest*** 128 (2) (2005) 634-639.

[11] Lee KJ, Hernandez G, Gordon JB, Hypercapnic acidosis and compensated hypercapnia in control and pulmonary hypertensive piglets. ***Pediatric Critical Care Colloquium***. San Diego, California: Wiley-Liss (2002) 94-101.

[12] Levitzky MG. ***Pulmonary physiology*** (a Lang medical book) 6th ed, McGraw-Hill, 2003, p.172-173.

[13] Levitzky MG. ***Pulmonary physiology*** (a Lang medical book) 6th ed, McGraw-Hill, 2003, p.105-107.

[14] Oikawa S, Hirakawa H, Kusakabe T, Nakashima Y, Hayashida Y, Autonomic cardiovascular responses to hypercapnia in conscious rats: The roles of the chemo- and baroreceptors. ***Auton Neurosci-Basic Clin*** 117 (2005) 105-114.

[15] Aaronson PI, Robertson TP, Knock GA, Becker S, Lewis TH, Snetkov V, Ward JP, Hypoxic pulmonary vasoconstriction: Mechanisms and controversies. ***J physiol*** 570 (2006) 53-58.

[16] Raffestin B, McMurtry IF, Effects of intracellular pH on hypoxic vasoconstriction in rat lungs. ***J Appl Physiol*** 63 (1987) 2524-2531.

[17] Roberts JD Jr, Chen TY, Kawai N, Wain J, Dupuy P, Shimouchi A, Bloch K, Polaner D, Zapol WM, Inhaled nitric oxide reverses pulmonary vasoconstriction in the hypoxic and acidotic newborn lamb. ***Circ Res*** 72 (1993) 246-54.

[18] Seeger W, Walmrath D, Menger M, Neuhof H, Increased lung vascular permeability after arachidonic acid and hydrostatic challenge. ***J Appl Physiol*** 61 (1986):1781-1789.

[19] Seeger W, Walmrath D, Grimminger F, Rosseau S, Schütte H, Krämer HJ, Ermert L, Kiss L, Adult respiratory distress syndrome: Model systems using isolated perfused rabbit lungs. ***Methods Enzymol*** 233 (1994) 549-584.

[20] Shirai M, Sada K, Ninomiya I, Effects of regional alveolar hypoxia and hypercapnia on small pulmonary vessels in cats. ***J Appl Physiol*** 61 (1986) 440-448.

[21] Sweeney M, O'Regan RG, McLoughlin P, Effects of hypercapnia on steady state, phenylephrine induced tension in isolated rings of rat pulmonary artery. ***Adv Exp Med Biol*** 410 (1996) 463-9.

[22] Tuder RM, Yun JH, Bhunia A, Fijalkowska I, Hypoxia and chronic lung disease. ***J Mol Med*** 85 (2007) 1317-1324.

[23] Viles PH, Shepherd JT, Relationship between pH, PO_2, and PCO_2 on the pulmonary vascular bed of the cat. ***Am J Physiol*** 215 (1968) 1170-1176.

[24] Weissmann N, Sommer N, Schermuly RT, Ghofrani HA, Seeger W, Grimminger F, Oxygen sensors in hypoxic pulmonary vasoconstriction. ***Cardiovasc Res*** 71 (2006) 620-629.

www.SID.ir

[25] Weissmann N, Winterhalder S, Nollen M, Voswinckel R, Quanz K, Ghofrani HA, Schermuly RT, Seeger W, Grimminger F, NO and reactive oxygen species are involved in biphasic hypoxic vasoconstriction of isolated rabbit lungs. ***Am J Physiol-Lung Cell Mol Physiol*** 280 (2001) L638-L645.

[26] Wildman MJ, Sanderson C, Groves J, Reeves BC, Ayres J, Harrison D, Young D, Rowan K, Predicting mortality for patients with exacerbations of COPD and Asthma in the COPD and Asthma Outcome Study

[27] Yamamoto Y, Nakano H, Ide H, Ogasa T, Takahashi T, Osanai S, Kikuchi K, Iwamoto J, Role of airway nitric oxide on the regulation of pulmonary circulation by carbon dioxide. ***J Appl Physiol*** 91 (2001) 1121-1130.

[28] 12-Yamaguchi K, Takasugi T, Fujita H, Mori M, Oyamada Y, Suzuki K, Miyata A, Aoki T, Suzuki Y, Endothelial modulation of pH-dependent pressor response in isolated perfused rabbit lungs. ***Am J Physiol*** 270 (1996) H252-258.

[29] Zhao J, Hogan EM, Bevensee MO, Boron WF, Out-of-equilibrium CO_2/HCO_3^- solutions and their use in characterizing a new K/HCO_3^- cotransporter. ***Nature*** 374 (6523) (1995) 636-639.

[30] Zilberberg MD, Epstein SK, Acute lung injury in the medical ICU: comorbid conditions, age, etiology, and hospital outcome. ***A J respiratory and critical care medicine*** 152 (1998) 1818-24.

www.SID.ir