



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

Farzaneh Ketabchi<sup>1</sup>, Mostafa Shid-Moosavi<sup>1</sup>, Norbert Weissmann<sup>3</sup>, Gholam A. Dehghani<sup>1,2\*</sup>

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 ( $17.3 \pm 2.4\%$  /min) compared to hypoxic-normocapnia ( $8.86 \pm 1.6\%$  /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

## روش اندازه‌گیری پارامترهای همودینامیک در زمان هیپوکسی و هیپرکپنی حاد

### حبابچه‌ای در ریه ایزوله تهویه و پرفیوز شده در خرگوش

فرزانه کتابچی<sup>۱</sup>، سید مصطفی شید موسوی<sup>۱</sup>، نوریت ویزمن<sup>۳</sup>، غلام‌عباس دهقان<sup>۲،۱\*</sup>

۱. گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

۲. مرکز تحقیقات شیمی دارویی 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  $(3 \pm 2/4)$  /۱۷ درصد در دقیقه) در مقایسه با گروه هیپوکسیک-نورموکپنیک  $(1/6 \pm 8/86)$  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 حبابچه‌ای 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

جهان بوده و همواره تلفات زیادی را به خود اختصاص می‌دهد. بر طبق آخرین گزارشات سازمان بهداشت جهانی روزانه چندین میلیون نفر از بیماری‌های 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،

بیماری‌های تنفسی از جمله بیماری‌های بسیار شایع در

dehghang@sums.ac.ir

www.phypha.ir/ppj

\* نویسنده مسئول مکاتبات:

وبگاه مجله:

[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 مداخله‌کننده 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 ۲/۸-۳/۲ کیلوگرم از حیوان خانه دانشگاه تهیه و در خانه حیوانات گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی در دمای ۲۴-۲۲ درجه سانتیگراد و دوره ۱۲ ساعته روشنایی- تاریکی در شرایطی که دسترسی آزاد به آب و مواد غذایی داشتند نگهداری شدند.

در روز آزمایش ورید مارجینال گوش حیوان کانول گذاری 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 (۳۰-۵۰ mg/kg) و زایلازین (۶-۱۰ mg/kg) حیوان به طور عمیق بی‌هوش می‌شد. پس از

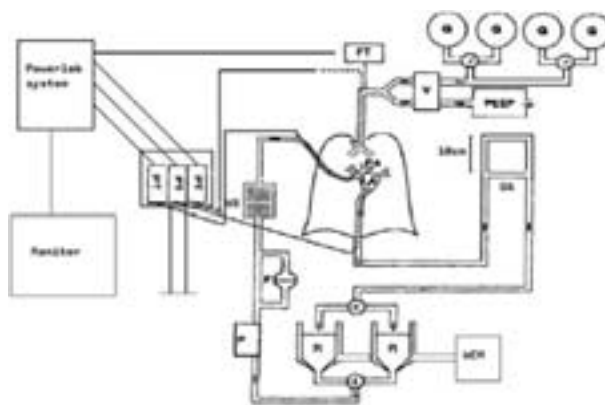
کاهش فشار اکسیژن (هیپوکسمی) و افزایش فشار دی‌اکسیدکربن (هیپرکپنی) خون شریانی به دلیل کاهش تهویه حبابچه‌ای (hypoventilation) می‌باشد [۱۲].

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 خواهد داشت [۲۲]. علی‌رغم گذشت بیش از ۶۰ سال از کشف پدیده HPV توسط دو دانشمند معروف Von Euler و Liljestrand [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 [۱،۱۱،۲۷] تا پاسخ‌های مخلوط در موش صحرایی، گربه و سگ گزارش شده است [۲،۴،۲۰،۲۳]. 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 دی‌اکسید 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

کم از ایجاد ادم ریوی جلوگیری می‌شود. همزمان با برقراری جریان ریوی عمل تهویه با گاز نورموکسیک-نورموکپنیک (۲۱٪ اکسیژن، ۵/۳٪ دی‌اکسید کربن در نیتروژن) انجام شده تا جابجه‌ها و مجاری هوایی دچار کلاپس نشوند و pH محلول کربس و به تبع آن pH محیط داخلی ریه در محدوده طبیعی ۷/۳۵ تا ۷/۴۰ حفظ شود.

بعد از اطمینان از برقراری و مناسب بودن جریان و تهویه ریوی، ریه و باقیمانده قلب را با احتیاط کامل از داخل قفسه سینه حیوان خارج نموده، بافت‌های اضافی جدا و ریه و کانول‌های متصل به آن به طور موقت روی یک پایه آویزان می‌شد. به دلیل حساس بودن بافت ریه و احتمال ایجاد ادم، این مرحله باید با دقت زیاد انجام شود تا با تماس دست ویا وسائیل جراحی کوچکترین آسیبی به بافت ریه وارد نشود. در مرحله بعد بطن‌ها جدا شده و با برداشتن دریچه میترال یک کانول خمیده (با قطر داخلی ۴ میلی‌متر) در محل ورودی دهلیز و بطن چپ قرار داده و از باقیمانده قلب چپ به عنوان نگهدارنده استفاده نموده و با کمک نخ جراحی کانول‌ها در محل ثابت می‌شدند. در این مرحله ریه‌ها به دقت بررسی شده تا از عدم وجود علائم آتلکتازی، هموستاز خون و عفونت اطمینان حاصل شود. در صورت وجود هر یک از علائم ذکر شده ریه‌ها غیر قابل استفاده بوده و انجام آزمایش متوقف می‌گردید. در صورت سالم بودن، ریه‌ها را جهت انجام مراحل بعدی در محفظه دو جداره شیشه‌ای (قفسه سینه مصنوعی، Humidified chamber) قرار داده و به منظور حذف کامل سلول‌های خونی موجود در عروق ریه با کمک جریان یکطرفه (حداقل یک لیتر محلول کربس نیاز می‌باشد) سیستم را شسته و به طور همزمان و به آرامی دمای محلول و کل سیستم تا ۳۸/۵ درجه سانتیگراد گرم و در طول دوره آزمایش در این حد حفظ می‌شد. بعد از شستشوی کامل به آرامی جریان محلول کربس از ۲۰ میلی‌لیتر در دقیقه به 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<sub>2</sub>O توزیع جریان مایع در ریه تقریباً یکنواخت می‌شد (نزدیک ناحیه ۳). حد ۲ cmH<sub>2</sub>O برای PEEP بر اساس نتایج آزمایشات pilot در نظر گرفته شد تا کمترین اختلاف فشار گازی بین جابجه‌ها و مویرگ‌های ریه وجود داشته باشد. برای طراحی مدل ریه پرفیوز شده خرگوش در این مرکز از مدل

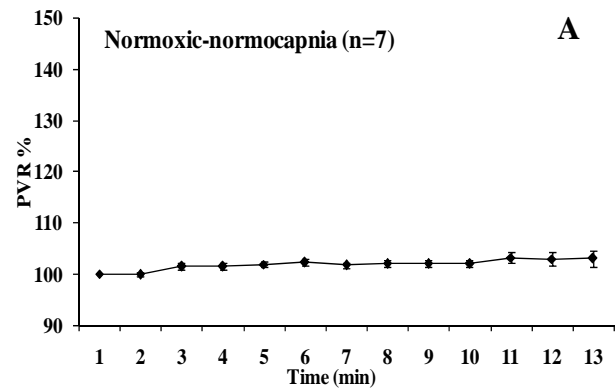
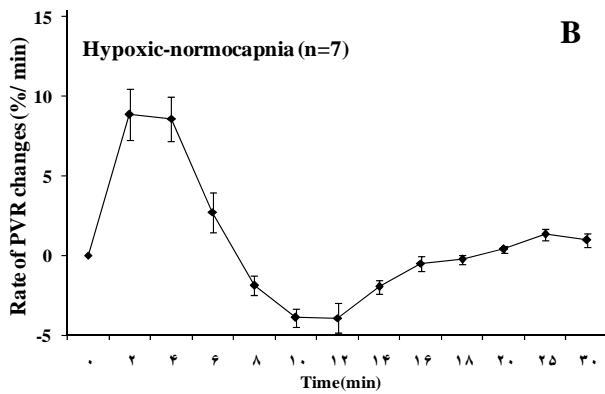


شکل ۱- شماتیک ریه ایزوله، تهویه و پرفیوز شده خرگوش را که در این مطالعه بکار گرفته شده نشان می‌دهد. این شکل مدل اصلاح یافته Seeger می‌باشد [۱۸،

[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.

کانول گذاری تراشه، حیوان با کمک پمپ تنفسی (SAR-830/P, USA) با حجم جاری ۳۰ ml/animal و تعداد تنفس ۳۰ /min از هوای اتاق تهویه شد. پس از حصول اطمینان از تهویه مناسب، قفسه سینه را از خط وسط (وسط استرنوم) یک برش طولی داده و با دقت و با کمک ترکتور مخصوص طوری باز می‌شد تا به راحتی امکان دسترسی به ریه و ضمائم آن فراهم گردد. بعد غده تیموس را برداشته و در پریکارد برشی ایجاد نموده تا علاوه بر قلب، ریشه آئورت و شریان ریوی آشکار گردد. با استفاده از پنس و قیچی سر خم و نوک کند به آرامی و با دقت بالا عروق مذکور از یکدیگر جدا گردیدند. سپس شریان ریوی را با کانول مخصوص (قطر داخلی ۳ میلی‌متر که قبلاً با محلول کربس ۴ درجه سانتیگراد پر شده) کانول گذاری نموده و بلافاصله به طور مداوم با کمک پمپ پریستالتیک (Vera Stoelting, USA) از محلول کربس با جریان کم، معادل ۲۰ میلی‌لیتر در دقیقه، پرفیوز می‌شد. برای جلوگیری از ادم ریوی به طور همزمان با برقراری جریان ریوی نوک بطن چپ بریده شده تا مایع به راحتی از ریه خارج گردد. تمامی مراحل کانول گذاری باید با دقت کامل انجام شود تا از ورود جاباب هوا به سیستم پرفیوز کننده (شکل ۱) و ریه جلوگیری شود. با انتخاب دمای پائین (۴ درجه سانتی‌گراد) در شروع آزمایش متابولیسم سلولی ریه کم شده و با جریان و فشار



شکل ۲- درصد مقاومت عروقی در گروه نورموکسیک-نورموکپنیک (A) و سرعت تغییر مقاومت 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 اکسید کربن ۵/۳٪ در نیتروژن) را نشان می‌دهد.

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 اکسید کربن 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 mM NaCl ۵۰، g hydroxy ethyl amylopectin/1lit ۱۲۰، mM KCl ۱، mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> ۱، mM MgPO<sub>4</sub> ۱/۳، pH ۴/۳، mM CaCl<sub>2</sub> ۲/۴، mM glucose ۱۳/۳، بوده و محلول با اضافه کردن تدریجی NaHCO<sub>3</sub><sup>-</sup> در محدوده طبیعی ۷/۳۵-۷/۴۰ تنظیم می‌شد [۲۵].

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

Seeger و همکاران [۱۹، ۱۸] که بر اساس شرایط و وسایل 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 اندازه‌گیری و مانیتور می‌شد. همچنین ریه و ضمام 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 لنفوی ریوی در خارج از بدن کارائی ندارد نمی‌تواند مانع بروز ادم شود. لذا فشار اسمزی کلوییدی 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

**جدول ۱-** فشارهای اکسیژن، دی اکسید کربن و pH در محلول کربس در شرایط آزمایشی مختلف در ریه ایزوله. داده‌ها به صورت میانگین آزمایشات  $\pm$  خطای معیار استاندارد ارائه شده است. \* دلالت بر معنی دار بودن نسبت به گروه نورموکسیک-نورموکپنیا با  $P < 0.05$  در نظر گرفته شده است.

| Parameters                             | Normoxic-normocapnia | Hypoxic-normocapnia | Hypoxic-hypercapnia |
|--|----------------------|---------------------|---------------------|
| PO <sub>2</sub> (mmHg)                 | 157.7 $\pm$ 2.3      | 51 $\pm$ 5.6        | 61.8 $\pm$ 1.4*     |
| PCO <sub>2</sub> (mmHg)                | 36.7 $\pm$ 0.1       | 37.1 $\pm$ 0.1      | 72 $\pm$ 0.5*       |
| pH                                     | 7.38 $\pm$ 0.00      | 7.36 $\pm$ 0.00     | 7.09 $\pm$ 0.00*    |
| HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mmol/L) | 21 $\pm$ 0.1         | 20.35 $\pm$ 0.2     | 21.08 $\pm$ 0.1     |

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 $\pm$ ۶ mmHg در مقابل ۶۲ $\pm$ ۱). در حالی که میانگین فشار دی اکسید کربن (۷۲ $\pm$ ۱ mmHg) و pH (۷/۰۹ $\pm$ ۰/۰۰) در گروه هیپرکپنیک به طور معنی‌داری بیشتر از گروه‌های هیپوکسیک-نورموکپنیک و نورموکسیک-نورموکپنیک بود (جدول ۱).

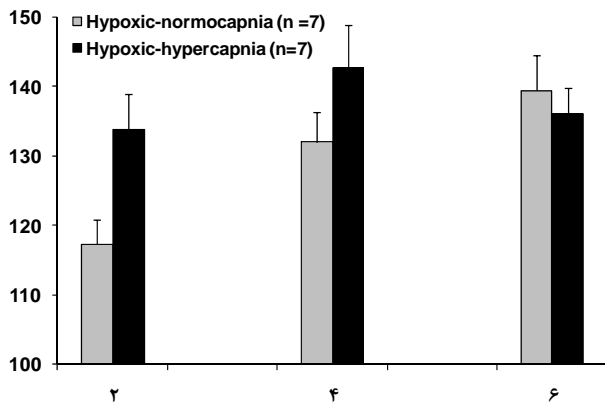
فشار شریان ریوی در تمامی گروه‌های آزمایشی در شرایط پایه و با جریان ثابت ۱۵۰ ml/min و فشار دهلیز چپ mmHg ۲ به طور متوسط ۳۳ mmHg  $\pm$  ۱/۰۵ بود. تهویه ریه با گاز نورموکسیک-نورموکپنیک در طول دوره آزمایش تغییری در فشار شریانی و مقاومت عروق ریه (PVR) ایجاد نکرد. شکل ۲ تغییرات PVR در زمانی که ریه‌ها با گاز 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 ۲ و ۴ به میزان ۱/۶ $\pm$ ۱/۸۶ و ۱/۴ $\pm$ ۱/۶ درصد در دقیقه افزایش یافت. در دقیقه ۶ سرعت افزایش مقاومت به آرامی کم شده و سرانجام به حد ۲/۷ $\pm$ ۱/۲۴ 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 دقایق ۱۰ و ۱۲ با حداکثر سرعت در جهت کاهش پیش رفت و به ۳/۹ $\pm$ ۰/۹- و ۳/۹ $\pm$ ۰/۶- 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 مجدداً 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

سپس ریه‌هاییکه پاسخ طبیعی داشتند مجدداً 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، یا ۳۰ 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. از طرفی 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 دم ریوی مورد بررسی قرار می‌گرفت.

کلیه داده‌های این تحقیق به صورت میانگین  $\pm$  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

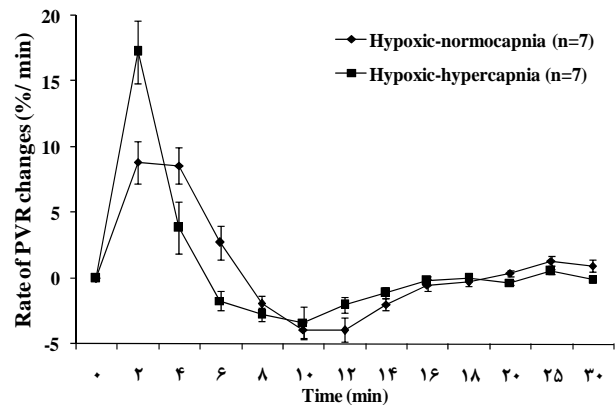


**شکل ۴-** ماکزیمم مقاومت عروقی در زمانی که با گاز هیپوکسیک-نورموکپنیک (اکسیژن ۳٪، دی‌اکسید کربن ۵/۳٪ در نیتروژن) و یا هیپوکسیک-هیپرکپنیک (اکسیژن ۳٪، دی‌اکسید کربن ۱۱٪ در نیتروژن) تهویه می‌شدند را مقایسه می‌کند. \* معنی‌دار بودن ( $P < 0.05$ ) نسبت به مقاومت در زمان تهویه ریه با گاز هیپوکسیک-نورموکپنیک را نشان می‌دهد.

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 احتمالاً در زمان هیپوکسی و یا 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 وازوکنستریکسیون 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 ۵۰ g/L بود که از پیدایش ادم در زمان آزمایش جلوگیری می‌کرد. در پاره ای از مطالعات برای ایجاد فشار اسمزی کلوییدی از ۱۰ تا ۱۵ درصد پلاسما، آلبومین و یا خون تازه استفاده شده که هر کدام ممکن است در پاسخ‌ها محدودیت‌هایی 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



**شکل ۳-** 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.

را با گروه هیپوکسیک-نورموکپنیک مقایسه می‌کند. در گروهی که با گاز هیپوکسیک-هیپرکپنیک تهویه می‌شدند سرعت تغییر در مقاومت در دقیقه دوم  $17/3 \pm 2/4$  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  $3/9 \pm 2$  درصد در دقیقه ( و در دقیقه ۶ جهت و سرعت تغییر مقاومت معکوس شد  $-1/7 \pm 0/7$  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

باید در یک زمان خون چند حیوان را جمع‌آوری 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 [۸، ۱۹]. 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 ۲A). 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 ۲B). 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 ۳ و ۴). 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 افزایش 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 آکالوز 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 دو گروه یکسان بود. به هر حال چون مدت زمان این مطالعه ۳۰ دقیقه در نظر گرفته شده ممکن است اثرات درازمدت هیپرکپنیا 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<sub>2</sub> 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 در شرایط هیپوکسی و هیپرکپنیا را در ایران مورد بررسی قرار داد. همچنین این مطالعه پیشنهاد می‌کند که هیپرکپنیا 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 دارویی و گیاهی دانشگاه علوم پزشکی شیراز که هزینه‌های مالی این تحقیق را فرا هم نموده (طرح‌های ۲۷۵۳ و ۲۸۰۱) تشکر می‌شود.



## 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] Brimiouille 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, Liljestrand 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, Priestersbach 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, Ermer 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<sub>2</sub>, and PCO<sub>2</sub> 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.

- [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  $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$  solutions and their use in characterizing a new  $\text{K}/\text{HCO}_3^-$  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.