Downloaded from sjh.umsha.ac.ir at 5:50 +0330 on Monday November 20th 2017

مقاله پژوهشی

بررسی تأثیر هیپوترمی متوسط بر محور رنین ـ آنژیوتنسین آلدوسترون در موشهای بزرگ آزمایشگاهی نر

معصومه کورش آرامی*، دکتر سعید خامنه، دکتر نصرت الله ضرغامی *****

چکیده:

هیپوترمی در طبیعت به شکل خواب زمستانی دیده می شود و در پزشکی کاربردهایی چون جراحی قلب باز ، نگهداری اعضاءِ و بافتهای پیوندی ، طب ارتفاعات و طب سالمندان دارد . علیرغم وسعت مطالعات بر روی هیپوترمی بسیاری از اثرات بیولوژیکی و فیزیولوژیکی آن از جمله تاثیر بر روی تغییرات سیستمهای اندوکرین هنوز کاملاً شناخته نشده است . در این مطالعه تاثیر هیپوترمی برعملکرد محوررنین ،آنژیوتنسین، آلدوسترون مورد بررسی قرار گرفته است.

برای انجام این مطالعه تعداد ده موش صحرایی نر آلبینو نژاد ویستار (با سن متوسط ۵ ماهه) که با تزریق داخل صفاقی هیدرات کلرال به مقدارgr ۱۰۰ /۰/۵ ml وزن بدن بیهوش گردیده بودند توسط دستگاه هیپوترمی تحت سرما قرار گرفتند تا دمای بدن آنها به ۲۵ درجه سانتیگراد برسد. سطوح آنژیوتنسین و آلدسترون سرم قبل و بلافاصله بعد از هیپوترمی و سپس به مدت ۳ روز هر ۲٤ ساعت یکبار با استفاده از روش رادیوایمنواسی اندازه گیری شد . فعالیت رنین پلاسمایی نیز با استفاده از روش استاندارد بر مبنای اندازه گیری آنژیوتنسین I در دماهای ٤ و ۳۷ درجه سانتی گراد ارزیابی شد.

بر اساس نتایج بدست آمده معلوم گردید که عوامل یاد شده بلافاصله بعد از هیپوترمی افزایش نشان داده که این افزایش در مورد آنژیوتنسین و آلدوسترون نسبت به گروه کنترل دارای اختلاف معنی داری بود ($P<0.03$). سپس همه تا سطح پایه کاهش پیدا کردند بجز آلدوسترون که تا ۲٤ ساعت بعد نیز روند افزایشی خود را به صورت معنی دار ادامه داد ($P<0.05$).

بنظر میرسد که هیپوترمی متوسط برفعالیت رنین پلاسمایی، آنژیوتنسین وآلدوسترون اثر تحریکی دارد که نتایج این بررسی این موضوع را تایید می نماید.

کلید واژه ها : سیستم آنژیوتانسین رنین / کاهش دمای بدن / موش

مقدمه :

باتوجه به مطالعات انجام شده توسط محققین بر روی عوامل شرکت کننده در محور رنین ـ آنژیوتانسین ـ آلدوسترون هیپوترمی موجب افزایش فعالیت رنین پلاسما (PRA) آنژیوتانسینI(ANGI) و آلدوسترون (ALD) میشود (۱،۲).

Canivet و همکارانش نیز در سال ۱۹۹۰ مشاهده کردند که هیپوترمی مورد استفاده در جراحی قلبی ریوی Cardiopulmonary Bypass (CPB) موجب افزایش فعالیت رنین می‌شود(۳).

بر این اساس Blair بیان کرد که آزاد سازی

* عضو هیأت علمی گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی همدان

** استادیار گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز

*** استادیار گروه بیوشیمی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز

Downloaded from sjh.umsha.ac.ir at 5:50 +0330 on Monday November 20th 2017

کورتیکواستروئیدها از جمله آلدوسترون در اثر هیپوترمی کوتاه مدت نرمال به نظر می آید (۴) . تغییرات رنین به چند عامل نسبت داده شده است که شامل فشار پرفوزیون قشر کلیوی، کاهش برون ده قلبی، سیستم عصبی سمپاتیک و باز جذب Nacl در توبول پروکسیمال وشاخه ضخیم لوله هنله می باشند(۵،۶). همچنین نشان داده شده است که افزایش ANG II در جراحی قلب با هیپوترمی خفیف تا ۲۹ درجه دلالت بر کاهش فعالیت آنزیم مبدل آنژیوتانسین در اثر هیپوترمی دارد (۷).

گرچه اغلب مطالعات و تحقیقات دلالت بر افزایش فعالیت RAAS(سیستم رنین ـ آنژیوتنسین ـ آلدوسترون) در طی هیپوترمی دارد لیکن باید خاطر نشان نمود که میزان تقویت فعالیت این سیستم در تحقیقات مختلف یکسان گزارش نشده است.

مطالعه حاضر که درپی تعیین فعالیت محور RAAS در موشهای بزرگ آزمایشگاهی تحت تاثیر هیپوترمی می باشد می تواند شاهد دیگری جهت شناخت رابطه بین عوامل مربوطه باشد.

روش کار:

الف ـ مواد : ۱- حیوانات مورد آزمایش : حیوانات شامل ۱۰عدد موش بزرگ آزمایشگاهی (Rat) نر سالم از نوع آلبینو ، نژاد ویستار با میانگین وزنی۲۷۲ گرم و سن ۴تا۷ ماهه بودند.۲- دستگاه گاماکانتر ازنوع Gammamatic ساخت کارخانه Contron جهت اندازه گیری میزان هورمون های مورد نظر موجود در سرم مورد استفاده قرار گرفت. ۳- دستگاه هیپوترمی (ساخت آزمایشگاه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی تبریز) : ایجاد هیپوترمی توسط این دستگاه به روش خنک سازی سطحی صورت می گیرد. ۴- هیدرات کلرال : برای بیهوشی حیوانات به میزان ۰/۵ ml/۱۰۰ gr وزن بدن به روش داخل صفاقی استفاده شد. البته در خونگیری های بعدی برای ایجاد خواب به مدت یک دقیقه از اتر استفاده شد .

ب ـ روش : ابتدا دمای بدن موشها به وسیله دماسنج از طریق رکتوم تعیین شد . سپس هیدرات کلرال به طریق داخل صفاقی به میزان ۰/۵ ml/۱۰۰ gr وزن بدن رت تزریق شد . پس از بیهوشی ۱/۵ml خون بطور مستقیم توسط سرنگ از قلب هرحیوان گرفته شد ، سپس حیوانات در محفظهٔ دستگاه هیپوترمی قرار داده شدند و دمای بدن آنها تا ۲۵ درجه به مدت ۲ ساعت کاهش پیدا کرد. دمای بدن حیوان در طول هیپوترمی به وسیلهٔ سنسوری که در داخل رکتوم حیوان گذاشته شده بود و از طرف دیگر به یک نشانگر دیجیتالی که در بیرون دستگاه اتصال داشت کنترل شد.

پس از اتمام آزمایشات حیوان را از دستگاه خارج کرده و دوباره خونگیری انجام گرفت خونگیری ۴۸،۲۴ و۷۲ ساعت بعد نیز تکرار شد و نمونه خونی سانتریفوژ شده و سرم آن را در دمای ۲۰c- در فریزر نگهداری شد مقادیر ANGI و ALd در دو دمای ۴ و ۳۷ درجه با استفاده از دستگاه گاماکانتر تعیین شد. PRA توسط فرمول زیر محاسبه گردید(طبق بروشور).

$$RPA= \frac{\text{ANG I at 37° C- ANG Iat4° C}}{\text{زمان انکوباسیون}}$$

نتایج :

میانگین تغییرات عوامل هومورال مورد مطالعه یعنی ALD,ANG I, PRA در جدول ۱نشان داده شده است.

جدول ۱: تغییرات رنین ـ آنژیوتانسین ـ آلدوسترون قبل ، در طی و بعد از هیپوترمي

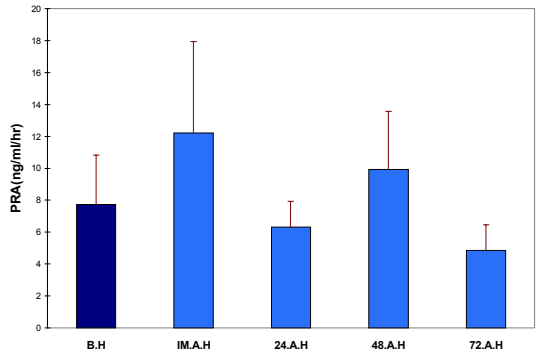
(مقادیر بر حسب میانگین ± خطاي استاندارد مي باشند)

عامل هومورال / دوره آزمایش	PRA (ng/ml/h)	ANGI 37° (ng/ml)	ANGI 4° (ng/ml)	ALD (pg/ml)
B.H	7.73±3.1	12.84±2.1	9.35±1.15	321±53
IM.A.H	12.22±5.73 NS	18.09±2.1 S(p<0.03)	17.1±8.5 NS	542±84 S(P<0.03)
24.A.H	6.33±1.6 N S	20.31±6.3 NS	11.09±2.1 NS	771±218 S(P<0.05)
48.A.H	10.46±3.1 NS	15.77±2.9 NS	7.55±1.5 NS	382±82 NS
72.A.H	5.2±1.5 NS	12.32±1.6 NS	11.85±2.5 NS	340±84 NS

BH قبل‌از هیپوترمي و AH در بقیه موارد یاد شده در ستون دوره آزمایش، به ترتیب ۴۸،۲۴، ۷۲ ساعت بعد از آن می باشد

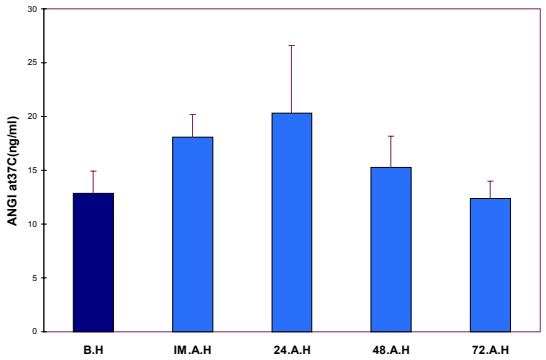
همانطوری که در نمودار ۱ ملاحظه می شود رنین بلافاصله بعد از هیپوترمی افزایش پیدا کرده و بعد از آن نیز نوساناتی داشته که تفاوت آن از نظر آماری نسبت به سطح پایه معنی دار نیست .

Downloaded from sjh.umsha.ac.ir at 5:50 +0330 on Monday November 20th 2017

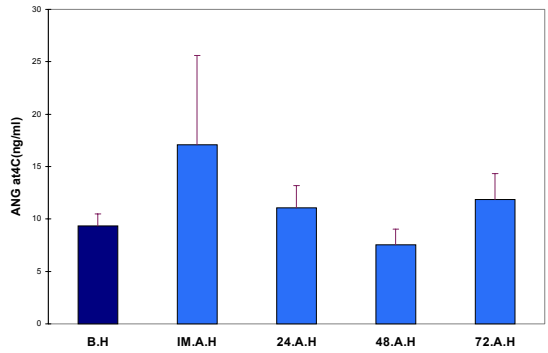


نمودار ۱: تغییرات فعالیت رنین پلاسما درطی هیپوترمی و بعد از آن. داده ها بصورت Means±SE نشان داده شده اند.

بلافاصله بعد از هیپوترمی بطور ANG I طبق نمودار ۲و۳ معنی داری افزایش پیدا کرد ولی بعد از آن کاهش یافت که این کاهش نسبت به وضعیت قبل از هیپوترمی معنی دار نبود .

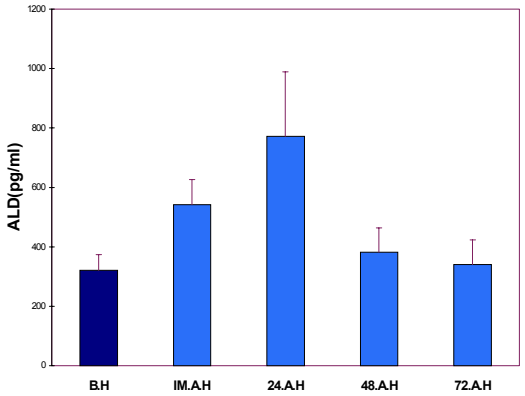


نمودار۲: تغییرات آنژیوتانسین یک پلاسما در طی هیپوترمی و بعد از آن. داده ها بصورت Means±SE نشان داده شده اند.



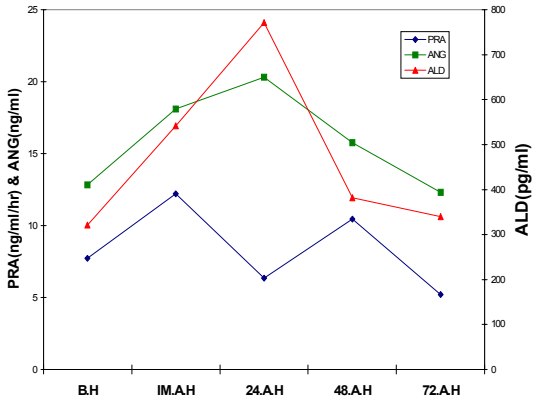
نمودار۳: تغییرات آنژیوتانسین یک پلاسما درطی هیپوترمی و بعد از آن. داده ها بصورت Means±SE نشان داده شده اند.

نتایج نشان داد که ALD تا ۲۴ ساعت بعد از هیپوترمی بطور معنی دار افزایش می یابد ولی در روزهای دوم و و سوم کاهش یافته که این کاهش از نظر آماری نسبت به سطح پایه تفاوت معنی داری نشان نداد(نمودار ۴).



نمودار۴: تغییرات آلدوسترون در طی هیپوترمی و بعد از آن. داده ها بصورت Means±SE نشان داده شده اند.

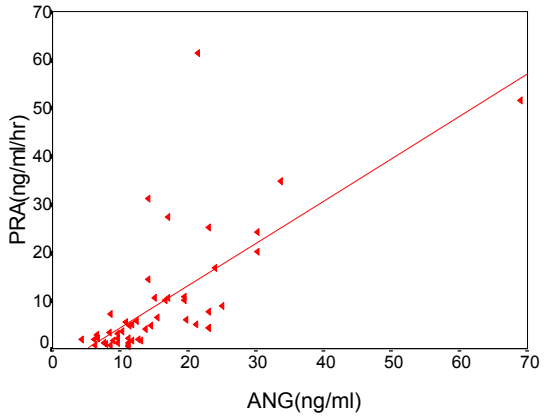
همان طوریکه در نمودار ۵ مشاهده می‌شود ANGI , PRA در طی هیپوترمی هر دو افزایش می یابند ولی در روزهای اول و دوم بعد از آن جهت تغییرات آنها متفاوت است . ANGI و ALD در طول مدت آزمایش تغییرات هم جهت نشان دادند. بطوریکه ماکزیمم مقدار آنها در روز اول می باشد.



نمودار ۵ : مقایسه تغییرات فعالیت رنین پلاسمایی ، انژیوتانسین یک و آلدوسترون در اثر هیپوترمی. داده‌ها بصورت میانگین نشان داده شده اند.

همچنین نمودار۶ نمایانگر یک همبستگی تقریباً کامل بین ANGI , PRA است(p=0,r=0.7).

Downloaded from sjh.umsha.ac.ir at 5:50 +0330 on Monday November 20th 2017



نمودار ۶: رابطه بین فعالیت رنین پلاسمایی وآنژیوتانسین یک قبل ، در طی و بعد از هیپوترمی.

روش آماری: روش آماری مورد استفاده در این تحقیق روشpaired t-test میباشد که هر گروه با شرایط پایه (قبل از هیپوترمی) مقایسه شده است.

بحث:

مطالعات نشان داده است که خنک سازی سطحی می تواند به نحو مطلوبی دمای بدن را تا عمق ۵ سانتیمتر کاهش دهد(۸).

از آنجا که ضخامت بدن موشها در ضخیمترین قسمت کمتر از ۷ سانتیمتر است هیپوترمی سطحی برای ایجاد تغییرات مطلوب در دمای مرکزی بدن (core temperature)روشی مفید است . نتایج حاصله از این مطالعه که حاکی از افزایش PRA بلافاصله بعد از هیپوترمی می باشد احتمالا ناشی از عوامل زیر می باشد: مقاومت عروقی در بخش قشری کلیه در اثر سرما بالا رفته و در نتیجهٔ کاهش نسبی جریان خون ایجاد شده که این سبب افزایش ترشح رنین می شود. از طرف دیگر کاهش برون ده قلبی در طی هیپوترمی نیز باعث کاهش پرفوزیون دستگاه مجاور گلومرولی و در نتیجه افزایش ترشح رنین می شود (۹).

افزایشPRA نیز میتواند از دلایل افزایش معنی دار ANG I در هیپوترمی باشد. می دانیم رنین پلاسما سبب تبدیل آنژیوتانسینوژن به ANG I می گردد و ACE(آنزیم مبدل آنژیوتانسین) ANG I رابه ANG II تبدیل می نماید. کاهش فعالیت ACE در اثر هیپوترمی میتواند در افزایش معنی دار ANG I دخیل باشد . این رابطه را بصورت فرمول می توان چنین بیان داشت :

C_{ANGI}= K. PRA/ACE

C_{ANGI} =غلظت پلاسمایی ANG I

K=ثابت تعادل

در هر حال بررسی رابطهٔ ANG I و PRA نوعی همبستگی را بین این دو نشان می دهد.

Popovic عنوان داشت که سطح کورتیکو استروئیدهای پلاسما در هیپوترمی سطحی و مرکزی افزایش می‌یابد ، او مشاهده کرد که حیوانات دارای خواب زمستانی بعد از آدرنالکتومی نمی توانند به خواب زمستانی بروند و چنانچه هورمونهای قشری به آنها تزریق شود ، یا قطعهٔ کوچکی از قشر آدرنال به داخل اطاقک قدامی چشم آنها کاشته شود به خواب زمستانی می روند. همچنین سیستم تنظیم دمای بدن (Thermoregulation) حتی در موجود بدون خواب زمستانی آدرنالکتومی اغتشاش می یابد(۵،۱۰).

افزایشALD بلافاصله بعد از هیپوترمی را می توان به دو عامل مربوط دانست :

۱- افزایش پتاسیم پلاسما در نتیجهٔ کاهش تمایل (Affinity) پمپ سدیم به ATP .

۲- کاهش متابولیسم آلدوسترون در نتیجهٔ کاهش جریان خون کبدی و در نتیجه کاهش کلیرنس متابولیکی ALD در اثر سرما (۱۳-۱۱).

سپاسگزاری :

بدین وسیله از زحمات استاد گرامی جناب آقای دکتر سلیمی خلیق، آقای ابراهیمی ، آقای نقی نژاد ، آقای آهنگران و خانم مهین جعفری که با تلاش مستمر در تکمیل این مطالعه همکاری نمودند کمال تشکر و سپاسگزاری را داریم .

منابع :

1. Barta E , Krzela L, Tordova E. The blood volume and the renin-angiotensin- aldosterone system follwing open – heart surgery. Resuscitation 1980, 8(2): 137-46.
2. Taylor KM, Bain WH, Russel M. Peripheral vascular resistance and angiotensin II levels during pulsatile and non pulsatile cardiopulmonary bypass. Thorax 1979; 34(5): 594-8.
3. Canivet JL, Labuisson R, Damas P. Plasma renin activity and urine B_2 microglobulin during and after CPB: pulsatile vs non- pulsatilp perfusion.

Downloaded from sjh.umsha.ac.ir at 5:50 +0330 on Monday November 20th 2017

Eur Heart J 1990, 11: 1079-1082
4. Gravlee GP, Davis RF, Utley JR. Physiology & clinical hypothermia and neuroendocrine & electrolyte response to CPB. In: Cardiopulmonary bypass, New York : Williams & Wilkins , 1993: 300-304.
5. Popovic V , Popovic P. Hypothermia in biology and medicine. Philadelphia : W.B. Saunders , 1974.
6. Sun LS, Adams DC, Delphin E. Sympathetic response during CPB: Mild versus moderate hypothermia. Crit Care Med 1997; 25:1990-1993.
7. Lester RH, Chernow B, Beardsly D. Alterations in sympathetic nervous activity with inapearative hypothermia during bypass. Chest 1989; 95: 616-22.
8. Collins VJ. Deliberate controlled total body hypothermia and hyperthermia. In : Principles of anesthesiology. 3rd ed. Philadelphia: Lea & Febiger 1992 :1096-1116.
9. Ning XH, Song YC, Xiao Y. Hypothermia preserves function and signaling mitochondrial biogenesis during subsequent ischemia. Am J Physiol 1998: 274: H786-93.
10. Talwar A , Fahim M. Detrimental effect of hypothermia during acute normovolaemic haemodilution in anesthetized cats. Int Biomet Urol 1998 Feb; (3): 113-9.
11. Johnson KB, Wiesmann WP, Peace FJ. The effect of hypothermia on potassium and glucose change in isobaric hemorrhagic shock in the rat. Shock 1996, 6(3): 223-9
12. Liu B, Arlock P, Wohlfart B. Temperature effects on the Na and ca currents in rat and hedgehog ventricular muscle. Cryobiology 1990;28:96-104
13. Kuriu T, Naoka Y, Osava Y. Cold induces decrease of k conductance and its inhibition by a calmoduline antagonist W-7 in paramecium tetraurelia. Cell Struct Func 1997; 22(6): 579-83.