

## بررسی تأثیر هیپوترمی متوسط بر محور رنین - آنژیوتنسنین آلدوسترون در موشهای بزرگ آزمایشگاهی نر

معصومه کورش آرامی\*، دکتر سعید خامنه\*\*، دکتر نصرت الله ضراغی\*\*\*

### چکیده:

هیپوترمی در طبیعت به شکل خواب زمستانی دیده می شود و در پزشکی کاربردهایی چون جراحی قلب باز، نگهداری اعضا و بافتهای پیوندی، طب ارتفاعات و طب سالمندان دارد. علیرغم وسعت مطالعات بر روی هیپوترمی بسیاری از اثرات بیولوژیکی و فیزیولوژیکی آن از جمله تأثیر بر روی تغییرات سیستمهای اندوکرین هنوز کاملاً شناخته نشده است. در این مطالعه تأثیر هیپوترمی بر عملکرد محور رنین، آنژیوتنسنین، 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 مقدار ۱۰۰ gr / ۵ ml / وزن بدن بیوش گردیده بودند توسط دستگاه هیپوترمی تحت سرما قرار گرفتند تا دمای بدن آنها به ۲۵ درجه سانتیگراد برسد. سطوح آنژیوتنسنین و آلدوسترون سرم قبل و بلافاصله بعد از هیپوترمی و سپس به مدت ۳ روز هر ۲۴ ساعت یکبار با استفاده از روش رادیوایمنواسی اندازه گیری شد. فعالیت رنین پلاسمایی نیز با استفاده از روش استاندارد بر مبنای اندازه گیری آنژیوتنسنین I در دماهای ۴ 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 آنژیوتنسنین 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 ۲۴ ساعت بعد نیز روند افزایشی خود را به صورت معنی دار ادامه داد ( $P < 0.05$ ).

بنظر میرسد که هیپوترمی متوسط بر فعالیت رنین پلاسمایی، آنژیوتنسنین و آلدوسترون اثر تحریکی دارد که نتایج این بررسی این موضوع را تایید می نماید.

**کلید واژه ها:** سیستم آنژیوتنسنین رنین / کاهش دمای بدن / موش

### مقدمه:

Canivet و همکارانش نیز در سال ۱۹۹۰ مشاهده

کردند که هیپوترمی مورد استفاده در جراحی قلبی ریوی Cardiopulmonary Bypass (CPB) موجب افزایش فعالیت رنین می شود (۳).

بر این اساس Blair بیان کرد که آزاد سازی

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

\* 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

شدند و دمای بدن آنها تا ۲۵ درجه به مدت ۲ ساعت کاهش پیدا کرد. دمای بدن حیوان در طول هیپوترمی به وسیله 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 و ۷۲ 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 گاما کانتر تعیین شد. PRA توسط فرمول زیر محاسبه گردید (طبق روش‌شور).

$$RPA = \frac{ANG\ I\ at\ 37^{\circ}\ C - ANG\ I\ at\ 4^{\circ}\ C}{\text{زمان انکوباسیون}}$$

### نتایج:

میانگین تغییرات عوامل هومورال مورد مطالعه یعنی PRA, ANGI, ALD در جدول انشان داده شده است.

جدول ۱: تغییرات رنین - آنژیوتانسین - آلدوسترون قبل ، در طی و بعد از هیپوترمی (مقادیر بر حسب میانگین ± خطای استاندارد می 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 NS	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 قبل از هیپوترمی 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 .

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 و شاخه 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- آنژیوتانسین - آلدوسترون) در طی هیپوترمی دارد لیکن باید خاطر نشان نمود که میزان تقویت فعالیت این سیستم در تحقیقات مختلف یکسان گزارش نشده است.

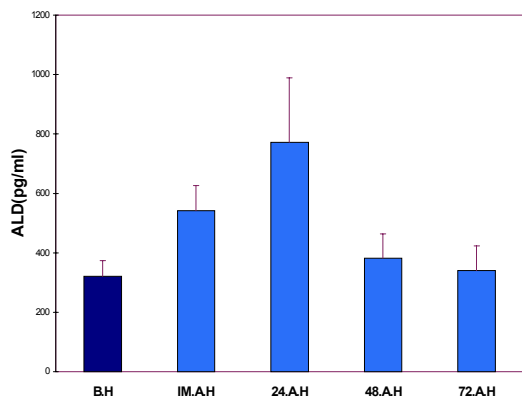
مطالعه حاضر که در پی تعیین فعالیت محور RAAS در موشهای بزرگ آزمایشگاهی تحت تاثیر هیپوترمی می باشد می تواند شاهد دیگری جهت شناخت رابطه بین عوامل مربوطه باشد.

### روش کار:

الف - مواد : ۱- حیوانات مورد آزمایش : حیوانات شامل ۱۰ عدد موش بزرگ آزمایشگاهی (Rat) نر سالم از نوع آلبینو ، نژاد ویستار با میانگین وزنی ۲۷۲ گرم و سن ۴ تا ۷ ماهه بودند. ۲- دستگاه گاما کانتر از نوع 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 .

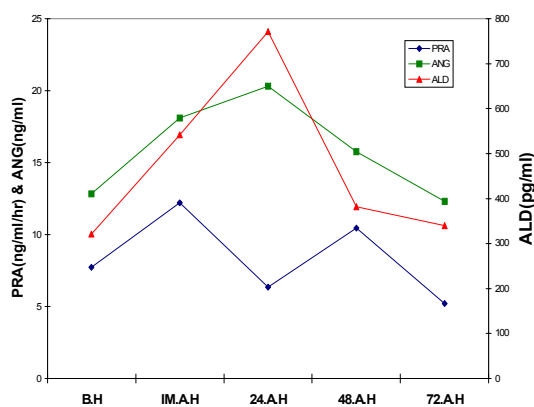
ب - روش : ابتدا دمای بدن موشها به وسیله دماسنج از طریق رکتوم تعیین شد . سپس هیدرات کلرال به طریق داخل صفاقی به میزان ۰/۵ ml/۱۰۰ gr وزن بدن رت تزریق شد . پس از بیهوشی ۱/۵ml خون بطور مستقیم توسط سرنگ از قلب هر حیوان گرفته شد ، سپس حیوانات در محفظه دستگاه هیپوترمی قرار داده

و سوم کاهش یافته که این کاهش از نظر آماری نسبت به سطح پایه تفاوت معنی داری نشان نداد(نمودار ۴).



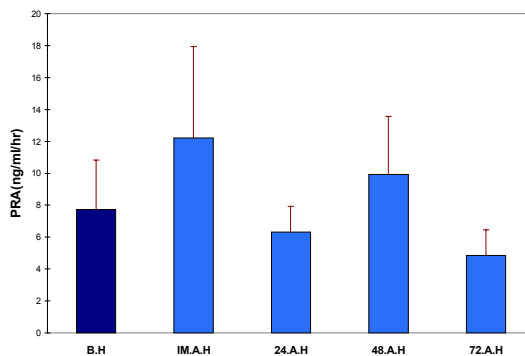
نمودار ۴: تغییرات آلدوسترون در طی هیپوترمی و بعد از آن. نشان داده شده اند.  $Means \pm SE$  داده ها بصورت

همان طوریکه در نمودار ۵ مشاهده می شود ، 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 ماکزیم مقدار آنها در روز اول می باشد.



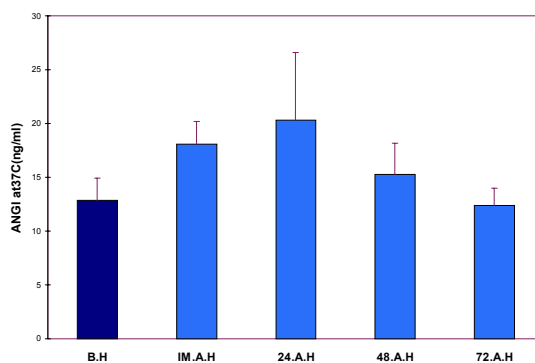
نمودار ۵: مقایسه تغییرات فعالیت رنین پلاسمایی ، آنژیوتانسین یک و آلدوسترون در اثر هیپوترمی. داده ها بصورت میانگین نشان داده شده اند.

همچنین نمودار ۶ نمایانگر یک همبستگی تقریباً کامل بین ANGI ، PRA است ( $p=0, r=0.7$ ).

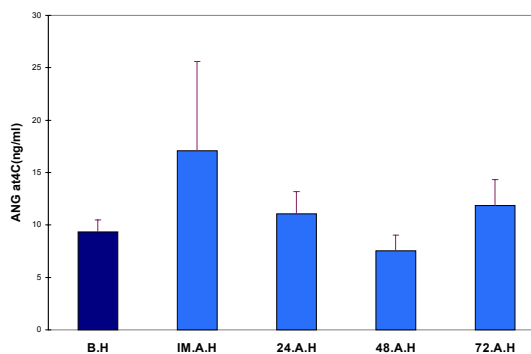


نمودار ۱: تغییرات فعالیت رنین پلازما در طی هیپوترمی و بعد نشان داده شده اند.  $Means \pm SE$  از آن. داده ها بصورت

بلافاصله بعد از هیپوترمی بطور ANGI طبق نمودار ۳ و ۲ معنی داری افزایش پیدا کرد ولی بعد از آن کاهش یافت که این کاهش نسبت به وضعیت قبل از هیپوترمی معنی دار نبود .



نمودار ۲: تغییرات آنژیوتانسین یک پلازما در طی هیپوترمی و نشان داده شده اند.  $Means \pm SE$  بعد از آن. داده ها بصورت



نمودار ۳: تغییرات آنژیوتانسین یک پلازما در طی هیپوترمی و بعد از آن. داده ها بصورت  $Means \pm SE$  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

$$C_{\text{ANGI}} = K \cdot \text{PRA} / \text{ACE}$$

$$\text{ANG I} = \text{غلظت پلاسمایی} = C_{\text{ANGI}}$$

$$K = \text{ثابت تعادل}$$

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

Popovic عنوان داشت که سطح کورتیکو استروئیدهای پلازما در هیپوترمی سطحی و مرکزی افزایش می یابد، 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 قطعه کوچکی از قشر آدرنال به داخل اطاقک قدامی چشم آنها کاشته شود به خواب زمستانی می روند. همچنین سیستم تنظیم دمایی (Thermoregulation) حتی در موجود بدون خواب زمستانی آدرنالکتومی اغتشاش می یابد (۵،۱۰).

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

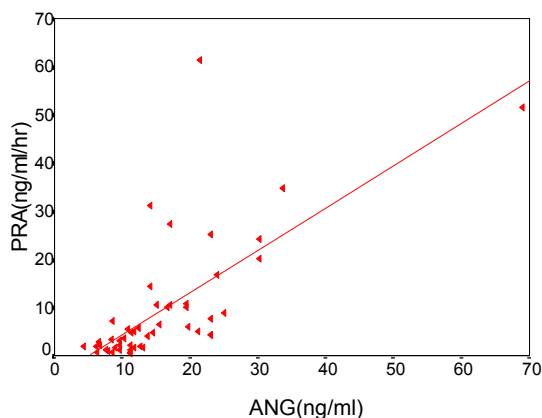
- ۱- افزایش پتاسیم پلازما در نتیجه کاهش تمایل (Affinity) پمپ سدیم به ATP.
- ۲- کاهش متابولیسم آلدوسترون در نتیجه کاهش جریان خون کبدی و در نتیجه کاهش کلیرنس متابولیکی ALD در اثر سرما (۱۳-۱۱).

### 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 following 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<sub>2</sub> microglobulin during and after CPB: pulsatile vs non-pulsatile perfusion.



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

روش آماری: روش آماری مورد استفاده در این تحقیق روش paired 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 احتمالاً ناشی از عوامل زیر می باشد: مقاومت عروقی در بخش قشری کلیه در اثر سرما بالا رفته و در نتیجه 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 گلمرولی و در نتیجه افزایش ترشح رنین می شود (۹).

افزایش PRA نیز میتواند از دلایل افزایش معنی دار ANG I در هیپوترمی باشد. می دانیم رنین پلازما سبب تبدیل آنژیوتانسینون به ANG I می گردد و ACE (آنزیم مبدل آنژیوتانسین) ANG I را به 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 :

- 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, Beardslly 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.