

## پاسخ انقباضی آنورت سینه‌ای به بی‌وزنی پاهای عقبی در موش صحرائی

\* دکتر زهرا حاج‌ابراهیمی: استادیار، پژوهشگاه هوافضا، تهران، ایران (\*نویسنده مسئول). hajebrahimi@ari.ac.ir

هاجر سلطانی: دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشکده زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران.

مائه عربیان: پژوهشگاه هوافضا، تهران، ایران.

دکتر سیما نصری: دانشیار، دانشکده زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران.

دکتر ناهید ابوطالب: استادیار، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران.

تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۰/۳

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۲/۳

### چکیده

**زمینه و هدف:** برای شبیه‌سازی بی‌وزنی در موش صحرائی از مدل بی‌وزنی پاهای عقبی استفاده می‌شود و مشخص شده‌است که پاسخ انقباضی آنورت شکمی در این شرایط کاهش می‌یابد. هدف از مطالعه حاضر بررسی پاسخ انقباضی عضلات صاف آنورت سینه‌ای در شرایط بی‌وزنی حاد و مزمن بود.

**روش کار:** مدل بی‌وزنی پاهای عقبی روی موش صحرائی نر بالغ نژاد ویستار برای ۳ و ۲۰ روز به‌منظور شبیه‌سازی بی‌وزنی بر روی زمین اجرا شد. آنورت سینه‌ای جدا شد و در محلول کربس هانسلیت تحت ۱ گرم کشش اولیه قرار گرفت. منحنی پاسخ انقباضی به دوزهای تجمعی فنیل‌افرین و کلریدپتاسیم در حلقه‌های آنورت فاقد لایه اندوتلیوم در گروه کنترل و گروه‌های بی‌وزن به‌دست آمد.

**یافته‌ها:** پاسخ انقباضی به فنیل‌افرین و کلریدپتاسیم پس از ۲۰ روز بی‌وزنی در مقایسه با گروه کنترل افزایش می‌یافت ( $3/01 \pm 0/58$  گرم در گروه بی‌وزنی و  $2/23 \pm 0/34$  گرم در گروه کنترل در ماکزیمم غلظت فنیل‌افرین؛  $2/71 \pm 0/43$  گرم در گروه بی‌وزنی و  $2/06 \pm 0/40$  گرم در گروه کنترل در ماکزیمم غلظت کلریدپتاسیم). اختلافی بین پاسخ انقباضی در گروه کنترل با گروه ۳ روز بی‌وزنی مشاهده نشد.

**نتیجه‌گیری:** نتایج این مطالعه پیشنهاد می‌کند که بی‌وزنی مزمن انقباض عضلات صاف آنورت سینه‌ای را افزایش می‌دهد. این مسئله ممکن است ناشی از شیفت مایعات بدن در شرایط بی‌وزنی باشد. به‌طور خلاصه، مطالعه عملکرد عروق برای فهم مکانیسم‌های سازگاری عروق به شرایط بی‌وزنی و مقابله با آن مهم است.

**کلیدواژه‌ها:** بی‌وزنی پاهای عقبی، آنورت سینه‌ای، موش صحرائی

### مقدمه

خون و کاهش فعالیت طبیعی سیستم قلبی-عروقی باشد که شامل عدم تحمل ارتوستاتیک (Orthostatic intolerance) و همچنین کاهش توانایی انجام تمرینات ورزشی است (۲). تحقیقات نشان داده است که ۶۴ فضانوردان پس از پرواز نمی‌توانند برای مدت ۱۰ دقیقه بایستند و این حالت برای ۹ الی ۱۴ روز ادامه دارد. مطالعه این فضانوردان نشان داده است که این ناتوانی نسبی در ایستادن ناشی از این است که این فضانوردان قادر نیستند مقاومت محیطی (Peripheral resistance) را افزایش دهند (۳). باوجودی که این تغییرات یک پاسخ سازشی بدن به محیط فضا و شرایط جدید بی‌وزنی است اما در بازگشت به زمین فرد را با مشکل مواجه می‌سازد. امروزه گفته می‌شود که تغییرات بار قلب و عروق

تغییرات فیزیولوژیکی که در بدن در شرایط نبود جاذبه ایجاد می‌شود آرزوی بشر را برای کاوش فضا با محدودیت‌های جدی مواجه ساخته است. بی‌وزنی تأثیرات زیادی بر سیستم قلبی عروقی می‌گذارد. بی‌وزنی و تغییر در وضعیت بدن گرادیان فشار هیدروستاتیک را تغییر می‌دهد و موجب شیفت مایعات بدن از اندام‌های تحتانی به اندام‌های فوقانی می‌شود (۱). در شرایط جاذبه فشارخون در سر ۷۰ میلی‌متر جیوه و در پا ۲۰۰ میلی‌متر جیوه است در حالی که در شرایط بی‌وزنی فشارخون در تمام بدن یکسان و ۱۰۰ میلی‌متر جیوه است. این تغییر ممکن است مسئول سایر تغییرات سیستم قلبی-عروقی چون افزایش حاد اما کاهش مزمن فشار ورید مرکزی، کاهش حجم

## روش کار

**مدل بی‌وزنی پاهای عقبی در موش:** مطالعات نشان داده است که مدل بی‌وزنی پاهای عقبی روش خوبی برای تقلید تغییراتی است که بی‌وزنی در سیستم قلبی-عروقی انسان و موش ایجاد می‌کند که بسیاری از آن‌ها مرتبط با عدم تحمل ارتوستاتیک است (۱۶-۱۱). مدل HLU براساس پروتکل ناسا انجام شد. برای جزئیات بیشتر به مرجع مراجعه شود (۱۶-۱۱).

موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار با میانگین وزن  $250 \pm 300$  گرم از اتاق حیوانات دانشگاه علوم پزشکی ایران تهیه شد و در قفس‌های پلی‌کربنات در دمای ۲۲ سانتی‌گراد و سیکل روشنایی ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی نگهداری شدند و دسترسی آن‌ها به آب و غذا (شرکت خوراک دام پارس، تهران) آزاد بود. حیوانات به‌طور تصادفی به سه گروه کنترل، گروه بی‌وزنی حاد (بی‌وزنی برای ۳ روز) و بی‌وزنی مزمن (بی‌وزنی برای ۲۰ روز) تقسیم شدند. تعداد موش‌ها در هر گروه ۱۲ عدد بود. قبل از اعمال بی‌وزنی، موش‌های دو گروه بی‌وزنی برای مدت یک هفته در قفس بی‌وزنی بدون اعمال بی‌وزنی قرار گرفتند و سپس برای ۳ روز و ۲۰ روز با روش HLU بی‌وزن شدند.

قفس بی‌وزنی در پژوهشکده سامانه‌های فضانوردی ساخته شد. به‌طور خلاصه، حیوان مورد نظر را از قفس در آورده و درون رستینر قرار دادیم. دم حیوان را به وسیله‌ی پنبه و الکل تمیز کرده تا پوست‌های مرده زوده شوند. خشک شدن دم یک دقیقه یا کمتر طول می‌کشد. دم را به وسیله‌ی اسپری چسبنده، اسپری کرده و ۱ الی ۵ دقیقه به آن فرصت دادیم تا خشک شود. نوارهای اتصالی را که به اندازه دوسوم دم بریده شده بود را از بالای محل رویش مو به دم وصل کردیم. هنگامی که نوار به نزدیکی انتهای دم رسید، ادامه نوار را بدون آنکه آن را قطع کنیم از درون صفحه پلاستیکی مستطیل شکل عبور داده و به سمت جانبی مقابل به دم متصل کردیم. نوار کششی به اندازه‌ای باریک بود تا نواری که در یک سمت دم قرار می‌گرفت در تماس با نوار سمت مقابل آن

در کنار سیگنال‌های عصبی-هورمونی مسئول این تغییرات است (۳ و ۴). یک احتمال برای اثر بی‌وزنی بر مقاومت محیطی تغییرات سیستم عصبی سمپاتیک است. Fu و همکاران (۵) نشان دادند که توانایی تحریک فعالیت سیستم عصبی سمپاتیک عضلات با علائم عدم تحمل ارتوستاتیک در شرایط شبیه‌سازی شده بی‌وزنی مرتبط است. در شرایط بی‌وزنی واقعی، Fritsch-Yelle و همکاران (۶) و Meck و همکاران (۴) متوجه شدند که سطح گردش نوراپی‌نفرین قادر به افزایش نیست. این محققین نتیجه‌گیری کردند که بی‌وزنی موجب اختلال در تنظیم مرکزی شده و این امر به‌نوبه خود منجر به کاهش توانایی سیستم سمپاتیک به هنگام ایستادن پس از بازگشت از سفر فضایی می‌شود. مطالعه جوندگان در شرایط شبیه‌سازی بی‌وزنی با روش بی‌وزنی پاهای عقبی در رت (Hindlimb Unloading=HLU) نیز تاییدکننده این مطلب است (۷). مکانیسم محتمل دیگر برای اثرات بی‌وزنی بر مقاومت محیطی، تغییر عضلات صاف شریان‌ها و یا لایه اندوتلیوم عروق است (۸). به‌عنوان نمونه Delp و همکاران (۹) و Purdy و همکاران (۱۰) نشان دادند که HLU پاسخ انقباضی آئورت شکمی را با مکانیسمی مستقل از اندوتلیوم کاهش می‌دهد. درمقابل Sangha و همکاران (۸) متوجه شدند که کاهش پاسخ انقباضی شریان کاروتید به دنبال HLU وابسته به اندوتلیوم است.

همچنین پاسخ انقباضی عروق مختلف در شرایط شبیه‌سازی بی‌وزنی؛ HLU متفاوت است. هدف از مطالعه حاضر بررسی پاسخ انقباضی عضلات صاف آئورت سینه‌ای در مدل بی‌وزنی HLU در موش صحرایی نژاد ویستار بود. مطالعه حاضر نشان داد که بی‌وزنی حاد (۳ روز) تاثیری بر پاسخ انقباضی عضلات صاف آئورت سینه‌ای (آئورت فاقد لایه اندوتلیوم) ندارد در حالی که پاسخ انقباضی این رگ در شرایط بی‌وزنی مزمن (۲۰ روز) افزایش می‌یابد. مطالعه عملکرد عروق برای فهم مکانیسم‌های سازگاری عروق به شرایط بی‌وزنی و مقابله با آن در فضانوردان مهم است.

طور آزادانه در قفس جابه‌جا شوند. معاینه‌ی دم: به طور معمول انتهای دم‌ها در موش‌های بی‌وزن شده، صورتی به نظر می‌رسد. اگر انتهای دم کبود یا آبی کم‌رنگ شد، سریعاً اعمال تصحیحی مورد نیاز است تا باعث گردش خون در دم شود. علاوه بر این حیوانات دوبار در روز چک می‌شدند تا مطمئن شویم که دم حیوان از کمر بند خارج نشده باشد. اگر نوار دور دم خیلی شل شده بود و انتهای نوار کششی از نشانه‌ای که توسط ماژیک در قاعده‌ی دم گذاشته شده بود، لیز خورده بود، نوار رشته‌ای باید جابه‌جا شده و محکم می‌شد. در صورتی که نوار رشته‌ای ۲ الی ۳ روز در جایش ثابت می‌بود، جابه‌جا شده یا به دو قسمت بریده شده و توسط نوار شل تری جایگزین می‌شد تا از محدودیت رشد دم یا گردش خون، جلوگیری به عمل آید. پروتکل کار با حیوانات آزمایشگاهی براساس قوانین بین‌المللی و کمیته اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی ایران انجام گردید.

**آماده‌سازی بافت آئورت:** پس از بیهوشی حیوان با کتامین (۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم) سینه حیوان باز شد و با احتیاط کامل از آئورت سینه‌ای حدود ۲ سانتی‌متر جدا گردید و بلافاصله در محلول سرد و اکسیژنه کربس هانسلیت قرار داده شد و بافت‌های پیوندی از آن جدا شد. آئورت به چند قطعه به طول ۳ میلی‌متر تقسیم شد. برای تخریب لایه اندوتلیال، از سرسوزن ۱۸ که سطح آن ناصاف شده بود استفاده شد که با مالش آرام سرسوزن در سطح داخلی حلقه‌های آئورت لایه اندوتلیال تخریب گردید. قطعه آئورت آماده‌شده بلافاصله به درون حمام بافت (۲۰ میلی لیتر و دارای دو اتاقک) و بین دو میله افقی از جنس استیل زنگ نزن قرار داده شد که یکی به‌طور ثابت در ته حمام بافت قرار داشت و دیگری از طریق نخ به ترانس‌دیوسر ایزومتریک (AD instrument, Australia Power Lab, AD) وصل شد و انقباضات عضله صاف آئورت بوسیله دستگاه پاورلب (instrument, Australia Power Lab, AD) ثبت گردید. دم‌ای محلول کربس هانسلیت حمام ۳۷ سانتی‌گراد و pH آن برابر با ۷/۴ و ترکیب آن بر حسب

نباشد. نوار کششی به ملایمت به دم متصل می‌شد. نوار کششی متصل به دم را توسط دو نوار دیگر که به صورت عرضی بر روی نوارهای طولی به دور دم پیچیده می‌شود محکم و ثابت کردیم. نوار کششی به اندازه‌ی کافی شل بود که به جریان خون طبیعی اجازه گردش دهد. خطی توسط ماژیک در انتهای نوار کششی رسم می‌کردیم تا در صورت جابه‌جایی نوار آن را نشان دهد. سپس موش را به قلاب میله متحرک قفس بی‌وزنی (که در بالاترین قسمت قفس بی‌وزنی اندام‌های عقبی قرار دارد) متصل کردیم. قلاب صفحه مستطیلی را به قلاب میله متحرک وصل می‌کند. پس از آن صفحه محدود کننده رستینر را از محلش خارج کرده و اجازه دادیم تا حیوان از رستینر خارج شده و در قفس جا بگیرد. سپس با تنظیم میله متحرک و صفحات دیواره‌های جانبی قفس، موقعیت حیوان را به گونه‌ای تنظیم کردیم تا بین قفسه سینه حیوان و کف قفس زاویه ۳۰ درجه ساخته شود؛ بنابراین پاهای پشتی موش در تماس با کف قفس نبودند. میله متحرک، قرقره و قلاب به حیوان اجازه می‌داد که آزادانه حول محور  $360^\circ$  جابه‌جا شده و به تمامی قسمت‌های قفس دسترسی داشته باشد. حیوان دسترسی کامل به ظرف غذا و آب داشت. مطالعات نشان داده است که در صورتی که موش اجازه داشته باشد که حول محور xy جا به جا شود و  $360^\circ$  در قفس بچرخد به‌طوریکه به همه‌ی مناطق قفس دسترسی داشته باشد، خیلی سریع تر با محیط سازگار می‌شود. سیستم بی‌وزنی در بالای قفس، بر روی دو طرف موازی قفس سوار شده بود. در این سیستم، از قرقره و مفصل استفاده شده است تا به هنگام انتقال، حداقل اصطکاک ایجاد شده و حیوان بتواند براحتی و بدون استفاده از پنجه‌هایش جابه‌جا شود. زاویه و ارتفاع موش‌ها چک می‌شدند و اگر ایجاد تعادل ضروری بود، این چک کردن به صورت روزانه صورت می‌گرفت. حیوانات روزانه جهت بررسی سلامتشان، معاینه می‌شدند.

نکات خاص معاینه شامل موارد زیر بود: ظاهر کلی و فعالیت حیوان: اطمینان حاصل کردن از اینکه حیوانات می‌خورند، می‌نوشند و قادرند به

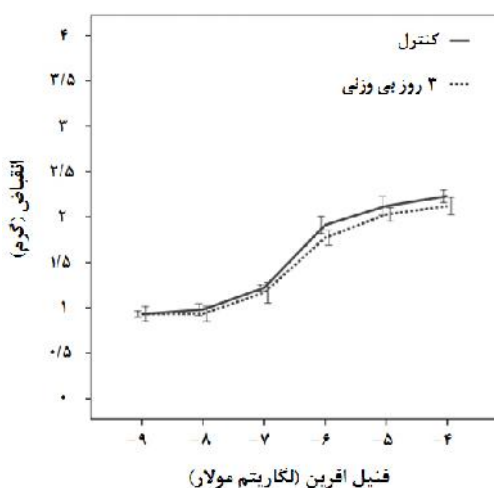


شکل ۱- قفس بی‌وزنی و مدل بی‌وزنی پاهای عقبی در موش صحرایی

استفاده (Bonferroni post hoc analysis) گردید. مقادیر P کوچکتر از ۰/۰۵ به عنوان سطح اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

شکل ۱ نحوه بی‌وزن کردن موش صحرایی را با استفاده از قفس بی‌وزنی نشان می‌دهد. بی‌وزنی حاد تغییری در میزان انقباض آئورت ایجاد نمی‌کرد (شکل ۲) و پاسخ انقباضی عضلات صاف آئورت به غلظت‌های تجمعی فنیل‌افرین در گروه موش‌هایی که ۳ روز تحت تاثیر بی‌وزنی قرار گرفته بودند، تفاوت معنی‌داری را با گروه کنترل نشان نداد ( $p > 0/05$ ).



شکل ۲- منحنی پاسخ انقباضی عضلات صاف آئورت سینه‌ای موش‌های نژاد ویستار به غلظت‌های تجمعی فنیل‌افرین در دو گروه کنترل و گروه تحت تاثیر بی‌وزنی برای مدت ۳ روز؛ مقادیر به صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد بیان شده است.

میلی‌مولار شامل NaCl (۱۱۸)، KCl (۴۷)،  $\text{CaCl}_2$  (۲/۵۲)،  $\text{MgSO}_4$  (۱/۶۴)،  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (۱/۱۸)،  $\text{NaHCO}_3$  (۷) و گلوکز (۵/۵) بود (۱۷) و به‌طور مداوم در معرض مخلوط ۹۵٪ اکسیژن و ۵٪ گاز کربونیک قرار داشت و جریان دائم حباب‌های کوچک اکسیژن از ته حمام برقرار بود.

میزان کشش اولیه ۱ گرم و مدت دوره سازگاری ۶۰ دقیقه بود که طی این مدت هر ۱۵ دقیقه محلول حمام تعویض می‌گردید. برای حصول اطمینان از تخریب لایه اندوتلیوم آئورت، پس از ایجاد انقباض با غلظت  $10^{-6}$  مولار فنیل‌افرین و رسیدن انقباض به حالت کفه، استیل‌کولین با غلظت  $10^{-5}$  مولار به حمام بافت اضافه می‌گردید. عدم مشاهده هرگونه اثر شل‌کنندگی در انقباض ناشی از فنیل‌افرین نشان دهنده تخریب کامل اندوتلیوم بود (۱۸). کلیه نمک‌ها محصول شرکت Merck آلمان بود و فنیل‌افرین و استیل‌کولین از شرکت Sigma آمریکا تهیه شدند. حلال عصاره محلول کربس هانسلیت و حلال مواد آلی موثر بر عروق، آب مقطر بود.

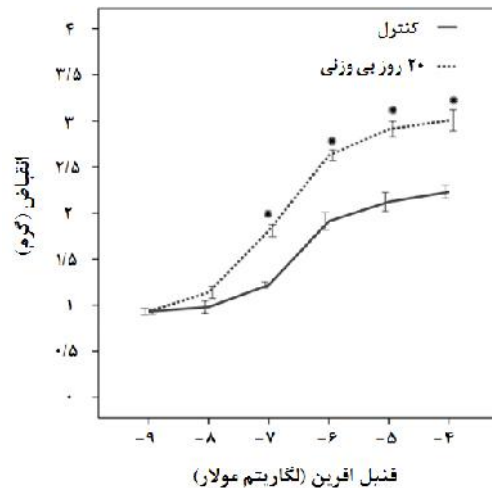
**منحنی پاسخ انقباضی:** پس از اعمال کشش استراحت و تثبیت شرایط بافت و تایید سلامت حلقه‌های آئورت با فنیل‌افرین و تخریب لایه اندوتلیوم با استیل‌کولین، هراتاقت ابتدا با محلول کربس هانسلیت شسته شد و برای مدت ۳۰ دقیقه به بافت اجازه داده شد تا به حالت تون پایه برسد. سپس اثر غلظت‌های تجمعی فنیل‌افرین ( $10^{-9}$ ،  $10^{-7}$ ،  $10^{-6}$ ،  $10^{-5}$  و  $10^{-4}$  مولار) و کلریدپتاسیم (۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ میلی‌مولار) بر انقباض عضله صاف آئورت در ۳ گروه کنترل، بی‌وزنی حاد (۳ روز بی‌وزنی) و بی‌وزنی مزمن (۲۰ روز بی‌وزنی) بررسی گردید و پاسخ‌های انقباض توسط ترانس‌دیوسر ایزومتریک ثبت شد.

**روش‌های آماری:** در هر گروه، نتایج انقباض عضله صاف آئورت به صورت  $\text{mean} \pm \text{SEM}$  محاسبه و ارائه شده است. داده‌ها با استفاده از نرم افزار spss15 (Statistical Package for Social Sciences) تحلیل شد. به منظور بررسی اختلاف بین گروه‌ها از آنالیز واریانس دوطرفه (two-way ANOVA) به همراه آزمون آماری بونفرونی

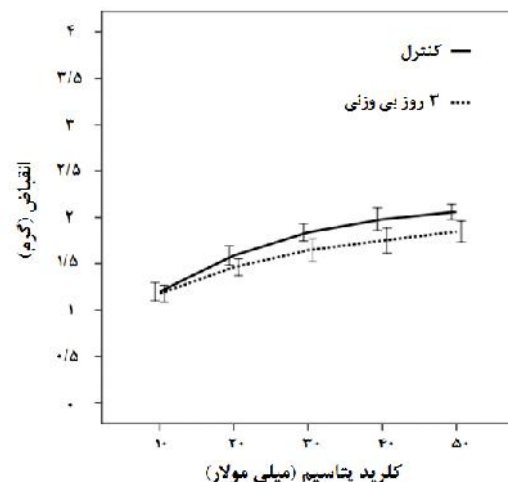
درمقابل، پس از ۲۰ روز بی‌وزنی، پاسخ انقباضی (بیشترین مقدار) عضلات صاف آئورت سینه‌ای به فنیل‌افرین به‌طور قابل توجهی در گروه بی‌وزن در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافت.

شکل ۳ پاسخ انقباضی حلقه‌های آئورت را به فنیل‌افرین پس از ۲۰ روز تعلیق اندام‌های عقبی موش صحرایی نشان می‌دهد. همان‌گونه که در شکل مشخص است میزان انقباض عضلات صاف آئورت سینه‌ای در حضور فنیل‌افرین به میزان قابل توجهی در گروه بی‌وزن در مقایسه با گروه کنترل ( $3/01 \pm 0/058$  گرم و  $2/23 \pm 0/034$  گرم به ترتیب در گروه بی‌وزن و گروه کنترل در ماکزیمم غلظت فنیل‌افرین) بیشتر است ( $p < 0/05$ ).

علاوه بر فنیل‌افرین، تاثیر بی‌وزنی بر انقباض عضلات صاف آئورت توسط ماده کلریدپتاسیم نیز بررسی شد. نتایج به‌دست آمده برای کلریدپتاسیم (شکل ۴) با نتایج به‌دست آمده برای فنیل‌افرین مشابه بود. همان‌گونه که برای فنیل‌افرین ذکر شد؛ بی‌وزنی حاد تغییری در پاسخ انقباضی عضلات صاف آئورت به کلریدپتاسیم ایجاد نمی‌کرد به طوری که اختلاف معنی‌داری بین پاسخ انقباضی موش‌های گروه کنترل با موش‌هایی که ۳ روز تحت تاثیر بی‌وزنی قرار گرفته بودند به غلظت‌های تجمعی کلریدپتاسیم مشاهده نشد ( $p > 0/05$ ) و روند تغییرات در هر دو گروه مشابه با یکدیگر بود. مشابه با نتایج به‌دست آمده برای فنیل‌افرین، بی‌وزنی مزمن، میزان انقباض عضلات صاف آئورت را به کلریدپتاسیم افزایش داد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که پاسخ انقباضی عضلات صاف در آئورت سینه‌ای موش‌هایی که تحت تاثیر بی‌وزنی مزمن بودند در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافت.



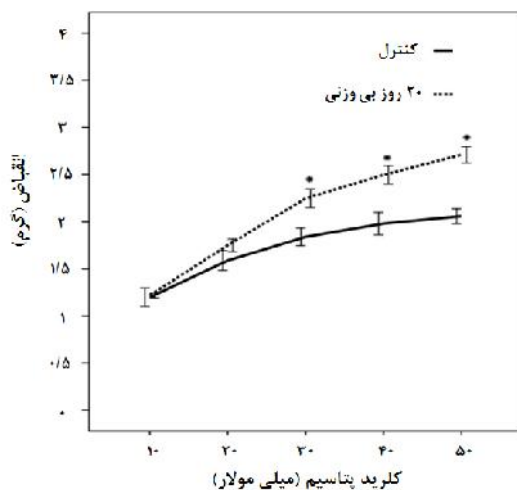
شکل ۳- منحنی پاسخ انقباضی عضلات صاف آئورت سینه‌ای موش‌های نژاد ویستار به غلظت‌های تجمعی فنیل‌افرین در دو گروه کنترل و گروه تحت تاثیر بی‌وزنی برای مدت ۲۰ روز؛ علامت \* بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین دو گروه کنترل و بی‌وزن در غلظت مربوطه است. مقادیر به صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد بیان شده است.



شکل ۴- منحنی پاسخ انقباضی عضلات صاف آئورت سینه‌ای موش‌های نژاد ویستار به غلظت‌های تجمعی کلریدپتاسیم در دو گروه کنترل و گروه تحت تاثیر بی‌وزنی برای مدت ۳ روز؛ مقادیر به صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد بیان شده است.

شرایط فضا و پروازهای فضایی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۹). از داده‌های به‌دست آمده از این مدل می‌توان به منظور کاهش عوارض بالینی ناشی از بی‌وزنی در فضانوردان از جمله مشکلات قلبی-عروقی، هموستاز مایعات بدن، مشکلات عضلانی اسکلتی، مشکلات حرکتی و ... پس از ماموریت‌های فضایی استفاده نمود. همچنین نتایج چنین تحقیقاتی می‌تواند برای درمان مشکلات بالینی بر روی زمین چون رفع مشکلات اندام‌های بدن در مواردی که از آن‌ها زیاد استفاده نمی‌شود مانند تحلیل عضلات و اسکلت بدن سود جست (۱۲).

در شرایط بی‌وزنی یا میکروگراویتی در ماموریت‌های فضایی، خون و مایعات بدن از پاها و اندام‌های تحتانی به سمت سر و قفسه سینه حرکت می‌کند. این حرکت موجب تغییر در عملکرد و ساختار قلب و سیستم عروقی شده و به صورت تغییر در قدرت پمپاژ قلب، قابلیت انقباض عروقی و تغییرات فشارخون بروز می‌یابد. ولی پس از مدتی، سیستم قلبی عروقی با شرایط میکروگراویتی و محیط فضا سازگار می‌شود که همین سازگاری در هنگام بازگشت به زمین مشکل‌ساز می‌شود. روند سازگاری بدین صورت



شکل ۵- منحنی پاسخ انقباضی عضلات صاف آئورت سینه‌ای موش‌های نژاد ویستار به غلظت‌های تجمعی کلریدپتاسیم در دو گروه کنترل و گروه تحت تاثیر بی‌وزنی برای مدت ۲۰ روز؛ علامت \* بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین دو گروه کنترل و بی‌وزن در غلظت مربوطه است. مقادیر به صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد بیان شده است.

شکل ۵ پاسخ انقباضی آئورت سینه‌ای را به غلظت‌های تجمعی کلریدپتاسیم در گروه موش‌هایی که ۲۰ روز تحت تاثیر بی‌وزنی قرار گرفته بودند؛ نشان می‌دهد. همان‌گونه که در نمودار مشخص است میزان انقباض حلقه‌های آئورت در مقایسه با گروه کنترل ( $2/71 \pm 0/43$ ) گرم و  $2/06 \pm 0/40$  گرم به ترتیب در گروه بی‌وزن و گروه کنترل در ماکزیمم غلظت کلریدپتاسیم) افزایش معناداری را نشان می‌دهد ( $p = 0/05$ ).

### بحث و نتیجه‌گیری

در این مطالعه به منظور بررسی اثرات بی‌وزنی بر پاسخ انقباضی بافت آئورت سینه‌ای، حیوانات در معرض شرایط بی‌وزنی حاد (۳ روز) و مزمن (۲۰ روز) با استفاده از "ففس‌های استاندارد بی‌وزنی" قرار گرفتند. پس از سپری شدن دوره بی‌وزنی، پاسخ انقباضی بافت آئورت به فنیل‌افرین و کلریدپتاسیم مورد بررسی قرار گرفت و در گروه‌های بی‌وزنی حاد و مزمن با گروه کنترل مقایسه شد.

روش‌های مختلفی برای شبیه‌سازی بی‌وزنی بر روی زمین وجود دارد که از آن می‌توان به استراحت در بستر و قرار گرفتن سر به سمت پایین با زاویه حدود ۵ درجه (در انسان)، غوطه‌وری در آب و تعلیق اندام‌های عقبی در موش صحرایی و جوندگان اشاره نمود. اگرچه انجام مطالعات، در حین پرواز اولویت بیشتری دارند؛ روش‌های شبیه‌سازی بی‌وزنی بر روی زمین به دلیل کم‌هزینه بودن و حذف محدودیت‌های زمانی و مکانی در مقایسه با شرایط واقعی فضا بسیار حائز اهمیت می‌باشد. اساس اکثر این مدل‌ها بر شیفت مایعات و خون از اندام‌های تحتانی به اندام‌های فوقانی استوار است که در شرایط بی‌وزنی اتفاق می‌افتد. در بین این روش‌ها، مدل بی‌وزن شدن اندام‌های عقبی در جوندگان به گونه‌ای که سر رو به پایین است و اندام‌های عقبی موجود از زمین فاصله دارد، به عنوان جدیدترین و کارآمدترین مدل شبیه‌سازی بی‌وزنی به‌طور گسترده‌ای برای مطالعه پاسخ‌های فیزیولوژیک در

وجود اندوتلیوم و تخریب اندوتلیوم با یکدیگر مقایسه کردند. آن‌ها مشاهده کردند که مدل تعلیق پاهای عقبی پس از ۲۰ روز، تاثیری بر پاسخ انقباضی بافت آئورت دارای اندوتلیوم در موش‌های نژاد ویستار ندارد در حالی که این پاسخ در نژاد SD کاهش یافت. از طرف دیگر با تخریب اندوتلیوم HLU موجب افزایش پاسخ انقباضی آئورت در موش‌های نژاد ویستار شد و بر نژاد SD تاثیری نداشت. بنابراین می‌توان این‌گونه نتیجه‌گیری کرد که بی‌وزنی مزمن موجب افزایش انقباض عضلات صاف آئورت فاقد اندوتلیوم در نژاد ویستار می‌شود ولی بر نژاد SD تاثیری ندارد. یافته‌های مطالعه حاضر با نتایج به دست آمده از مطالعه Summers و همکاران مطابقت دارد چراکه بی‌وزنی مزمن منجر به افزایش پاسخ انقباضی آئورت سینه‌ای به فنیل‌افرین در بافت آئورت فاقد اندوتلیوم در نژاد ویستار شده است. در واقع نتایج به دست آمده توسط Summers با نتایج به دست آمده توسط White در ۲۰ روز متفاوت است و یافته‌های مطالعه حاضر تاکیدی بر نتایج مطالعه Summers و همکاران است. احتمالاً پاسخ انقباضی در نژادهای مختلف در شرایط بی‌وزنی با یکدیگر متفاوت است و تفاوت‌های ژنتیکی در ساختار و عملکرد عضلات صاف عروقی ممکن است مسئول این اختلاف مشاهده شده باشد.

از طرف دیگر نتایج به دست آمده از بررسی آئورت شکمی نشان داده است که HLU باعث کاهش انقباض در بافت آئورت شکمی در دو حالت دارای اندوتلیوم و فاقد اندوتلیوم در هر دو نژاد SD (۹) و ویستار (۱۰) می‌شود. به طور کلی در شرایط بی‌وزنی حاد، حجم خون در محل آئورت شکمی کاهش می‌یابد در حالی که در قفسه سینه و در محل آئورت سینه‌ای افزایش می‌یابد و این شیفت خون و مایعات باعث می‌شود که انقباض عضله صاف آئورت شکمی افزایش ولی در آئورت سینه‌ای کاهش یابد. نکته حائز اهمیت این است که تغییرات ایجاد شده در فعالیت انقباض عروقی در شرایط بی‌وزنی حاد و مزمن متفاوت است، زیرا قرارگیری طولانی مدت در برابر بی‌وزنی (بی‌وزنی

است که در ابتدا تجمع خون در قفسه‌سینه و جریان آن به سمت قلب باعث افزایش بازگشت وریدی و در نتیجه افزایش حجم ضربه‌ای، تعداد ضربان قلب و برون‌ده قلبی می‌شود. ۲۴ ساعت پس از قرارگیری در معرض بی‌وزنی، فعال شدن مکانیسم جبرانی کلیه‌ها منجر به دفع آب و مایعات بدن می‌شود به طوری که حجم خون کاهش یافته و در نتیجه آن حجم ضربه‌ای و برون‌ده قلبی کاهش می‌یابد (۲۰). مطالعات زیادی پیرامون تغییر میزان انقباض رگ‌ها از جمله آئورت سینه‌ای و شکمی و گردنی و بررسی پدیده عدم تحمل ارتوستاتیک ناشی از بی‌وزنی صورت گرفته‌است و نتایج تقریباً متفاوتی حاصل شده‌است که از جمله علل اصلی این تفاوت‌ها می‌توان به موقعیت آناتومیکی رگ، نوع رگ، زمان مشاهده نتیجه و سن حیوان اشاره کرد. در مطالعه حاضر به مقایسه پاسخ انقباضی آئورت سینه‌ای در موش صحرایی در شرایط بی‌وزنی حاد (۳ روز) و بی‌وزنی مزمن (۲۰ روز) پرداخته شد.

نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان داد که پاسخ انقباضی بافت آئورت به فنیل‌افرین در گروه بی‌وزنی حاد هیچ اختلاف معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل نشان نداد در حالی که بی‌وزنی مزمن باعث افزایش معنی‌دار انقباض آئورت شد. مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۰ توسط White و همکاران صورت گرفت نشان داد (۱۷) فعالیت انقباضی بافت آئورت دارای اندوتلیوم سالم در موش صحرایی نژاد ویستار پس از ۳ و ۲۰ روز بی‌وزنی در پاسخ به فنیل‌افرین به شدت کاهش می‌یابد. در مقابل زمانی که لایه اندوتلیوم تخریب می‌شد پاسخ انقباضی آئورت سینه‌ای به فنیل‌افرین پس از ۳ روز بی‌وزنی اختلافی را با گروه کنترل نشان نمی‌داد و در حالت ۲۰ روز بی‌وزنی تنها در غلظت‌های بالای فنیل‌افرین پاسخ انقباضی افزایش می‌یافت و در غلظت‌های پایین در پاسخ انقباضی اختلال ایجاد می‌شد. در مطالعه‌ای دیگر، Summers و همکاران (۲۱) در سال ۲۰۰۷ پاسخ انقباضی آئورت سینه‌ای را در موش صحرایی نژاد ویستار و نژاد SD به فنیل‌افرین پس از ۲۰ روز بی‌وزنی در هر دو حالت



سلول عضلات صاف و رسپتورهای سطح سلول به پتاسیم شده باشد و این تغییر نیاز به زمان داشته است به گونه‌ای که در بی‌وزنی مزمن دیده می‌شود و پس از ۳ روز تغییری مشاهده نمی‌گردید.

یافته‌های مطالعه حاضر حاکی از این است که بی‌وزنی مزمن سبب افزایش وابسته به غلظت در انقباض ناشی از کلریدپتاسیم می‌گردد. بر اساس این نتایج، می‌توان نتیجه‌گیری نمود که احتمالاً بی‌وزنی مزمن بخشی از عمل تحریکی خود را از طریق کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ انجام می‌دهد. در این تحقیق از فنیل‌افرین نیز به عنوان محرک عضله صاف آئورت استفاده گردید. گزارش شده است که این دارو محرک پر قدرت گیرنده آلفا یک، با اثر جزئی بر گیرنده بتا می‌باشد. فنیل‌افرین بیشترین اثر خود را از طریق تأثیر مستقیم بر گیرنده و تنها جزء ناچیزی از اثر خود را از طریق آزادسازی نوراپی‌نفرین اعمال می‌کند. در آئورت موش صحرایی گیرنده‌های آلفا یک، به عنوان بیشترین گیرنده آدرنرژیک در این محل، شناسایی شده و نشان داده‌اند که این گیرنده‌ها در پاسخ به فنیل‌افرین فعال شده و موجب انقباض عضله صاف آئورت می‌شوند (۲۲). نتایج این تحقیق نشان داد که بی‌وزنی مزمن و نه حاد، سبب افزایش وابسته به غلظت در انقباض ناشی از فنیل‌افرین می‌گردد. بر اساس این نتایج می‌توان گفت که احتمالاً بی‌وزنی با گذشت زمان، حساسیت رسپتورهای آلفا یک را در بافت آئورت به فنیل‌افرین افزایش داده است، به همین دلیل این تأثیر در بی‌وزنی مزمن و نه در بی‌وزنی حاد مشاهده شد. در کل مطالعات بیشتری باید صورت بگیرد تا مکانیسم دقیق این تغییرات انقباضی و مسیرهای مولکولی آن مشخص گردد و مشخص شود که آیا سطح کلسیم درون سلولی به دنبال تحریک با آگونیست‌ها، در رگ‌های تحت تأثیر شبیه‌سازی بی‌وزنی با روش تعلیق اندام‌های عقبی تغییر می‌کند یا خیر.

با این حال تفاوت‌هایی که بین مطالعات مختلف ممکن است دیده شود بیان‌کننده این است که الگوهای زمینی ممکن است کافی نباشد و شاید برخی از اثرات بی‌وزنی را نتوان روی زمین بررسی

مزمین) باعث می‌شود که مکانیسم‌های مربوط به تشنگی مهار شود و در نتیجه دریافت آب و مایعات کاهش یابد. همچنین سیگنال‌هایی از مغز به کلیه‌ها می‌رود که باعث افزایش دفع آب و مایعات از طریق کلیه‌ها می‌شود، در نتیجه این مکانیسم‌های جبرانی حجم خون کاهش می‌یابد. بنابراین در بی‌وزنی مزمن، علی‌رغم شیفت خون به سمت قفسه سینه، کاهش حجم خون بدن باعث می‌شود که فعالیت انقباضی در آئورت سینه‌ای افزایش یابد (۲۱).

به‌طور کلی به‌نظر می‌رسد که تغییرات حاد و اولیه که در پاسخ عروق سینه‌ای در بی‌وزنی (پس از ۳ روز) مشاهده می‌شود وابسته به لایه اندوتلیوم است ولی پاسخ‌های ایجاد شده در فاز مزمن ترکیبی از هر دوی مکانیسم‌های وابسته به لایه اندوتلیوم و مکانیسم‌های مستقل از لایه اندوتلیوم است. از مکانیسم‌های مستقل از لایه اندوتلیوم می‌توان به عضله صاف رگ، کانال‌های یونی، رسپتورهای سطح غشاء عضله و همچنین تغییر در سطح بیان پروتئین‌ها و ژن‌های داخل سلولی اشاره نمود. هنگامی که اندوتلیوم سالم است دو پارامتر جداگانه مسئول تعیین میزان انقباض عروق است: یکی تحریک عضله صاف عروق و دیگری آزاد شدن شل‌کننده‌های عروقی از لایه اندوتلیوم (۲۱). از آنجایی که در این مطالعه HLU انقباض آئورت فاقد اندوتلیوم را پس از ۲۰ روز افزایش داده است، می‌توان این‌گونه فرض کرد که HLU از طریق تأثیر بر مکانیسم‌های غیر وابسته به اندوتلیوم توانسته فعالیت انقباضی آئورت سینه‌ای را تغییر دهد.

در این مطالعه همچنین، اثرات بی‌وزنی حاد و مزمن بر انقباض ناشی از کلریدپتاسیم در آئورت مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به‌دست آمده در این بخش نیز مشابه نتایج به‌دست آمده از اثرات فنیل‌افرین بود، به طوری که بی‌وزنی حاد تأثیری بر انقباض ناشی از کلریدپتاسیم نداشت ولی بی‌وزنی مزمن باعث افزایش معنی‌دار انقباض ناشی از کلریدپتاسیم در مقایسه با نمونه‌های کنترل شده است. این احتمال وجود دارد که بی‌وزنی منجر به افزایش حساسیت کانال‌های غشاء



sympathetic nerve activity after cardiovascular deconditioning in rats. *Am J Physiol.* 1998;274(5 Pt 2):R1397-405.

8. Sangha DS, Vaziri ND, Ding Y, Purdy RE. Vascular hyporesponsiveness in simulated microgravity: role of nitric oxide dependent mechanisms. *Appl Physiol.* 2000;88(2): 507-17.

9. Delp MD, Binkley T, Laughlin MH, Hasser EM. Vasoconstrictor properties of rat aorta are diminished by hindlimb unloading. *J Appl Physiol.* 1993;75(6):2620-8.

10. Purdy RE, Duckles SP, Krause DN, Rubera KM, Sara D. Effect of simulated microgravity on vascular contractility. *J Appl Physiol.* 1998; 85(4):1307-15.

11. Martel E, Champeroux P, Lacolley P, Richard S, Safar M, Cuhe JL. Central hypervolemia in the conscious rat: a model of cardiovascular deconditioning. *J Appl Physiol.* 1996;80(4):1390-6.

12. Morey-Holton ER, Globus RK. Hindlimb unloading rodent model: technical aspects. *J Appl Physiol.* 2002;92(4):1367-77.

13. Tuday EC, Meck JV, Nyhan D, Shoukas AA, Berkowitz DE. Microgravity-induced changes in aortic stiffness and their role in orthostatic intolerance. *J Appl Physiol.* 2007; 102(3):853-8.

14. Wilkerson MK, Lesniewski LA, Golding EM, Bryan RM Jr, Amin A, Wilson E, et al. Simulated microgravity enhances cerebral artery vasoconstriction and vascular resistance through endothelial nitric oxide mechanism. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2005; 288(4):H1652-H1661.

15. Zhang LF. Vascular adaptation to microgravity: what have we learned? *J Appl Physiol.* 2001;91(6):2415-30.

16. Morey-Holton E, Globus RK, Kaplansky A, Durnova G. The hindlimb unloading rat model: literature overview, technique update and comparison with space flight data. *Adv Space Biol Med.* 2005;10:7-40.

17. White AR., Ryoo S, Bugaj L, Attarzadeh DO, Thiyagarajan S, Chen K, et al. Early changes in vasoreactivity after simulated microgravity are due to an upregulation of the endothelium-dependent nitric oxide/cGMP pathway, *Eur J Appl Physiol.* 2010; 110(2):395-404.

18. Barriere E, Tazi KA, Pessione F, Heller J, Poirel O, Lebec D, et al. Role of small conductance Ca<sup>2+</sup>-dependent K<sup>+</sup> channels in vitro nitric oxide-mediated aortic hyporeactivity to -adrenergic vasoconstriction in rats with cirrhosis. *J Hepathol.* 2001; 35(3):350-7.

19. Deavers DR, Musacchia XJ, Meininger GA. Model for antiorthostatic hypokinesia: head-down tilt effects on water and salt excretion. *Apple Physiol Journal.* 1980;49:576-82.

20. Davis R. Fundamentals of Aerospace Medicine. In: Dehart RL, Davis JR, editors. *Clinical aerospace cardiovascular medicine.* 3rd

کرد. متاسفانه استفاده بارز از عوامل دارویی و فقدان کنترل بر شرایط آزمایشگاهی همچون خواب، خوردن (تغذیه) و فعالیت‌های برنامه‌ریزی‌شده مأموریت‌های فضایی در تفسیر اینکه چه مقدار از این تفاوت مشاهده شده بین پروازهای فضایی و آزمایش‌های سطح زمین عملاً ناشی از تفاوت بین دو محیط است و چه مقدار ناشی از عوامل مخدوش‌کننده است، به‌طور بارزی توانایی ما را در تفسیر نتایج کاهش می‌دهد.

### تقدیر و تشکر

این پژوهش به عنوان پروژه تحقیقاتی طبق بند ۳ صورتجلسه شماره ۳۴۶ مورخ ۱۳۹۰/۱۱/۱۲ از سوی شورای پژوهشی پژوهشکده سامانه‌های فضانوردی تصویب شده و از حمایت مالی این پژوهشکده برخوردار بوده است. لذا مجری پروژه از مسئولان ذیربط صمیمانه تشکر می‌نماید.

### منابع

1. Hargens AR, Steskal J, Johansson C, Tipton CM. Tissue fluid shift, forelimb loading, and tail tension in tail-suspended rats. *Physiologist.* 1984; 27(Suppl.):S37-S38.

2. Watenpugh DE, Hargens AR. The cardiovascular system in microgravity. in: Bethesda, editors. *Handbook of physiology. Environmental physiology.* American Physiological Society. 1996.

3. Buckley JC Jr, Lane LD, Levine BD, Watenpugh DE, Wright SJ, Moore WE, et al. Orthostatic intolerance after spaceflight. *J Appl Physiol.* 1996;81(1):7-18.

4. Meck JV, Waters WW, Ziegler MG, deBlock HF, Mills PJ, Robertson D, et al. Mechanisms of post space flight orthostatic hypotension: low alpha1-adrenergic receptor responses before flight and central autonomic dysregulation post flight. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2004; 286(4):1486-1495.

5. Fu Q, Witkowski S, Levine BD. Vasoconstrictor reserve and sympathetic neural control of orthostasis. *Circulation.* 2004;110:2931-7.

6. Fritsch-Yelle JM, Whitson PA, Bondar RL, Brown TE. Subnormal norepinephrine release relates to presyncope in astronauts after space flight. *J Appl Physiol.* 1996; 81(5):2134-41.

7. Moffitt JA, Foley CM, Schadt JC, Laughlin MH, Hasser EM. Attenuated baroreflex control of

ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2008. p. 333-361.

21. Adolph S, Ralph E. Endothelial role in the thoracic aorta response to hindlimb unloading in rats. *Aviat Space Environ Med.* 2007;78(12):323-29.

22. Gillman AG, Goodman LS, Rall TW, Murad F. *The pharmacological basis of therapeutic.* 7th ed. New York: Macmillan Publishing Company; 1991. p. 170.

## Contractile responses of thoracic aorta to hindlimb unloading in rat

**\*Zahra Hajebrahimi**, Assistant Professor, Aerospace Research Institute, Tehran, Iran (\*Corresponding author). [Hajebrahimi@ari.ac.ir](mailto:Hajebrahimi@ari.ac.ir)

**Hajar Soltani**, Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran.

**Maedeh Arabian**, Aerospace Research Institute, Tehran, Iran.

**Sima Nasri**, Associate Professor, Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran.

**Nahid Aboutaleb**, Assistant Professor, Physiology Research Center Department, Faculty of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

### Abstract

**Background:** Hindlimb Unloading (HLU) is used to simulate microgravity in rats and has been shown to decrease contractile response in the abdominal aorta. The aim of present study was to investigate the contractile responses of smooth muscle of thoracic aorta following acute and chronic microgravity treatment.

**Methods:** Male adult rats (Wistar) were subjected to HLU for 3 and 20 days to establish ground-based-model of microgravity. The thoracic aortas were dissected and suspended in Krebs-Henseleit solution less than 1 g resting tension. Concentration response curves to cumulative doses of phenylephrine (PHE) and KCL were obtained in endothelium-denuded rings from control and HLU groups. Statistical analysis was carried out using analysis of two-way ANOVA and post hoc Bonferroni test.

**Results:** Contractile response of 20-day HLU-treated tissues with phenylephrine and KCL were increased in endothelium-denuded rings versus control group ( $3.01 \pm 0.058$  vs.  $2.23 \pm 0.034$  g at max (phenylephrine), HLU-20 vs. control;  $2.71 \pm 0.043$  vs.  $2.06 \pm 0.040$  g at max (KCl), HLU-20 vs. control). There was no difference in vasoresponsiveness between control and 3-day HLU rings.

**Conclusion:** Results of this study suggest that chronic HLU increase smooth muscle contracting in the thoracic aorta. It is proposed that these effects may be related to the fluid shifts in microgravity condition. Briefly, studies of vascular function are of particular importance in elucidating the mechanisms underlying vascular adaptation to microgravity and its gravity based countermeasure.

**Keywords:** Hindlimb unloading, Thoracic aorta, Rat