بیمارستان قلب شهید رجایی

تأثیر اسیدی کردن متوسط pH خون شریانی بر میزان سطح بیومارکر miR-۴۹۹ در دقایق اولیه پس از باز کردن کلامپ آئورت حین جراحی دریچه قلب: یک مطالعه مقدماتی

شناسنامه طرح

کد رهگیری طرح:	۹۹۱۲۷
تاریخ تصویب پیش پروپوزال:	
عنوان طرح:	تأثیر اسیدی کردن متوسط pH خون شریانی بر میزان سطح بیومارکر miR-۴۹۹ در دقایق اولیه پس از باز کردن کلامپ آئورت حین جراحی دریچه قلب: یک مطالعه مقدماتی
عنوان لاتین طرح:	The effect of moderate acidification of arterial blood pH on the rate of miR-۴۹۹ Biomarker level in the early minutes after aortic clamp opening during heart valve surgery: A Pilot Study
تلفن:	۰۹۱۲۲۰۱۴۱۸۱
پست الکترونیکی:	saeid.hosseini@yahoo.com
نوع مطالعه:	کارآزمایی بالینی-Clinical trial
تاریخ شروع:	۱۴۰۰/۰۴/۰۱
تاریخ خاتمه:	۱۴۰۱/۰۴/۰۱
محل اجرای طرح:	
محل اجرای طرح:	بیمارستان قلب شهید رجایی
سازمان مجری:	بیمارستان قلب شهید رجایی
سازمان مجری:	
دانشکده/محل خدمت:	Rajaie Cardiovascular Medical and Research Center, Iran University of Medical Sciences
رشته تخصصی:	قلب و عروق- جراحی
توضیحات:	
نوع طرح ها:	

مجری / همکاران

نام و نام‌خانوادگی	سمت در طرح	نوع همکاری	توضیحات
سعید حسینی	مجری اصلی / نویسنده مقاله	طراحی و تدوین طرح	
محمدضیاء توتونچی	همکار طرح	مشاور	

قربانی			
تورج بابائی	ناظر	نظارت بر اجرای طرح	
مائده عربیان	همکار طرح	مشاور	
محمود شیخ فتح الهی	همکار طرح	مشاوره و آنالیز آماری	
آمنه قنبری	همکار طرح	مشاور	
آرگنیا میناسیانس	مجری ونویسنده مقاله	طراحی و تدوین طرح	

دانشکده/مرکز مربوطه

رده	نوع ارتباط با مرکز
گروه جراحی	وارد کننده

متون پیشنهاد

آیتم اطلاعات تفضیلی	متن

جدول متغیرها

جدول متغیرها:

ردیف	عنوان متغیر	نوع متغیر			کمی		کیفی		تعریف علمی–عملی	نحوه اندازه–گیری	مقیاس
		مستقل	وابسته	مداخله	پیوسته	گسسته	اسمی	رتبهای			
۱	نوع pH قبل از ریپرفیوژن	*					*		pH طبیعی در محدوده ۷/۳۵ تا ۷/۴۵ قرار دارد. اسیدوز به زمانی اطلاق میشود که pH خون پایینتر از ۷/۳۵ قرار گیرد	آزمایشنمونه خون شریانی	بلی، خیر
۲	میکرو ۴۹۹RNA		*		*				در آسیب ایسکمی_ ریپرفیوژن نقش محافظتی دارد	آزمایش نمونه خون سینوس کرونر	*واحد در میلی لیتر*
۳	آنزیمهای گلوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسید دسموتاز								آنتی اکسیدان‌ها گروهی از ویتامینها، عناصر معدنی و آنزیمها هستند که از تشکیل رادیکال–های آزاد در بدن جلوگیری می‌کنند	آزمایش نمونه خون سینوس کرونر	*واحد در میلی لیتر*

۴	آنزیمهای قلبی (مقادیر تروپونین، وLDH CKMB قبل از عمل، ۶ و ۲۴ ساعت پس از عمل جراحی		*		*			آنزیمهای اختصاصی قلب و مارکر انفارکتوس میوکارد	آزمایش نمونه خون	میکروگرم در دسی لیتر
۵	مالونیل دی الدئید		*		*			به عنوان بیومارکر اصلی استرس اکسیداتیو	آزمایش نمونه خون سینوس کرونر	میکرو مول در دسی لیتر
۶	NO		*		*			این ترکیب دارای خاصیت اتساع عروق بوده و باعث حفاظت قلبی میشود	آزمایش نمونه خون سینوس کرونر	میکرو مول در دسی لیتر

جدول زمان بندی

جدول زمان بندی مراحل اجرای طرح[۱۳]

ردیف	فعالیت	مسئول	ماه											
			۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲
۱	انجام تحقیق و جمعآوری اطلاعات	دانشجو	*	*	*	*	*							
۲	تجزیه و تحلیل آماری	مشاور آماری						*	*	*				

۳	نگارش و دفاع نهایی	دانشجو											*	*	*	*

بیان مسئله

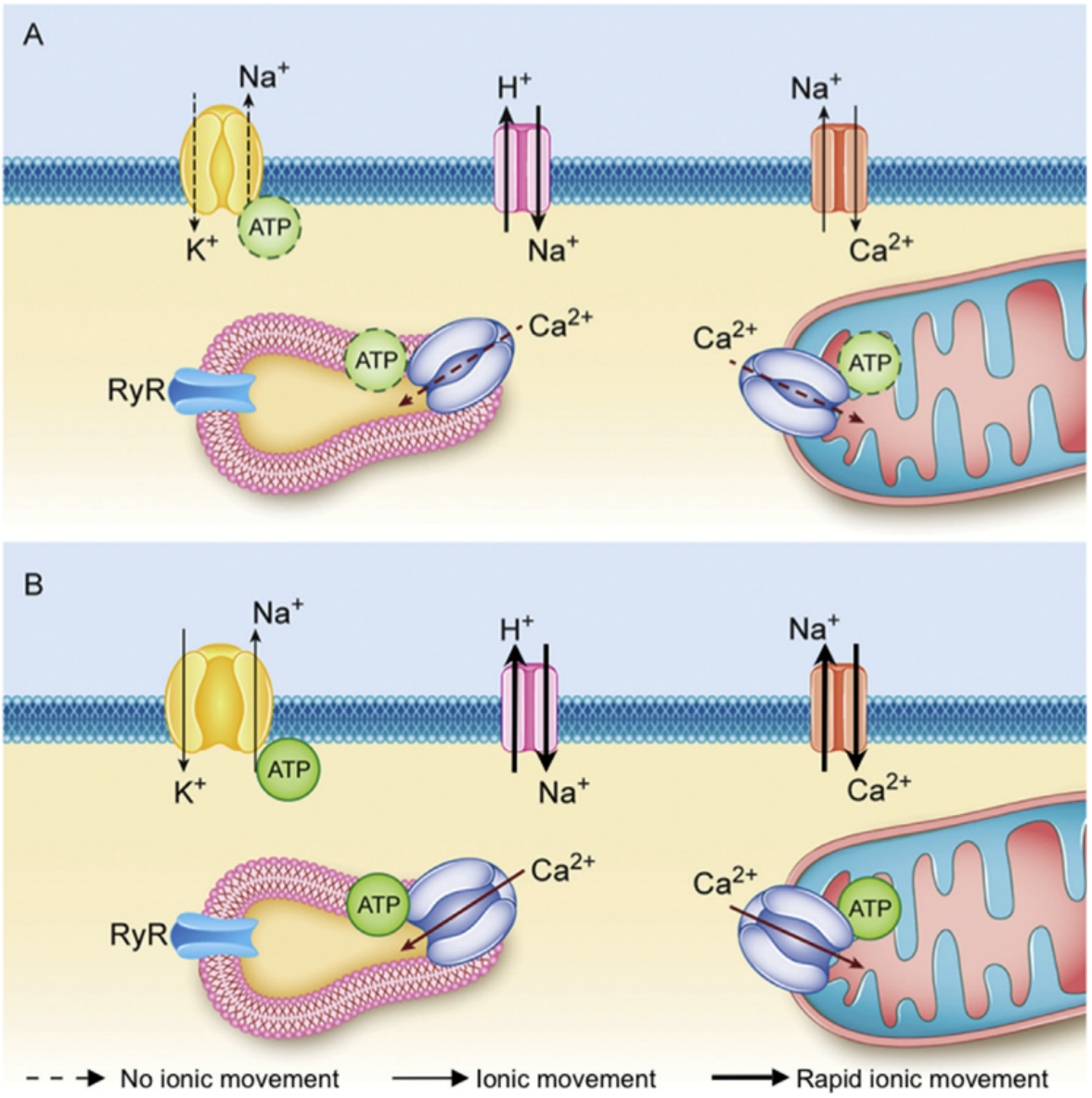
بیان مسئله :

در حین جراحی قلب، درجاتی از صدمه به میوکارد اجتناب ناپذیر میباشد. شایعترین تکنیک حفاظت از میوکارد شامل کاهش درجه حرارت عضله میوکارد (هیپوترمی) و متوقفکردن قلب از حرکت به وسیله تزریق محلول فلجکننده (کاردیوپلژی) به عروق شریانهای کرونری قلب میباشد که هم مصرف انرژی و اکسیژن در عضله قلب را کاهش داده و هم با فراهم آوردن قلبی عاری از خون و حرکت، شرایط مناسبی را برای انجام پروسیجر جراحی بر روی ان فراهم میکند.
این استراتژیها موجب کاهش آسیب عضله میوکارد در دوره بیخونی و کمبود اکسیژن ناشی از توقف حرکت و جریان خون در عروق قلبی میشود اما نمیتوان آسیب ناشی از این اقدامات را بهطور کامل از بین برد (Shafee, ۱۳۸۶).

در واقع بسیاری از پروسیجرهای جراحی قلب نیاز به یک دوره زمانی برای متوقف بودن (ارست قلبی) و خالی بودن حفرههای قلب از خون (کلمپ شدن آئورت) دارند که گاه این زمان قابل ملاحظه است. مداخلاتی که به منظور ایجاد شرایط مناسب برای پروسه جراحی قلب (ارست و ایسکمی) انجام میشوند منابع غنی انرژیزا در سلول را کاهش میدهند. در صورتیکه روشهای محافظتی خاصی برای جبران این عارضه اتخاذ نشود، میتواند منجر به مرگ سلولی و در نهایت کاهش شدید انقباضات قلبی گردد. این اتفاقات به تغییر جریان خون میوکارد و به دنبال آن تغییر در عرضه و تقاضای اکسیژن و سپس برقراری مجدد جریان خون (ریپرفیوژن) در انتهای دوره ارست و ایسکمی مربوط میشود که میتواند آسیبهای غیر قابل برگشت و جبران ناپذیری در قسمتهای انرژیزای سلولهای میوکارد و کاهش شدید انقباضات قلبی به وجود آورد. به همین دلیل محافظت از عملکرد عضله میوکارد در مقابل آسیب ناشی از ایسکمی و ریپرفیوژن (برقراری مجدد جریان خون در عروق کرونر) اهمیت بسیار زیادی پیدا میکند و تیمهای جراحی قلب به دنبال بهترین استراتژی برای به حداقل رساندن این عوارض هستند (Shafee, ۱۳۸۶) (Turer and Hill, ۲۰۱۰) (Ferrari et al., ۲۰۱۶).

در مرحله بعد از ایسکمی و به دنبال برداشته شدن کلامپ آئورت، دوباره خون در قلب جریان پیدا میکند. این جریان مجدد هم صدماتی تحت عنوان آسیب ناشی از پرفیوژن مجدد (Reperfusion injury) در عضله میوکارد به وجود میآورد (Shafee, ۱۳۸۶) . اولین بار آسیب در حین ریپرفیوژن، توسط Jennings در سال ۱۹۶۰ مطرح شد (Turer and Hill, ۲۰۱۰). آسیب ناشی از ریپرفیوژن به مجموعهای از حوادث پاتولوژیک گفته میشود که پس از برقراری مجدد جریان خون در قلب ایجاد میشود. مطالعات آزمایشگاهی به نحو متقاعد کنندهای نشان دادهاند که ری پرفیوژن میتواند آسیب را به میزانی فراتر از آنچه که بتوان آن

را به ایسکمی موجود از قبل نسبت داد، افزایش دهد، به نحوی که منجر به ایسکمی، تشدید آریتمیها، ادم سلولی، انقباضات شدید میوکارد به علت افزایش کلسیم داخل سلولی، برداشت پیش ساختهای ATP به علت شستشوی سریع مواد انرژیزا مانند کراتین کیناز، آسیب زیر اندوکارد، صدمات مکانیکی ناشی از فشارخون به اندوتلیوم عروق، انسداد در مویرگها (به علت اختلال در جریان خون میوکارد به دلیل ادم، تجمع نوتروفیلها، لختههای کوچک و انقباض عروقی به دلیل کاهش گشادکنندههای طبیعی عروق مثل آدنوزین و نیتریک اکساید)، کاهش برونده قلبی و حتی باعث مرگ سلولها شود. مکانیسمهای آسیب خونرسانی مجدد به طور وسیعی مورد مطالعه قرار گرفته است و در شرایط آزمایشگاهی میتوان به شکل قابل ملاحظهای آن را کاهش داده و یا از آن جلوگیری کرد (Vander Heide and Steenbergen, ۲۰۱۳).



(A) تغییرات یونی در حین ایسکمی: متابولیسم بیهوازی باعث تولید یونهای هیدروژن میشود که مبادله کننده سدیم هیدروژن را فعال و باعث تجمع یونهای سدیم در درون میوسیت میشود. آنزیم سدیم پتاسیم آدنوزین فسفاتاز (ATP ase) به علت کمبود ATP در دسترس، قادر به دفع کردن یونهای اضافی سدیم و حفظ پتانسیل نرمال غشاء نیست. درنتیجه، ایسکمی پیشرفت میکند و باعث تجمع یونهای سدیم و هیدروژن در داخل میوسیت و ایجاد دپلاریزاسیون پتانسیل غشاء میشود.

(B) تغییرات یونی درحین ریپرفیوژن: ریپرفیوژن یونهای هیدروژنی را که در فضای بینابینی تجمع یافتهاند، پاکسازی کرده و شیب غلظت زیادی برای مبادله سدیم–هیدروژن ایجاد میکند. ریزش یونهای سدیم به درون میوسیتها در حین ریپرفیوژن، مبادله کننده سدیم–کلسیم (NCX) را وادار به فعالیت در جهت معکوس و وارد کردن یونهای کلسیم به سارکولم میکند. بعد از مدتی هومئوستاز داخل سلولی و برقراری مجدد پتانسیل استراحت غشاء و سطح نرمال سدیم داخل سلولی به وسیله پمپ Na/k ATPase، مبادله گر NCX به حالت نرمال بر میگردد و کلسیم اضافی را از سیتوپلاسم دفع میکند (White et al., ۲۰۱۷).

تنظیم کلسیم داخل و خارج سلولی یکی از مباحث بسیار مهم در ایسکمی و آسیب ناشی از ری‌پرفیوژن می‌باشد. کاهش کلسیم خون و یا افزایش آن، نتیجه به هم خوردن کلسیم بوده که حاصل آن آسیب و عدم حفاظت مناسب از میوکارد میباشد. یکی از موارد خاص و مهم در مبحث ایسکمی و آسیب ناشی از ری پرفیوژن، موضوع پارادوکس کلسیم (یعنی پذیرش مجدد کلسیم بعد از یک دوره بدون کلسیم) می‌باشد. پارادوکس کلسیم به دنبال تصحیح هیپوکلسمی و نرمالیزه کردن آن به وجود می‌آید و در مرحله ری پرفیوژن، کلسیم به سرعت بهداخل سلول نفوذ کرده و باعث آسیب به میوکارد میشود. باید توجه داشت که عضله میوکارد در این مرحله به علت ایسکمی، نسبت به افزایش کلسیم حساسیت بیشتری داشته و آسیب پذیرتر میباشد. نتیجه ورود کلسیم به داخل سلول و افزایش ناگهانی آن باعث انقباضات شدید میوکارد، اختلالات ریتم قلب، پارگی میوفیبریلها، کاهش برونده قلبی، آسیبهای وسیع هموراژیک و در نهایت مرگ سلولی میشود (Ferrari et al., ۲۰۱۶).

تمام عوارض مخرب ناشی از مکانیسم ایسکمی–ریپرفیوژن بر اثر ایجاد تغییراتی هم زمان، در قلب به وجود میآیند. در زیر به این تغییرات اشاره شده است

(Turer and Hill, ۲۰۱۰).

در مقاله‌ای که در سال ۲۰۱۰ توسط Turer و همکارانش جمع آوری شد، تغییرات شامل موارد زیر میباشند:

- تجمع یون‌ها در داخل سلول که شامل:

سدیم (Na): تجمع سدیم بهدلیل بههم خوردن پتانسیل الکتریکی در غشاء سلول که باعث ادم میوکاردی می‌شود.

کلسیم (Ca): یکی از اولین نظریات برای توضیح پارادوکس پرفیوژن مجدد به پدیده‌ای به نام 'پارادوکس کلسیم' مرتبط بود (یعنی پذیرش مجدد کلسیم بعد از یک دوره کوتاه پرفیوژن بدون کلسیم، باعث آسیب شدید به میوسیت، مشابه آنچه که بعد از پرفیوژن تأخیری رخ می‌دهد، می‌شود از جمله بار زیاد کلسیم). این اتفاق بسیار زیان‌آور است زیرا میتوکندری درحین خونرسانی مجدد ممکن است از اکسیژن ذخیره شده بهجای تولید ATP، برای انتقال کلسیم بهره بگیرد و این دو فرآیند برای استفاده از ذخیره انرژی (یعنی انرژی تولید شده در غشاء داخلی میتوکندری) با هم رقابت میکنند (Turer and Hill, 2010)(Shafee, 1386). در نتیجه: در گذشته استفاده از داروهای آنتاگونیست کلسیم برای کاهش بار اضافی کلسیم منطقی به نظر می‌رسید. ولی بعدها محققین در نمونه‌های حیوانی کوچک آزمایشگاهی از آنتاگونیست کلسیم استفاده کردند و به این نتیجه رسیدند که این داروها باعث کاهش آسیب ری‌پرفیوژن نمی‌شوند. ولی در نمونه‌های حیوانی بزرگ‌تر مشاهده کردند که آنتاگونیست‌های کلسیم می‌توانند اندازه انفارکت را کاهش دهند.

روش دیگری که می‌توان برای کاهش بار اضافی کلسیم به کار گرفت، مهار مبادله گر سدیم-هیدروژن است مانند داروی رانولازین که یک مهار کننده تاخیری در نفوذ سدیم به داخل سلول است اما وقتی این دارو در دو کارآزمایی بالینی بزرگ مورد آزمایش قرار گرفت، در بهبود پیش‌آگهی یا کاهش شدت MI ناتوان بود (Ferrari et al., 2016).

- اتلاف انرژی در میتوکندری بهدلیل باز شدن منفذ MPTP (Turer and Hill, 2010):

MPTP (Mitochondrial Permeability Transition Pore) یک کانال غیرانتخابی برای غشاء داخلی میتوکندری است و در شرایط فیزیولوژیک بسته است. بنابراین در ری‌پرفیوژن، شرایط مطلوبی برای باز شدن MPTP وجود دارد و به مولکولهای زیر 5/1 کیلو دالتون اجازه عبور از غشاء داخلی می‌دهد. این موضوع، مشکلی عمده برای سلولهایی که هنوز قابلیت زنده ماندن را دارند، به وجود میآورد. وقتی که غشاء داخلی میتوکندری آزادانه به پروتونها قابل نفوذ شود به نحو مؤثری فسفوریلاسیون اکسیداتیو را رها میکند و تولید ATP دچار اختلال می‌شود.

افزایش ناگهانی در جریان کلسیم به داخل میتوکندری باعث راه انداختن کاسپازهای (Caspase) متفاوت میشود که منجر به مرگ سلولی توسط آپوپتوز میشود (کاسپازها گروهی از آنزیم‌ها هستند که به خانواده پروتئازها تعلق دارند و در مرگ برنامه‌ریزی شده (Apoptose) ، التهاب و تمایز سلولی نقش مهمی دارند). در واقع سلولهایی که از حادثه ایسکمیک نجات پیدا کردند، در اثر آسیب ایجاد شده از ریپرفیوژن کرونری می‌میرند. ماهیت مولکولی MPTP هنوز نامشخص است (Ferrari et al., 2016).

- تولید رادیکالهای آزاد اکسیژن و گونههای فعال اکسیژن (ROS) (Turer and Hill, 2010):

رادیکالهای آزاد اکسیژن گونههای تغییر یافته اکسیژن میباشند که یک الکترون منفرد به غشاء آن اضافه شده است و با توانایی اثرات سمی بر روی میتوکندریها، سارکوپلاسمها، اندوتلیال عروق، آدنوزین و نیتریک اکساید (NO) ، تأثیر نامطلوب میگذارند. این تأثیر سبب افزایش آسیب به میوکارد به صورت آریتمی، اختلال در انقباضات و نکروز میشود.

استرس اکسیداتیو در واقع عدم تعادل نسبت بین اکسیدانها (رادیکالهای آزاد) و آنتیاکسیدانها میباشد که طی آن در وضعیت ردوکس بدن و واکنشهای اکسایش-کاهش اختلال به وجود میآید. این اختلال حاصل افزایش رادیکالهای آزاد و عدم تعادل بین تولید و حذف گونههای فعال در بدن و کاهش توان سیستم دفاعی آنتیاکسیدانی میباشد. افزایش رادیکالهای آزاد موجب تغییر در ساختار و عملکرد مولوکولهای زیستی اصلی بدن شامل پروتئینها، لیپیدها و اسیدهای نوکلییک و در نهایت منجر به آسیب بافتی میگردد. محصولات حاصل از این آسیب به عنوان بیومارکرهای استرس اکسیداتیو استفاده میشوند، مانند مالون دی آلدیید که متابولیت پراکسیداسیون لیپیدی است (Salmaninejad et al., 2017). گونههای فعال اکسیژن هم در خودکشی (Apoptosis) سلولها نقش دارند (Shafee, 1386).

- ایجاد اختلال در ساخت نیتریک اکسید (NO) (Turer and Hill, 2010):

نیتریک اکساید مقاومت و تحمل قلب را نسبت به ایسکمی افزایش داده و آسیب ناشی از پرفیوژن مجدد را به شدت کاهش میدهد. استفاده از NO سبب تنظیم جریان خون کرونر میشود، از چسبندگی نوتروفیلها به اندوتلیوم جلوگیری میکند، مانع از تجمع پلاکتها میشود، همچنین برداشت کننده رادیکالهای آزاد بوده و از پیشرفت انفارکتوس جلوگیری میکند (Shafee, 1386).

- ایجاد خودکشی (Apoptosis) و خودخوری سلولی (Autophagy) (Turer and Hill, 2010):

نکروز و آپوپتوز دو راه اصلی برای مرگ سلولی در سلولهای عضلانی قلبی باشند که با وقوع ایسکمی و ریپرفیوژن همراهی دارند. نکروز، اغلب مرگ سلولی تصادفی یا پاتولوژیک خوانده میشود ولی آپوپتوز مرگ سلولی برنامهریزی شده و کنترلشده ژنتیکی است و با نکروز فرق دارد. اتوفاژی یک مکانیسم طبیعی و تنظیم شده سلول است که اجزای غیرضروری یا بینظمی سلول را توسط لیزوزوم از بین میبرد مثل: از بین بردن اندامکهای آسیب دیده، پروتئینهای ناقص و پروتئینهای طولانی مدت و غیرکاربردی (Lockshin and Zakeri, 2004).

- اختلال در عملکرد اندوتلیال عروقی: (Turer and Hill, 2010)

افزایش نفوذپذیری عروق به دلیل کاهش وازودیلاتورها مثل آدنوزین و نیتریک اکساید. تجمع نوتروفیلها و پیدایش لختههای کوچک در عروق، موجب اختلال در جریان خون میوکارد میشود (Shafee, 1386).

- تجمع پلاکتی و ایجاد میکروآمبولی (Turer and Hill, 2010)

- فعال شدن سیستم ایمنی ذاتی: (Turer and Hill, 2010)

باعث تجمع نوتروفیلها، ماکروفاژ ها و سلولهای T میشود.

میکرو RNA ها، RNAهای کوچک و دو رشته ای متشکل از ۲۲ نوکلییید، با مهار ترجمه mRNA یا ترویج تخریب آنها، به عنوان تنظیم کننده منفی بیان ژن عمل می کنند و در تنظیم عملکرد قلب، انقباض، هدایت سیگنال های الکتریکی، رشد قلب، مورفوژنز، سکته قلبی و آسیب ایسکمی_ ریپرفیوژن نقش محافظتی دارند. (Zhu et al., ۲۰۱۶)

miR-۴۹۹ توسط ژن Myh۷b رمزگذاری شده و آپوپتوز ناشی از کمبود اکسیژن را کاهش می دهد. miR-۴۹۹ همچنین از قلب در برابر آسیب ایسکمی-ریپرفیوژن محافظت می کند. وانگ و همکاران همچنین نشان دادند که miR-۴۹۹

مسیر آپوپتوز میتوکندری را مهار و از کاردیومیوسیت ها در برابر آسیب ناشی از H_2O_2 محافظت می کند.

ضرورت اجرا

v. پارادوکس pH:

یکی از عواملی که باعث آسیب به قلب در حین ری‌پرفیوژن می‌شود، اصلاح سریع pH از وضعیت اسیدی به وضعیت نرمال در فاز ری‌پرفیوژن است. به عبارتی در حین پرفیوژن مجدد و به دنبال برداشته شدن کلمپ آئورت، پاکسازی سریع لاکتات و بازگشت به pH فیزیولوژیک اتفاق می‌افتد (Ferrari et al., 2016).

درنتیجه تولید اسید توسط گلیکولیز بی‌هوازی، پاکسازی ضعیف محصولات نهایی متابولیسم و کم شدن فعالیتهای پمپهای یونی در اثر کمبود فسفات با انرژی بالا (ATP) ، میوسیتهای ایسکمیک قبل از خونرسانی مجدد، دارای بار اضافی نیتروژن، هیدروژن و کلسیم میشوند. علاوه بر این، به علت تخریب پیش مادههای انرژی زا، بار اسمولار میوسیتهای ایسکمیک از طریق تجمع متابولیت‌ها، مخصوصاً لاکتات و فسفات زیاد میشود. ارائه مجدد خون اکسیژن‌دار حاوی پیش‌ماده باعث شیفتهای سریع در تعادل یونی می‌شود. pH اسیدی داخل سلولی از طریق فعالیت مبادلهکننده همزمان سدیم-هیدروژن و سدیم-بیکربنات به سرعت اصلاح می‌شود که باعث افزایش بیشتر در غلظت سدیم داخل سلولی می‌شود. در نتیجه میزان سدیم در داخل سلول بالا رفته که به نوبه خود میتواند مبدل پمپ سدیم-کلسیمی در سطح سارکوپلاسم را در داخل سلول، فعال کند و این اتفاق باعث ورود مقادیر بالای کلسیم به درون سلول قلبی میشود. جالب است که شیفت کلسیم و بار اضافی داخل سلولی متعاقب آن، نسبتاً توسط غلظت بالای یون هیدروژن مهار می‌شود. بنابراین، پایین نگه داشتن pH داخل سلولی و طولانیشدن زمان برگشت pH خنثی، اثر محافظتکننده از سلول از طریق حفظ سلول از افزایش ناگهانی و شدید کلسیم داشته باشد. بنابراین، مداخلاتی که بهبود سریع pH خارج سلولی را از وضعیت اسیدی که با ایسکمی همراه است، به سمت معیارهای خنثی به تأخیر اندازند، اثر قابل توجهی بر محدود کردن آسیب کشنده ایسکمی-ریپرفیوژن دارند (Vander Heide and Steenbergen, 2013).

در این مطالعه بر آن شدیم که اثرات حفاظت از میوکارد به وسیله پرفیوژن اسیدی بر میزان miR-499 را در بیماران تحت عمل جراحی قلب باز بررسی کنیم. در صورت افزایش miR-499 به وسیله پرفیوژن اسیدی میتوان استراتژی مناسبتر برای کاهش عوارض ایسکمی و ریپرفیوژن انتخاب کرد.

بررسی متون

سابقه طرح و بررسی متون:

این پژوهش از طریق موتورهای جستجو و سایتها و پایگاههای اطلاعاتی به منظور افزایش اطلاعات و دانستههای مربوط با موضوع در پایگاههای اطلاعاتی PubMed، Google Scholar، با کلیدواژهای acidic reperfusion، myocardial ischemia-reperfusion injury، myocardial protection، pH paradox جستجو انجام شد.

متأسفانه مطالعات انسانی که مشابه با مطالعه حاضر باشد، بسیار محدود بود. لذا ما هر مطالعه حیوانی را که ارتباطی با مطالعه ما داشته است را مطرح کردیم.

v. Lemasters و همکارانش در یک مطالعه زیستشناسی تجربی که در سال 1996 در کشور سوئیس تحت عنوان اثر pH paradox بر روی سلولهای کشت داده شده قلبی و عضلات پاپیلاری موش انجام دادند، توانستند اهمیت اثر pH در حین ایسکمی و ریپرفیوژن را بررسی کنند. نتیجه آزمایش آنها در خصوص مقدار pH در زمان ایسکمی:

در طی ۵ ساعت نبود اکسیژن و در محیط با pH مساوی ۴/۷، بیش از ۹۰٪ میوسیتها (سلولهای قلبی)، قابلیت زنده ماندن خود را از دست دادند که این کشته – شدن سلول نسبت تقریباً خطی بود و ۵۰٪ مرگ در ۳ ساعت اولیه رخ داد. در مقابل، در pH اسیدی، تقریباً هیچ مرگ سلولی رخ نداد. این نتایج دلالت بر این می‌کند که اسیدوزی که به طور طبیعی در ایسکمی رخ میدهد، به طور قوی در برابر آسیب کشنده سلولی محافظت میکند. به عبارتی این مکانیسم طبیعی برای محافظت از سلول اتفاق میافتد (Lemasters et al., ۱۹۹۶).

نتیجه آزمایش آنها در خصوص مقدار pH در حین ریپرفیوژن:

نزدیک به نیمی از میوسیت‌ها طی گذشت ۸۰ دقیقه از ری‌پرفیوژن کشته شدند، درحالی‌که در زمان آنوکسی در pH اسیدی هیچ کدام از سلول‌ها قابلیت زنده ماندن خود را از دست ندادند. برای بررسی اینکه کدام تغییر، اکسیژن‌رسانی یا بازگشت به pH فیزیولوژیک در ری‌پرفیوژن، باعث تسریع کشته شدن سلول‌ها می‌شود، میوسیت‌ها در pH =۲/۶ تحت اکسیژن‌رسانی قرار گرفتند و مشاهده کردند که عملاً هیچ مرگ سلولی در pH=۲/۶ که تحت اکسیژن‌رسانی مجدد قرار گرفتند، رخ نداد، درحالی‌که وقتی بدون اکسیژن رسانی، pH به ۴/۷ بازگردانده شد، مرگ سلولی مشابه زمان اکسیژن رسانی در pH =۴/۷ بود. این یافتهها نشان میدهد که آنچه آسیب ریپرفیوژن سلولی کشنده را تسریع میکند اکسیژن رسانی مجدد نیست بلکه بازگشت سریعpH به اندازه نرمال میباشد.

وقتی عضلات پاپیلاری ایسکمیک در pH=۶/۷ خون‌رسانی شدند، بیش از ۴۰٪ میوسیتها نکروتیک شدند. در مقابل، آسیب کشنده سلولی در عضلات پاپیلاری خون‌رسانی شده در pH=۶/۶ کمتر از ۱۰٪ بود (Lemasters et al., ۱۹۹۶).

نتیجه آزمایش آنها در خصوص مقدار pH بر روی منفذ MPTP در میتوکندری: افزایش pHi باعث القاء باز شدن منفذ Mitochondrial Permeability Transition Pore(MPTP) که یک کانال غیرانتخابی برای غشاء داخلی میتوکندری است میباشد، این منفذ در شرایط فیزیولوژیک بسته است. در حین ایسکمی، قابلیت MPTP افزایش می‌یابد اما وقتی pH پایین باشد منفذ بسته باقی می‌ماند. بنابراین در ریپرفیوژن، شرایط مطلوبی برای باز شدن MPTP وجود دارد و خنثی شدن سریع pH باعث باز شدن منفذ میشود و به مولکولهای زیر ۵/۱ کیلو دالتون اجازهی عبور از غشاء داخلی می‌دهد. این موضوع، مشکلی عمده برای سلول‌هایی که هنوز قابلیت زنده ماندن را دارند، به وجود میآورد. وقتی که غشاء داخلی میتوکندری آزادانه به پروتونها اجازه عبور بدهد، به نحو مؤثری فسفوریلاسیون اکسیداتیو را رها کرده و تولید ATP را دچار اختلال می‌کند. در واقع باعث فعال شدن میوفیبریلاز ATP آز نیز می شود که نیاز به ATP را افزایش داده و ذخیره ATP را کاهش میدهد. افزایش ناگهانی در جریان کلسیم به داخل میتوکندری باعث راه انداختن کسپازهای متفاوت میشود که منجر به مرگ سلولی توسط آپوپتوز می‌شود. در واقع سلولهایی که از حادثه ایسکمیک نجات پیدا کردند، در اثر آسیب ایجاد شده از ریپرفیوژن کرونری می‌میرند. ماهیت مولکولی MPTP هنوز نامشخص است (Lemasters et al., ۱۹۹۶) (Ferrari et al., ۲۰۱۶).

نتیجه‌گیری نهایی:

اسیدوز عمیقاً از سلول در برابر مرگ حین ایسکمی محافظت می‌کند. با این وجود، برگشت pH از اسیدی به نرمال بعد از ری‌پرفیوژن باعث از دست‌رفتن قابلیت زنده‌ماندن میوسیت‌ها می‌شود. این بدتر شدن آسیب یک 'پارادوکس pH' است و به وسیله تغییرات pH داخل سلولی (pHi) ایجاد می‌شود که دست‌کاری‌هایی که باعث افزایش سریع‌تر pHi می‌شود کشته‌شدن سلول‌ها را تشدید می‌کند در حالی‌که دست‌کاری‌هایی که افزایش pHi را به تأخیر می‌اندازد، مانع از دست‌رفتن قابلیت زنده ماندن میوسیت‌ها می‌شود. به طور خاص، مهار مبدل سدیم–هیدروژن با دی متیل آمیلورید یا HOE۶۹۴ باعث تأخیر در بازگشت pH فیزیولوژیکی پس از برقراری مجدد جریان خون شده و موجب جلوگیری از کشتهشدن سلول (هم میوسیتهای کشت داده شده و هم عضلات پاپیلاری پرفیوز شده) به دنبال برقراری مجدد جریان خون میشود. دی متیل آمیلورید و HOE ۶۹۴ میزان کلسیم داخل سلولی در طول برقراری مجدد جریان خون را کاهش نمیدهد. در مقابل، دیکلروبنزیل که یک یک مهار کننده تبادل سدیم–کلسیم است موجب کاهش کلسیم آزاد میشود اما از مرگ سلول جلوگیری نمیکند. بنابراین، پارادوکس pH وابسته به کلسیم نیست.

مکانیسمهای مسئول پارادوکس pH کاملاً شناخته شده نیست. اسیدوز ممکن است پروتئازها، فسفولیپازها و سایر آنزیمهای مخربی را که شرایط خنثی یا قلیایی برای آنها بهینه است و در طول ایسکمی فعال می‌شوند را مهار کند. به محض برقراری pH نرمال بعد از ریپرفیوژن، سرکوب اسیدی این آنزیمهای مخرب برداشته می‌شود که باعث شتاب بخشیدن به آسیب سلولی می‌شود. همچنین افزایش pH بعد از ریپرفیوژن، باعث افزایش مبادله سدیم–هیدروژن و سدیم–کلسیم میشود که باعث افزایش کلسیم و مرگ سلولی وابسته به کلسیم می‌شود (Lemasters et al., ۱۹۹۶).

در این مطالعه مشخص شد چنانچه ریپرفیوژن اولیه به دنبال ایسکمی، اسیدی باشد به میزان قابل توجهی آسیب ناشی از ریپرفیوژن را مهار میکند که در این مطالعه حاضر بررسی این اثر در بیماران تحت جراحی دریچه ای قلب مورد بررسی قرار خواهد گرفت.

v. Kitakaze و همکارانش در یک مطالعه تجربی که در سال 1997 در کشور ژاپن تحت عنوان اسیدوز موقت درحین ریپرفیوژن اندازه انفارکت در سگها را محدود میکند بر روی 60 سگ، انجام دادند. همچنین آنها در این آزمایش، اسیدوز متابولیک را با اسیدوز تنفسی در حین ریپرفیوژن مقایسه کردند و به این نتیجه رسیدند که در اسیدوز متابولیک اندازه انفارکت کوچکتر از اسیدوز تنفسی میشود یعنی قدرت اسیدوز متابولیک برای جلوگیری از آسیب ریپرفیوژن بیشتر است. آنها علت محدود شدن انفارکت را این چنین بیان کردند:

اسیدوز یک مداخله امیدبخش در محافظت از سلولهای قلبی است . هیدروژن مبادله سدیم و کلسیم را مهار و کانالهای رو به داخل کلسیم و آزادسازی کلسیم از رتیکولوم سارکوپلاستیک را کُند میکند. در واقع، اسیدوز خارج سلولی مبادله سدیم و هیدروژن را مهار کرده و با مهار مبادله سدیم و هیدروژن در حین ریپرفیوژن، اندازه انفارکت را کاهش می‌دهد. علاوه بر این، ریپرفیوژن اسیدی، رادیکالهای آزاد مشتق شده از اکسیژن را از لکوسیتهای پولی‌مورفونوکلوئر تضعیف، انقباض میوکارد را کم و جریان خون کرونری را افزایش میدهد که همه اینها ممکن است در محدود کردن اندازه انفارکت نقش داشته باشند که در این مطالعه حاضر، بررسی این اثر در بیماران تحت جراحی دریچهای قلب مورد بررسی قرار خواهد گرفت (Kitakaze et al., 1997).

v. Inserte و همکارانش در یک مطالعه تجربی که در سال 2007 در کشور اسپانیا تحت عنوان اثر ریپرفیوژن اسیدی در طولانیشدن اسیدوز داخل سلولی و نجات میوکارد را بر روی 53 موش صحرایی انجام دادند. آنها در این مطالعه اثر ریپرفیوژن اسیدی بر روی قلبهای ایزوله شدهی موش که تحت 40 دقیقه ایسکمی و 30 دقیقه ریپرفیوژن قرار گرفته بودند، مورد مطالعه قرار دادند و اثر آن را بر روی مبادله کننده سدیم-کلسیم (NCX) در میوسیتهای ایزوله شده تجزیه و تحلیل کردند. pHi (pH داخل سلولی) و فسفوکراتین به وسیله طیف‌سنج رزونانس مغناطیسی هستهای پایش شد. پایین آوردن pH درحین 3 دقیقه ابتدایی ریپرفیوژن، بازگشت pH به حد نرمال را به تأخیر انداخت و بازیابی فسفوکراتین (سیستم تأمین انرژی عضلانی در فعالیت‌های بسیار شدید و کوتاه مدت) را بهبود بخشید و به نحو قابل توجهی لاکتات دهیدروژناز و اندازه انفارکت را کاهش داد. این محافظت از قلب با افزایش pH o(pH خارج سلولی) تضعیف شد. ادامه دادن ریپرفیوژن اسیدی تا 15 یا 30 دقیقه بعد از جریان دوباره خون، باعث تأخیر بیشتر در طبیعی شدن pHi نشد و محافظت فراهم آمده در 3 دقیقه ابتدایی را از بین برد در نتیجه ریپرفیوژن اسیدی به مدت 3 دقیقه، نرمال شدن pH را به تأخیر می‌اندازد و آسیب میوکارد را در هنگام ریپرفیوژن کم میکند اما ادامه دادن آن بیشتر از این مدت، در افزایش تأخیر pHi ناتوان بوده است و این احتمالاً به علت فعالیت مبادله کنندههای همزمان Na/H (سدیم-هیدروژن) و Na/HCO3 (سدیم-بیکربنات) است و به علت طولانی شدن مهار NCX(مبادلهگر سدیم-کلسیم) ممکن است کشنده باشد. Inserte و همکارانش در این مطالعه نشان دادند که ری‌پرفیوژن های اسیدی، فیبریلاسیون و stunning را کاهش می‌دهد و باعث بهبود انقباض، آزادسازی لاکتات دهیدروژناز کمتر (LDH) و کاهش اندازه انفارکت می شود. همچنین طولانی شدن اسیدوز داخل سلولی دستگاه میوفیبریلار را به وسیله کاهش حساسیت میوفیبریلها به کلسیم (Ca) مهار میکند و از ایجاد انقباض شدید در طی دقایق ابتدایی ریپرفیوژن زمانی که هومئوستاز کلسیم هنوز به حالت اول برنگشته است، جلوگیری میکند.

در این مطالعه مشخص شد چنانچه ریپرفیوژن اولیه به دنبال ایسکمی، به مدت ۳ دقیقه اسیدی باشد به میزان قابل توجهی آسیب ناشی از ریپرفیوژن را مهار میکند و باعث بهبود بازیابی فسفوکراتین، کاهش لاکتات دهیدروژناز، فیبریلاسیون،stunning و اندازه انفارکت میشود که در این مطالعه حاضر، بررسی این اثرات در بیماران تحت جراحی دریچهای قلب، مورد بررسی قرار خواهد گرفت (Inserte et al.، ۲۰۰۸).

v. Inserte و همکارانش در یک مطالعه تجربی که در سال 2008 در کشور اسپانیا تحت عنوان تاخیر در بهبود اسیدوز داخل سلولی در هنگام ریپرفیوژن از فعال شدن کالپین جلوگیری می کند بر روی 49 موش صحرایی انجام دادند و به این نتیجه رسیدند که ریپرفیوژن اسیدی به مدت 2 دقیقه از فعال شدن کلپین جلوگیری کرده و باعث حفاظت از قلب در زمان ریپرفیوژن میشود. کالپین، جزئی از خانواده پروتئازهای وابسته به کلسیم غیر لیزوزومی است و یک نوع پروتئین محسوب میشود که در مرگ سلولی حاصل از نکروز و آپوپتوز نقش دارد. مطالعات تجربی بیشماری نقش اساسی سیستم کالپین را در آسیب میوکارد در هنگام ایسکمی، برقراری مجدد جریان خون نشان میدهد. افزایش کلسیم درسیتوزول میوکارد و میتوکندری در طول ایسکمی و برقراری مجدد جریان خون باعث فعال شدن کالپینها میشود. فعال شدن کالپین باعث القاء پروتئولیز وابسته به کلسیم میشود که باعث القاء شکنندگی غشاء سارکولم و اختلال در عملکرد پمپ ATPase Na/k (به علت تخریب پروتئینهایی که پمپ را به کمپلکس غشاء اسکلت سلولی تثبیت میکنند) میشود که نقش مهمی در مرگ میوسیتهای قلبی دارد.

Inserte و همکارانش قلبهای موش Sprague–Dawley را برای ۴۰ دقیقه تحت ایسکمی و ریپرفیوژن اسیدی قرار دادند و مرگ سلولی میوکارد را با فعال‌شدن لاکتات دهیدروژناز به وسیله رنگ آمیزی تری‌فنیل تترازولیوم و کلپین را با اندازهگیری تخریب a-fodrin به روش وسترن بلات اندازهگیری کردند. آنها نتیجه گرفتند که حفاظت قلبی بعد از دوره ایسکمی به طولانی شدن اسیدوز داخل سلولی درحین ریپرفیوژن بستگی دارد و نشان دادند که مهار فعالیت کلپین می‌تواند در این حفاظت نقش داشته باشد که در این مطالعه حاضر، بررسی این اثر در بیماران تحت جراحی دریچهای قلب، مورد بررسی قرار خواهد گرفت (Inserte et al.، ۲۰۰۹).

v. Penna و همکارانش در یک مطالعه تجربی که در سال 2013 در کشور ایتالیا تحت عنوان ریپرفیوژن اسیدی بر فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان تاثیر می گذارد را بر روی 30 موش انجام دادند. آنها فعالیت آنزیمهای آنتیاکسیدانی مانند سوپراکسید دسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و گلوتاتیون پراکسیداز را که نقش مهمی در حفاظت از سلول میوکارد در برابر آسیب ناشی از ایسکمی-ریپرفیوژن دارند، در هنگام ریپرفیوژن اسیدی در ابتدای فاز ریپرفیوژن مورد مطالعه قرار دادند و نتیجه گرفتند که ریپرفیوژن اسیدی باعث

افزایش و تعدیل فعالیت این آنزیمها از طریق مسیر ERK1/2-PKC میشود که در این مطالعه حاضر، بررسی این اثر ریپرفیوژن اسیدی بر روی آنزیمهای آنتی اکسیدان سلولهای قلبی در بیماران تحت جراحی دریچهای قلب، مورد بررسی قرار خواهد گرفت و روش انداز هگیری آنها به روش الایزا خواهد بود (Penna et al., 2013).

v. Qiaoو همکارانش، طی یک مطالعه تجربی که در سال 2013 در کشور چین تحت عنوان اسیدوز گذرا در حین ریپرفیوژن، آسیب ری‌پرفیوژن-ایسکمی میوکارد را از راه مسیر سیگنالینگPI3k-Akt eNOS (PospHatidyl Inositol 3Kinase) تضعیف می‌کند را بر روی 84 موش انجام دادند. این مسیر سیگنالینگ نقش مهمی در پیامدهی و اعمال سلولی نظیر رشد، متابولیسم و رمز خوانی دارد و درصورت فعال شدن در ری‌پرفیوژن اثر محافظت کننده از قلب دارد. فعال شدن PI3k/Akt مسیر نیتریک اکسید سنتاز اندوتلیال (eNOS) را فعال می‌کند که باعث القاء آزادسازی نیتریک اکساید (NO) می‌شود. NO مقاومت و تحمل قلب را نسبت به ایسکمی افزایش داده و آسیب ناشی از ریپرفیوژن را به شدت کاهش می‌دهد. مطالعاتی که توسط دانشمندانی همچون، Galinanesبر روی L-arginine (پیش ساز NO) انجام گردید نشان داد که NO سبب تنظیم جریان خون کرونر شده، از چسبندگی نوتروفیل‌ها به اندوتلیوم جلوگیری می کند، مانع از تجمع پلاکت‌ها می‌شود و برداشت کننده رادیکال‌های آزاد بوده و از پیشرفت انفارکتوس جلوگیری می‌کند. NO همچنین می‌تواند منجر به مهار باز شدن منفذ MPT در میتوکندری شود.

علاوه بر این آنها به این نتیجه رسیدند که اکسیژن رسانی درحین ریپرفیوژن کوتاه باعث تولید ROS (رادیکالهای آزاد اکسیژن) در میتوکندری میشود که باعث القاء استرس اکسیداتیو و متعاقباً منجر به آسیب میتوکندری درحین ریپرفیوژن میشود. ولی اسیدوز درحین ریپرفیوژن تولید ROS را تضعیف میکند (Qiao et al., 2013). استرس اکسیداتیو در واقع عدم تعادل نسبت بین اکسیدانها (رادیکالهای آزاد) و آنتیاکسیدانها می باشد که طی آن در وضعیت ردوکس بدن و واکنشهای اکسایش-کاهش اختلال به وجود میآید. این اختلال حاصل افزایش رادیکالهای آزاد و عدم تعادل بین تولید و حذف گونههای فعال در بدن و کاهش توان سیستم دفاعی آنتی-اکسیدانی میباشد. افزایش رادیکالهای آزاد موجب تغییر در ساختار و عملکرد مولکولهای زیستی اصلی بدن شامل پروتئینها، لیپیدها، و اسیدهای نوکلییک و در نهایت منجر به آسیب بافتی میگردد. محصولات حاصل از این آسیب به عنوان بیومارکرهای استرس اکسیداتیو استفاده میشوند مانند مالون دی آلدیید که متابولیت پراکسیداسیون لیپیدی است (Salmaninejad et al., 2017).

به صورت خلاصه، ریپرفیوژن اسیدی با مهار تولید ROS و افزایش آزادسازی NO از طریق فعال سازی مسیر PI۳k-Akt-eNOS باعث حفاظت از قلب می‌شود که در این مطالعه حاضر، بررسی این اثر در بیماران تحت جراحی دریچهای قلب، مورد بررسی قرار خواهد گرفت.

v. Jianbing Zhu و همکارانش در یک مطالعه زیست شناسی تجربی که در سال 2016 در کشور چین تحت عنوان ایسکمی بعد از ریپرفیوژن در تنظیم و افزایش مقدار miR-499 ، بر روی قلب موشها را انجام دادند.

میکرو RNA ها، RNAهای کوچک و دو رشته ای متشکل از ۲۲ نوکلییید، با مهار ترجمه mRNA یا ترویج تخریب آنها، به عنوان تنظیم کننده منفی بیان ژن عمل می کنند و در تنظیم عملکرد قلب، انقباض، هدایت سیگنال های الکتریکی، رشد قلب، مورفوژنز، سکته قلبی و آسیب ایسکمی_ ریپرفیوژن نقش محافظتی دارند.

miR-۴۹۹ توسط ژن Myh۷b رمزگذاری شده و آپوپتوز ناشی از کمبود اکسیژن را کاهش می دهد. miR-۴۹۹ همچنین از قلب در برابر آسیب ایسکمی-ریپرفیوژن محافظت می کند. وانگ و همکاران همچنین نشان دادند که miR-۴۹۹

مسیر آپوپتوز میتوکندری را مهار و از کاردیومیوسیت ها در برابر آسیب ناشی از H_2O_2 محافظت می کند. آنها نتیجه گرفتند که ایسکمی بعد از ریپرفیوژن باعث افزایش miR-499 می شود. (Zhu et al., ۲۰۱۶)

v. Cristopher White و همکاران در یک مطالعه تجربی که در سال 2017 در کشور کانادا تحت عنوان تاثیر pH و کلسیم در هنگام ریپرفیوژن در احیای قبل های پیوندی بر روی 50 موش، انجام دادند و تأثیر مقادیر متفاوت کلسیم وpH را، در هنگام ری‌پرفیوژن قلب پیوندی در خوک، به صورت Hotshot (تجویز خون گرم پیش از برداشته‌شدن کلامپ آئورت)، مقایسه کردند. آنها ریزش یون‌های سدیم و کلسیم، از میان سارکولم را نقش اصلی در علت آسیب ایسکمی-ری‌پرفیوژن دانستند و بیان کردند، در صورتی که ری‌پرفیوژن اولیه هایپوکلسمیک و اسیدی باشد، این آسیب به میزان قابل توجهی مهار میشود.

آنها در قلبهایی که Hotshot را به صورت pHاسیدی متوسط به مدت ۳ دقیقه تجویز کرده بودند، کمترین ادم قلبی، کمترین مقاومت عروق کرونری و بیش‌ترین اندکس قلبی (یک پارامتر همودینامیکی است که خروجی خون از بطن چپ (CO) را در یک دقیقه با سطح بدن (BSA) مرتبط میکند) را گزارش کردند که در این مطالعه حاضر، بررسی این اثر در بیماران تحت جراحی دریچه ای قلب، مورد بررسی قرار خواهد گرفت (White et al., ۲۰۱۷).

v. Laiting Chi و همکارانش در یک مطالعه تجربی که در سال 2019 در کشور ژاپن تحت عنوان محافظت از میوکارد در برابر آسیب ایسکمی و ریپرفیوژن به وسیله هایپرکاپنیا درمانی بر روی موشها انجام دادند. در یک گروه برای ایجاد اسیدوز تنفسی به هنگام ری-پرفیوژن اولیه در قلب ایزوله شده موشها، از گاز دی اکسید کربن (CO_2) استفاده کردند. آنها 10 دقیقه قبل از ریپرفیوژن، گاز CO_2 به غلظت 20%، به صورت استنشاقی دادند و بعد به مدت 2 دقیقه قلب را خونرسانی کردند و در گروه دیگر مداخلهای انجام ندادند و نتیجه را این گونه گزارش کردند:

- هایپرکاپنی (افزایش گاز کربن دی اکسید در خون)، حجم انفارکت و تروپونین I سرم را کاهش داد.
- هایپرکاپنی، باعث افزایش محتوای ATP میوکاردی شد.
- هایپرکاپنی، آسیب مورفولوژی میتوکندری را کم کرد.
- هایپرکاپنی، عملکرد میتوکندری را بهبود بخشید.
- هایپرکاپنی، بیان تنظیم کنندههای بیوژنز میتوکندری را افزایش داد (Chi et al., 2019).

در این مطالعه حاضر، بررسی اثر اسیدوز تنفسی در بیماران تحت جراحی دریچهای قلب، مورد بررسی قرار خواهد گرفت.

v. Fukazawa و همکارانش در یک مطالعه مورد-شاهدی که در سال 2019 در کشور آمریکا تحت عنوان اسیدوز سرم قبل از ریپرفیوژن بهبودی همودینامیک بعد از عمل پیوند کبد را بهبود می بخشد، بر روی 470 بیمار پیوند کبدی انجام دادند. بدین صورت بود که: در هنگام ریپرفیوژن بعد از انجام گرفت عروقی، از مریض نمونه خون شریانی گرفته میشد و 85 بیمار در گروه pH ≤ 32/7 و 385 بیمار در گروه pH > 32/7 قرار گرفتند و مشاهده کردند که در گروه pH ≤ 32/7بهبود فشار متوسط شریانی (MAP) و همودینامیک

پایدارتر و به نحو قابل توجهی سریعتر بود. ریپرفیوژن مهمترین حادثه درحین پیوند کبد است و نشت مدام محلول نگهداری اسیدی از گرفت کبدی باعث ناپایداری قابل توجه همودینامیک می‌شود. آنها همچنین در این مطالعه نتیجه گرفتند که: از عوامل قلیایی کننده قبل از ریپرفیوژن، باید در صورتی که اسیدوز از نظر بالینی قابل توجه باشد، استفاده کنند (Fukazawa et al., 2016). در این مطالعه حاضر، بررسی این روش در بیماران تحت جراحی دریچهای قلب، مورد بررسی قرار خواهد گرفت.

v. Chiari و همکارانش اولین بار در یک مطالعه کارآزمایی بالینی ت صادفی شده کنترلدار یک سوکور (عدم اطلاع بیمار از مداخله) که در سال 2019 در کشور فرانسه تحت عنوان استراتژی محافظت از میوکارد به صورت multimodal cardioprotection بر روی 210 بیمار تعویض دریچه آئورت انجام دادند. بر طبق تحقیقات گذشته اعمال همزمان چندین روش محافظتی از میوکارد در طی اعمال جراحی، روی هم اثر افزایشی داشته و آسیب به میوکارد را به حداقل ممکن می‌رساند. 210 بیمار به 2 گروه 105 نفره تقسیم شدند به طوری که در یک گروه روش‌هایی که استفاده کردند شامل: استفاده از پروپوفول در تمام مراحل جراحی، تجویز انسولین در صورت افزایش قند خون از 180 میلی گرم بر دسی لیتر، ریپرفیوژن بدون اسیدی کردن pH خون شریانی، و اعمال نکردنgentle reperfusion بعد از باز کردن کلمپ آئورت. در گروه دیگر: استفاده از گاز سووفلوران در تمام مراحل جراحی، استفاده از روش Remote ischemic postconditioning قبل از کلمپ آئورت، تجویز انسولین در صورت افزایش قند خون از 140 میلی گرم بر دسی لیتر، اسیدی کردن pH خون شریانی به وسیله اعمال اسیدوز تنفسی سریع به صورت عمدی قبل از ریپرفیوژن، و حفظgentle reperfusion به مدت 2 دقیقه بعد از باز کردن کلمپ آئورت. آنها برای ایجاد اسیدوز تنفسی سریع در زمان ریپرفیوژن در صورتی که pH خون در محدوده طبیعی بود، دقیقاً 5 دقیقه قبل از برداشته شدن کلمپ آئورت، برای رسیدن بهpH خون شریانی به میزان 30/7 یا کمتر و برای جلوگیری از پدیده pH paradox فلوی air/oxygen mixture را کاهش دادند. (Chiari et al., 2019).

به دلیل استفاده همزمان از چندین روش در این طرح، امکان بررسی اثر ریپرفیوژن اسیدی به تنهایی و این که چقدر میتواند از میوکارد محافظت کند امکانپذیر نیست، پس در این مطالعه بر آن شدیم که به مقایسه اثر ریپرفیوژن با pH اسیدی در مقایسه با ریپرفیوژن با pH نرمال به محض ریپرفیوژن قلبی، بپردازیم.

نتیجه گیری: از آنجایی که بیشتر مطالعات بر روی حیوانات انجام شدند و بر اساس تحقیقات انجام شده، ریپرفیوژن اسیدی به مدت ۲ دقیقه میتواند اثرات قابل توجهی در کاهش عوارض ایسکمی-ریپرفیوژن داشته باشد، در این مطالعه بر آن شدیم که به مقایسه اثر ریپرفیوژن با pH اسیدی در مقایسه با ریپرفیوژن با pH نرمال بپردازیم.

اثرات هایپرکاپنی درمانی (افزایش مقدار دیاکسیدکربن خون شریانی بالای ۴۵ میلیمترجیوه) بر روی مغز:

v. دیاکسیدکربن گازی محلول در چربی است که میتواند از غشا سلولی و سد خونی مغزی عبور کند. اخیرا در عملکردهای بیولوژیکی و حفاظت از اندامها به ویژه تاثیر آن بر عملکرد مغز مفید نشان داده شده است. هایپرکاپنیای درمانی در آسیب مغزی به دنبال ایسکمی به طور قابل توجهی اندازه انفارکت را کاهش، و نوروپاتولوژی (حساسیت عصبی، رفلکس و عملکرد رفتاری) را بهبود می بخشد. علاوه بر این هایپرکاپنیای درمانی از طریق تنظیم فرایند آپوپتوز به وسیله تنظیم بیان ژن بالای Bcl_۲ و تنظیم بیان ژن پایین Bax، باعث افزایش حافظه فضایی (spatial memory) و بهبود حسگر حرکتی میشود. در یک مطالعه case_control در بیماران سکته مغزی، هایپرکاپنیای درمانی گذرای کنترل شده، باعث افزایش جریان خون مغزی، افزایش اشباع اکسیژن مغزی و کاهش سکته مغزی ثانویه شده است و عوارض جانبیای نداشته است. (Wang et al., ۲۰۱۹)

زو و همکارانش در طی در یک مطالعه تجربی که در سال ۲۰۱۰ در موش ها انجام دادند به این نتیجه رسیدند که در ایسکمی مغزی وسیع اگر ریپرفیوژن به وسیله هایپرکاپنیای متوسط یعنی ($PaCO_۲$=۶۰–۸۰ mmHg) صورت بگیرد، به طور قابل توجهی اثرات محافظت مغزی (neuroprotection) دارد. درحالیکه هایپرکاپنیای شدید ($PaCO_۲$=۱۰۰–۱۲۰ mmHg) شدت آسیب مغزی را افزایش میدهد. یانگ و همکارانش در طی در یک مطالعه تجربی که در سال ۲۰۱۶ در موش ها انجام دادند به این نتیجه رسیدند که هایپرکاپنیای خفیف و متوسط ($PaCo_۲$=۶۰–۸۰) به شرط $Pao_۲$ (فشار اکسیژن خون شریانی) بالای ۵۰ اثرات حفاظتکننده مغزی دارند. در این محدوده از هایپرکاپنیا نفوذ سد خونی مغزی به آب به وسیله کاهش بیان ژن آپوپتوز عصبی و کانالهای Aquaporin ۴، کاهش میابد. ولی اگر همین هایپرکاپنیا در $Pao_۲$ پایین ۵۰ صورت بگیرد، باعث تشدید تخریب سد خونی مغزی، افزایش ادم ناشی از ایسکمی مغزی و هایپوکسی می-شود. بنابراین اثرات محافظتی هایپرکاپنی فقط در صورتیکه $Pao_۲$ نیفتد، اعمال میشود. آنها در مطالعه خود برای ایجاد حفاظت مغزی ایسکمیک، استفاده از هایپرکاپنیای متوسط به مدت ۳ ساعت را پیشنهاد دادند که نتیجه آن کاهش ادم مغزی، بهبود عملکرد سد خونی مغزی، کاهش حجم ضایعه و بهبود نتایج عصبی

بود. رویهمرفته این نتایج نشان میدهد که بعد از جراحت مغزی به دنبال ایسکمی، هایپرکاپنی درمانی میتواند برای محافظت مغزی مفید باشد. (Wang et al., ۲۰۱۹) (Brambrink and Orfanakis, ۲۰۱۰)

v. برامبرینک و همکارانش در بررسی متونی که در سال ۲۰۱۰ منتشر کردند بیان کردند که اثرات محافظتی هایپرکاپنیای خفیف تا متوسط بعد از ایسکمی مغزی، احتمالا از طریق فعال سازی محور هیپوتالاموس–هیپوفیز–آدرنال، ترشح مواد ضد التهابی و آنتی اکسیدانی، تعدیل پروتیینهای تنظیم آپوپتوز و بهبود ترشح و عملکرد انتقال دهندههایی عصبی مختلف، نسبت دادند و در عوض هایپرکاپنیای شدید را عامل تشدید آسیب عصبی دانستند. (Brambrink and Orfanakis, ۲۰۱۰)

v. گلن و همکارانش در طی یک کارآزمایی بالینی که در سال ۲۰۱۶ در استرالیا انجام دادند نتیجه گرفتند که برای ایجاد حفاظت مغزی و کاهش آسیب عصبی در بیماران بستری در مراقبتهای ویژه به دلیل ایست قلبی، اگر به مدت ۲۴ ساعت هایپرکاپنیای خفیف PCo_2=۵۰–۵۵ برای افزایش جریان خون مغزی اعمال شود، بیماران کمتر دچار عارضه مغزی به دلیل ایست قلبی میشوند. (Eastwood et al., ۲۰۱۶)

v. لو و همکارانش در طی یک کارآزمایی بالینی که در سال ۲۰۱۷ در چین انجام دادند نتیجه گرفتند که هایپرکاپنیا به شرط Pco۲ پایین ۸۰ و pH بالای ۷.۱۵ برای بدن برای بهبود و افزایش اکسیژناسیون مغزی خطرناک نمیباشد. (Luo et al., ۲۰۱۷)

v. بیمارانی که تحت عمل جراحی قرار میگیرند، به خصوص در افراد مسن، ممکن است بعد از عمل دچار اختلال یا کاهش شناختی (postoperative cognitive dysfunction) یا هذیان و بیقراری (postoperative delirium) بعد از عمل بشوند. چنگ و همکارانش در طی در یک کارآزمایی بالینی که در سال ۲۰۱۹ در چین انجام دادند، برای افزایش جریان خون مغزی و همچنین افزایش اکسیژن رسانی به آن برای کاهش عوارض شناختی و دلیریوم، از هایپرکاپنیای متوسط به شرط Pco_2=۶۰–۸۰ و اشباع اکسیژن خون شریانی بالا ۹۰٪ (Sat:>۹۰٪) در طی برونکوسکوپی استفاده کردند.

آنها یک روز قبل از عمل از تمام بیماران تستهای Mini Mental State Examination (MMSE) and Montreal Cognitive Assessment (MoCA) گرفتند و این تستها را ۷ روز بعد از عمل تکرار کردند تا ارزیابی کنند بیمارانیکه تحت هاپرکاپنیای حاد بودند آیا دچار اختلالات عصبی شناختی میشوند یا خیر؟ آنها همچنین مارکرهای سرمیای که به نفع آسیب مغزی بود را روز عمل، یک روز بعد از عمل و هفت روز بعد از عمل، اندازهگیری کردند مثل: S۱۰۰B (یک نشانگر عصبی بیوشیمیایی برای آسیب مغزی)، آنولاز اختصاصی نورون (NSE)، اینترلوکین۶، فاکتور نکروز تومور آلفا، مالون دی آلدیید و سوپراکسید دسموتاز. آنها از این کارآزمایی بالینی نتیجه گرفتند که مارکرهای سرمی هر دو گروه مشابه قبل از عمل بود و بیماران دچار آسیب مغزی نشده بودند ولی بیمارانیکه در طی عمل هاپرکاپنیای متوسط دریافت کرده بودند نمره تست های Mini Mental State Examination (MMSE) and Montreal Cognitive Assessment (MoCA) به طور قابل توجهی بالاتر از گروه کنترل بود. آنها از این کارآزمایی بالینی نتیجه گرفتند که هاپرکاپنیای خفیف تا متوسط فعالیت شناختی را با کمک تست های MMSE و MOCA تقویت میکند ولی Pco_2 بالای ۱۰۰ میلیمتر جیوه ممکن است بر عملکرد شناختی تاثیر منفی بگذارد. (Cheng et al., ۲۰۱۹)

منابع

فهرست منابع:

FERRARI, R., BALLA, C., MALAGÙ, M., GUARDIGLI, G., MORCIANO, G., BERTINI, M., BISCAGLIA, S. & CAMPO, G. ۲۰۱۶. Reperfusion Damage—A Story of Success, Failure, and Hope—. *Circulation Journal*, CJ-۱۶-۱۱۲۴.

TURER, A. T. & HILL, J. A. ۲۰۱۰. Pathogenesis of myocardial ischemia–reperfusion injury and rationale for therapy. *The American journal of cardiology,* ۱۰۶**,** ۳۶۰–۳۶۸.

GIVTAJ, N., SALEHI, S., POUR, A. M. S., BAGHAEE, R. & ALINEJAD, K. Z. ۲۰۰۹. ASSESSMENT OF PROTECTIVE EFFECTS OF WARM TERMINAL BLOOD CARDIOPLEGIA ON MYOCARDIAL PROTECTION IN CABG.

VANDER HEIDE, R. S. & STEENBERGEN, C. ۲۰۱۳. Cardioprotection and myocardial reperfusion: pitfalls to clinical application. *Circulation Research,* ۱۱۳**,** ۴۶۴–۴۷۷

WHITE, C., AMBROSE, E., MÜLLER, A., HATAMI, S., LI, Y., LE, H., THLIVERIS, J., ARORA, R., LEE, T. & DIXON, I. ۲۰۱۷. Impact of reperfusion calcium and pH on the resuscitation of hearts donated after circulatory death. *The Annals of Thoracic Surgery,* ۱۰۳**,** ۱۲۲–۱۳۰.

LOCKSHIN, R. A. & ZAKERI, Z. ۲۰۰۴. Apoptosis, autophagy, and more. *The international journal of biochemistry & cell biology,* ۳۶**,** ۲۴۰۵–۲۴۱۹

KITAKAZE, M., TAKASHIMA, S., FUNAYA, H., MINAMINO, T., NODE, K., SHINOZAKI, Y., MORI, H. & HORI, M. ۱۹۹۷. Temporary acidosis during reperfusion limits myocardial infarct size in dogs. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology,* ۲۷۲**,** H۲۰۷۱–H۲۰۷۸.

LEMASTERS, J., BOND, J., CHACON, E., HARPER, I., KAPLAN, S., OHATA, H., TROLLINGER, D., HERMAN, B. & CASCIO, W. ۱۹۹۶. The pH paradox in ischemia–reperfusion injury to cardiac myocytes. *Myocardial Ischemia: Mechanisms, Reperfusion, Protection*. Springer.

INSERTE, J., BARBA, I., HERNANDO, V., ABELLÁN, A., RUIZ-MEANA, M., RODRÍGUEZ-SINOVAS, A. & GARCIA-DORADO, D. ۲۰۰۸. Effect of acidic reperfusion on prolongation of intracellular acidosis and myocardial salvage. *Cardiovascular research*, ۷۷, ۷۸۲-۷۹۰

INSERTE, J., BARBA, I., HERNANDO, V. & GARCIA-DORADO, D. ۲۰۰۹. Delayed recovery of intracellular acidosis during reperfusion prevents calpain activation and determines protection in postconditioned myocardium. *Cardiovascular research,* ۸۱, ۱۱۶-۱۲۲.

PENNA, C., PERRELLI, M.-G., TULLIO, F., ANGOTTI, C. & PAGLIARO, P. ۲۰۱۳. Acidic infusion in early reperfusion affects the activity of antioxidant enzymes in postischemic isolated rat heart. *journal of surgical research,* ۱۸۳, ۱۱۱-۱۱۸.

QIAO, X., XU, J., YANG, Q.-J., DU, Y., LEI, S., LIU, Z.-H., LIU, X. & LIU, H. ۲۰۱۳. Transient acidosis during early reperfusion attenuates myocardium ischemia reperfusion injury via PI۳k-Akt-eNOS signaling pathway. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity,* ۲۰۱۳

QUELICONI, B. B., KOWALTOWSKI, A. J. & GOTTLIEB, R. A. ۲۰۱۶. Bicarbonate increases ischemia–reperfusion damage by inhibiting mitophagy. *PloS one,* ۱۱, e۰۱۶۷۶۷۸

CHI, L., WANG, N., YANG, W., WANG, Q., ZHAO, D., SUN, T. & LI, W. ۲۰۱۹. Protection of Myocardial Ischemia–Reperfusion by Therapeutic Hypercapnia: a Mechanism Involving Improvements in Mitochondrial Biogenesis and Function. *Journal of cardiovascular translational research,* ۱۲, ۴۶۷-۴۷۷

FUKAZAWA, K., VITIN, A. A. & PRETTO, E. A. ۲۰۱۶. Serum acidosis prior to reperfusion facilitates hemodynamic recovery

following liver transplantation. *Journal of anesthesia,* ۳۰, ۸۰-۸۸

CHIARI, P., DURAND, M., DESEBBE, O., FISCHER, M.-O., LENA-QUINTARD, D., PALAO, J.-C., MERCIER, C., SAMSON, G., VARILLON, Y. & POZZI, M. ۲۰۱۹. Multimodal cardioprotective strategy in cardiac surgery (the ProCCard trial): Study protocol for a multicenter randomized controlled trial. *Trials,* ۲۰, ۱-۹

SALMANINEJAD, A., KANGARI, P. & SHAKOORI, A. ۲۰۱۷. Oxidative stress: development and progression of breast cancer. *Tehran University Medical Journal TUMS Publications,* ۷۵, ۱-۹

WANG, Y.-Z., LI, T.-T., CAO, H.-L. & YANG, W.-C. ۲۰۱۹. Recent advances in the neuroprotective effects of medical gases. *Medical gas research,* ۹, ۸۰

BRAMBRINK, A. & ORFANAKIS, A. 2010. "Therapeutic Hypercapnia" after Ischemic Brain InjuryIs There a Potential for .Neuroprotection? *Anesthesiology: The Journal of the American Society of Anesthesiologists,* 112, 274-276

CHENG, Q., LI, L., LIN, D., LI, R., YUE, Y., WEI, H. & MA, J. ۲۰۱۹. Effects of acute hypercapnia on cognitive function in patients undergoing bronchoscope intervention. *Journal of thoracic disease,* ۱۱, ۱۰۶۵

BRAMBRINK, A. & ORFANAKIS, A. 2010. "Therapeutic Hypercapnia" after Ischemic Brain

InjuryIs There a Potential for Neuroprotection? *Anesthesiology: The Journal of the American Society of*

.Anesthesiologists, 112**,** 274-276

LUO, Y., SUN, Y., LIU, W., LIU, T. & LIU, Z. 2017. The effect of permissive hypercapnia on cerebral oxygen metabolism and brain function in patients with craniocerebral trauma surgery.

EASTWOOD, G. M., SCHNEIDER, A. G., SUZUKI, S., PECK, L., YOUNG, H., TANAKA, A., MÅRTENSSON, J., WARRILLOW, S., MCGUINNESS, S. & PARKE, R. ۲۰۱۶. Targeted therapeutic mild hypercapnia after cardiac arrest: a phase II (the CCC trial). *Resuscitation,* ۱۰۴**,** ۸۳-۹۰ multi-centre randomised controlled trial

ZHU, J., YAO, K., WANG, Q., GUO, J., SHI, H., MA, L., LIU, H., GAO, W., ZOU, Y. & GE, J. ۲۰۱۶. Ischemic postconditioning-regulated miR-۴۹۹ protects the rat heart against ischemia/reperfusion injury by inhibiting apoptosis through PDCD۴. *Cellular Physiology and Biochemistry,* ۳۹**,** ۲۳۶۴-۲۳۸۰

اهداف: هدف اصلی، اهداف اختصاصی، هدف کاربردی

اهداف (خروجی ها) اصلی طرح:

تعیین تأثیر اسیدی کردن متوسط pH خون شریانی بر میزان miR-۴۹۹ در دقایق اولیه پس از باز کردن کلامپ آئورت حین جراحی دریچه قلب

اهداف (خروجیها) اختصاصی طرح:

۱-**تعیین و مقایسه میانگین** سطح بیومارکر میکرو RNA ۴۹۹ (miR_ ۴۹۹) به عنوان یک novel biomarker.

۲- **تعیین و مقایسه میانگین** سطح آنزیمهای قلبی (تروپونینI، CKMB، LDH) در گروههای مورد مطالعه در ICU

۳-تعیین و مقایسه میانگین لاکتات خون پس از جدا شدن از پمپ در گروههای مورد مطالعه در ICU

۴-**تعیین و مقایسه میانگین** سطح آنزیمهای گلوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسید دسموتاز قبل و بعد از باز شدن کلمپ آئورت در گروههای مورد مطالعه

۵-تعیین و مقایسه میانگین سطح میزان سطح مالونیل دی الدئید به عنوان بیومارکر اصلی استرس اکسیداتیو قبل و بعد از باز شدن کلمپ آئورت در گروه

	های مورد مطالعه ۶-تعیین و مقایسه میانگین سطح ساخت نیتریک اکسید (NO) قبل و بعد از باز شدن کلمپ آئورت در گروه‌های مورد مطالعه ۷- تعیین و مقایسه میانگین کسر تخلیهای در گروه‌های مورد مطالعه بعد از جدا شدن از پمپ و در ICU **اهداف کاربردی طرح:** در صورت افزایش miR-499 به وسیله پرفیوژن اسیدی میتوان استراتژی مناسبتر برای کاهش عوارض ایسکمی و ریپرفیوژن انتخاب کرد.
فرضیات یا سوالات پژوهشی	**فرضیه ها:** ۱- میانگین سطح بیومارکر میکرو RNA ۴۹۹ (miR_ ۴۹۹) در گروه‌های مورد مطالعه تفاوت معنی داری دارد. ۲- میانگین سطح آنزیمهای قلبی (تروپونینI، CKMB، LDH) در گروه‌های مورد مطالعه در ICU تفاوت معنی داری دارد. ۳-میانگین لاکتات خون پس از جدا شدن از پمپ در گروههای مورد مطالعه در ICU تفاوت معنی داری دارد. ۴-میانگین سطح آنزیمهای گلوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسید دسموتاز در گروه‌های مورد مطالعه تفاوت معنی داری دارد. ۵-میانگین سطح میزان سطح مالونیل دی الدئید به عنوان بیومارکر اصلی استرس اکسیداتیو در گروه‌های مورد مطالعه تفاوت معنی داری دارد ۶- میانگین سطح ساخت نیتریک اکسید (NO) در گروه‌های مورد مطالعه تفاوت معنی داری دارد. ۷_میانگین کسر تخلیهای در گروه‌های مورد مطالعه بعد از جدا شدن از پمپ و در ICU تفاوت معنی داری دارد.
روش اجرا	**روش اجراء:** این پژوهش یک کارآزمایی بالینی تصادفی، به منظور بررسی اثر محافظتی pH اسیدی در هنگام ریپرفیوژن اولیه قلبی، به منظور کاهش عوارض ایسکمی-ریپرفیوژن در بیماران تحت عمل جراحی قلب باز الکتیو (عمل های دریچه ای) در اتاق عمل مرکز آموزشی درمانی قلب شهید رجایی تهران است.

بیماران بر اساس بلوک های تصادفی در دو گروه ۳۰ نفره به پژوهش وارد خواهند شد. بر اساس pH گزارش شده در نمونه ABG بیماران به دو گروه تقسیم می شوند.

گروهی که pH بیشتر از ۷.۳۵ (نرمال) دارند و گروهی که pH کمتر از ۷.۳۵ (اسیدی) دارند. در گروهی که pH اسیدی است مداخله ای صورت نمی گیرد، اما در گروه pH نرمال بر اساس جدول تصادف سازی بیماران به دو گروه تقسیم می شوند. یک گروه pH در همان وضعیت نرمال نگه داشته می شوند و در گروه دوم pH با انجام مداخله و تغییر در میزان Pco۲ اسیدی می شود.

ایجاد اسیدوز تنفسی موقت برای مرحله ریپرفیوژن با استنشاق عمدی گاز CO_2 به اکسیژناتور، و ایجاد هایپرکاپنی درمانی (PaCO۲=۶۰_۵۰) به منظور ایجاد pH در محدوده ۷.۲۵ الی ۷.۳۰، صورت می گیرد. بدبن صورت که ۵ دقیقه قبل از ریپرفیوژن، گاز CO_2 به میزان ۱۰٪ به مخلوط اکسیژن و هوا اضافه می شود و بعد از باز شدن کلمپ آئورت، به مدت ۲ دقیقه بعد از ریپرفیوژن ادامه مییابد.

در هر دو گروه از این بیماران قبل از باز شدن کلمپ آئورت، ریپرفیوژن کنترل شده آئورت برقرار میشود به این صورت که به مدت یک دقیقه با فشار۴۰–۳۰ mmhg و در ادامه نیز برای مدت یک دقیقه با فشارmmhg ۶۰–۴۰ جریان خون گرم برقرار میشود (در مجموع ۲ دقیقه زمان Terminal warm controlled reperfusion aortic root).

همه بیماران تحت مطالعه از شرایط یکسان بیهوشی و پمپ برخوردار خواهند شد. اطلاعات پرسشنامه شامل موارد زیر می باشد:

قبل از شروع جراحی: سن، جنسیت، بیماریهای همراه، نوع عمل، کسر تخلیهای قبل از عمل، فشار شریان ریوی. آنزیمهای قلبی (مقادیر تروپونین، وLDH CKMB قبل از عمل

حین جراحی: اندازهگیری سطح بیومارکر میکرو RNA ۴۹۹ (miR_ ۴۹۹) قبل از کلمپ آئورت و ۵ دقیقه بعد از باز شدن آئورت. اندازهگیری سطح NO قبل از کلمپ آئورت و ۵ دقیقه بعد از باز شدن آئورت ،اندازهگیری آنزیمهای آنتی اکسیدان و اکسیداتیو قبل از کلمپ آئورت و ۵ دقیقه بعد از باز شدن آئورت.اندازهگیری سطح مالونیل دی الدئید قبل از کلمپ آئورت و ۵ دقیقه بعد از باز شدن آئورت. ا

بعد از جراحی: مارکرهای تشخیص آسیب میوکارد (LDH، CK-MB و troponin I) ۶ و ۲۴ ساعت بعد از باز شدن آئورت

مشخصات ابزار جمع آوری اطلاعات و نحوه جمع آوری آن

مشخصات ابزار جمعآوری اطلاعات و نحوه جمع آوری آن:

بر اساس چک لیست ضمیمه، حاوی اطلاعات بالینی از پرونده و آزمایشگاه (در حین عمل و سایر بررسیها و نتایج آزمایشات انجام شده در اتاق عمل وABG ICU)

روش محاسبه حجم نمونه و تعدادآن

روش محاسبه حجم نمونه و تعداد آن:

این پژوهش به صورت یک مطالعه مقدماتی (Pilot study) در بزرگسالان انجام میشود. از آنجاییکه مطالعهای مشابه این مطالعه انجام نشده و با توجه به هزینه های بالای این طرح، این پژوهش به صورت یک مطالعه Pilot در نظر گرفته خواهد شد. بنابراین با تعداد ۳۰ نفر در هر گروه و در مجموع بر روی ۶۰ بیمار بزرگسال تحت عمل جراحی قلب باز الکتیو انجام خواهد شد.

ملاحظات اخلاقی

ملاحظات اخلاقی:

	۱- کسب مجوز از کمیته اخلاق مرکز آموزشی، تحقیقاتی و درمانی قلب و عروق شهید رجایی ۲- کلیه اطلاعات بیماران محرمانه مانده، در اختیار هیچ فرد حقیقی یا حقوقی قرار نخواهد گرفت و از اطلاعات فقط در نتایج تحقیق استفاده خواهد شد. ۳- شرایط تحقیق برای افراد مورد مطالعه شرح داده شده، رضایتنامه اگاهانه کتبی توسط پزشک معالج اخذ خواهد شد. متخصص پزشکی قانونی نیز برای کلیه بیماران تحت جراحی قلب، پروسه جراحی و اقدامات و مداخلات انجام شده و نتایج ناشی از آنها و استفاده تحقیقاتی از نتایج آزمایشات به منظور دستیابی به روشها و راهکارهای بهتر را توضیح داده و رضایت آگاهانه از بیماران اخذ می گردد. ۴- قبل از اجرای طرح، هماهنگی کامل با مسئولین بیمارستان و مسئولین بخش جراحی قلب و اتاق عمل بیمارستان به عمل خواهد آمد. ۵- هیچگونه هزینه اضافی به بیماران تحمیل نمیشود. ۶-مشارکت کنندگان حق کنارهگیری از پژوهش در هر زمان را خواهند داشت. ۷- هرگونه عارضه یا حادثه منتسب به پژوهش، بدون تحمیل هزینه به بیمار پیگیری و درمان خواهد شد. ۹- ثبت کارآزمایی در سایت ایرانی www.IRCT.ir و اخذ کد ثبتی
محدودیتهای اجرایی طرح وروش کاهش آنها	**محدودیتهای اجرایی طرح و روش کاهش آنها:** محدودیتهایی برای این طرح وجود دارد که لازم است ذکر شود. به دلیل ماهیت بیماریهای دریچهای قلب که در ادامه انجام پروسیجر نیاز به ارزیابی دارند گاهی بر اساس ارزیابیهای ثانویه مثل اکوکاردیوگرافی، نیاز به انجام مداخلات دیگری ضرورت پیدا میکند که به دلیل همین مداخلات و افزایش زمان عمل، میتواند بر روی نتایج تأثیر داشته باشد و باعث خروج بیماران از طرح گردد. در نتیجه با بازگشت مجدد بیماران به بایپس، ارزیابی حجم نمونه در نظر گرفته شده ممکن است در زمان پیشبینی شده به پایان نرسد و به زمان بیشتری نیاز داشته باشد.
معیارهای ورود (فقط مربوط به طرحهای کارآزمایی بالینی)	**معیارهای ورود نمونههای مورد مطالعه:** ۱- رضایت بیمار برای ورود به مطالعه ۲- سن بالای ۱۸ سال و زیر ۶۵ سال

	۳- نداشتن سابقه استرنوتومی و جراحی قلبی ۴- کسر تخلیه‌ای بطن چپ بیشتر از ۳۰ درصد ۵- حجم خروجی ریوی با فشار در ثانیه اول (FEV۱) بیشتر از ۶۵ درصد در اسپیرومتری ۶- هموگلوبین بالای ۱۰ میلیگرم بر دسیلیتر ۷- نداشتن اختلال عملکرد کلیه و کبد ۸- نداشتن تستهای عملکرد ریوی مختل به صورت FEV1٪۴۰> ۹- نداشتن پیس میکر یا ICD ۱۰- عدم نیاز به حمایت دارویی (دریافت اینوتروپ قبل از شروع جراحی قلب)
معیارهای خروج (فقط مربوط به طرحهای کارآزمایی بالینی)	**معیارهای خروج نمونه‌های مورد مطالعه:** ۱- مدت زمان کلمپ آئورت کمتر از ۶۰ دقیقه و بیشتر از ۱۲۰ دقیقه ۲- بازگشت مجدد بیمار به ماشین قلبی-ریوی به هر دلیل حین عمل ۴- انتقال بیمار به صورت استرنوم باز به ICU
چگونگی تصادفی سازی و Concealment (فقط مربوط به طرحهای کارآزمایی بالینی)	بیماران بر اساس تصادفیسازی به شیوه بلوکهای تصادفی با سایز ۴، به ۲ گروه ۳۰ نفره تقسیم میشوند. لیست نحوه تصادفی سازی بیماران در پاکت سربسته در اختیار محقق قرار میگیرد و تخصیص بیماران به هر یک از گروههای مداخله و کنترل، قبل از باز شدن کلمپ آئورت، توسط محقق انجام میشود.
تعریف گروه مداخله (فقط مربوط به طرحهای کارآزمایی بالینی)	در گروهpH نرمال (بیشتر از ۷/۳۵)، pH با انجام مداخله و تغییر در میزان Pco_2 اسیدی میشود.
تعریف گروه شاهدیامقایسه (فقط مربوط به طرحهای کارآزمایی بالینی)	در گروهpH نرمال (بیشتر از ۷/۳۵)، pH در همان وضعیت نرمال نگهداشته میشوند
چگونگی کورسازی (Blinding) (فقط	از ۳ سویه درگیر در این مطالعه که ۲ سوی آن تیم جراحی و بیهوشی هستند به علت ماهیت کار جریان قرار می گیرند و تنها گروهی که نسبت به مطالعه آگاه

مربوط به طرحهای کارآزمایی بالینی)	نیستندء تیم ICU می باشد.
پیامدها اولیه (primary) ثانویه (secondary) ایمنی (Safety) (فقط مربوط به طرحهای کارآزمایی بالینی)	آسیب‌ها و عوارض احتمالی شرکت در این مطالعه به این شرح است: ناپایداری و بی ثباتی همودینامیک (مثل کاهش فشار خون) که به دلیل وصل بودن بیمار به دستگاه قلبی_تنفسی مصنوعی و در دسترس بودن داروهای افزایش دهنده فشار خون قابل کنترل است.
پیگیری (follow up) (فقط مربوط به طرحهای کارآزمایی بالینی)	تمام بیماران از نظر همودینامیکی و نورولوژیکی در ICU پیگیری خواهند شد

جدول متغیرها

نام متغیر	نقش متغیر	نوع متغیر	نوع متغیر کمی – پیوسته است؟	نوع متغیر کمی – گسسته است؟	نوع متغیر کیفی — رتبه ای است؟	نوع متغیر کیفی — اسمی است؟	واحد اندازه گیری	تعریف کاربردی	نحوه اندازه گیری
نوع pH قبل از ری¬پرفیوژن	مستقل	کیفی	☐	☐	☐	☑	بله، خیر	pH طبیعی، در محدوده ۳۵/۷ تا ۴۵/۷ قرار دارد. اسیدوز به زمانی، اطلاق می¬شود که pH خون، پایین¬تر از ۳۵/۷ قرار گیرد	آزمایش¬نمونه خون شریانی
میکرو RNA۴۹۹	وابسته	کمی	☑	☐	☐	☐	واحد در میلی لیتر	در آسیب ایسکمی_ـ ریپرفیوژن نقش محافظتی دارد	آزمایش، نمونه خون، سینوس کرونر
آنزیم سوپراکسید دسموتاز	مستقل	کمی	☑	☐	☑	☐	واحد در لیتر	آنتی اکسیدان‌ها گروهی از ویتامین‌ها، عناصر معدنی و آنزیم ها هستند که از تشکیل رادیکال های آزاد در بدن جلوگیری می‌کنند	آزمایش، نمونه خون شریانی
آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز	وابسته	کمی	☑	☐	☐	☐	واحد در لیتر	آنتی اکسیدان‌ها گروهی از ویتامین‌ها، عناصر معدنی و آنزیم¬ها هستند که از تشکیل رادیکال¬های آزاد در بدن جلوگیری می‌کنند	آزمایش نمونه خون، سینوس کرونر
مالونیل دی الدئید	وابسته	کمی	☑	☐	☐	☐	میکرو مول در	به عنوان بیومارکر اصلی	آزمایش، نمونه خون سینوس

							میلی لیتر	استرس اکسیداتیو	کرونر
	وابسته	کمی	☑	☐	☐	☐	میکرو مول در دسی لیتر	این ترکیب دارای خاصیت اتساع عروق، بوده و باعث حفاظت قلبی می¬شود	آزمایش، نمونه خون، سینوس کرونر
مقدار لاکتات	وابسته	کمی	☑	☐	☐	☐	آزمایش، نمونه¬ خون	در شرایط، که اکسیژن، خون افت ¬کند، تولید آن، توسط سلول¬ها به خصوص، گلبول¬های قرمز افزایش می¬یابد	میلی¬گرم در لیتر
کسر تخلیه¬ای قلب قبل و بعد از عمل	وابسته	کمی	☑	☐	☐	☐	درصد	کسر جهشی- عملکرد بطن، را نشان می- دهد	اکوی قلبی

زمانبندی و مراحل اجرا

شرح مختصر مرحله	درصد مرحله	مدت اجرا - ماه	از تاریخ	تا تاریخ
انجام تحقیق و جمع آوری اطلاعات		۵		
تجزیه و تحلیل آماری		۳		
نگارش و دفاع نهایی		۴		

ملاحظات اخلاقی

شما اجازه مشاهده این فرم را ندارید

هزینه وسایل و مواد مورد نیاز

نوع	نام دستگاه/ وسیله/ مواد	تعداد مورد نیاز	قیمت دستگاه/ وسیله/ مواد - ریال	کشور سازنده	شرکت سازنده	شرکت فروشنده	محل تامین اعتبار	جمع کل هزینه به ریال
مصرفی	اندازه گیری آنزیم سوپر اکسید دسموتاز به وسیله کیت	۲.۰	۴۰۰۰۰۰۰۰					۴۰۰۰۰۰۰۰
مصرفی	قیمت استخراج RNA از بافت (کیت نورژن Total RNA Extraction	۶۰.۰	۱۰۲۰۰۰۰۰۰					۱۰۲۰۰۰۰۰۰
مصرفی	قیمت سنتز cDNA (به ازای هر reaction)	۶۰.۰	۷۸۰۰۰۰۰۰					۷۸۰۰۰۰۰۰
مصرفی	قیمت Real Time PCR (به ازای هر reaction)	۶۰.۰	۴۸۰۰۰۰۰۰					۴۸۰۰۰۰۰۰
مصرفی	هزینه طراحی یک جفت پرایمر	۲.۰	۱۴۰۰۰۰۰					۱۴۰۰۰۰۰
مصرفی	هزینه سفارش یک جفت پرایمر به تعداد ۴۸ نوکلئوتید	۲.۰	۴۸۰۰۰۰۰					۴۸۰۰۰۰۰

هزینه پرسنلی

نام و نام خانوادگی	توصیف دقیق فعالیتی که فرد در این تحقیق باید انجام دهد	کل حق‌الزحمه – ریال
ماهرخ باقری مقدم(۱۷۶۶)	سانتریفیوژ و فریز نمونه های ارجاع شده به آزمایشگاه کاردیوژنتیک و اندازه گیری تمام آنزیم های نام برده شده در طرح	۱۲,۰۰۰,۰۰۰

جمع کل – ریال : ۱۲,۰۰۰,۰۰۰

هزینه آزمایشات و خدمات تخصصی

نام خدمت	نام مؤسسه ارائه کننده	تعداد یا مقدار لازم	قیمت واحد – ریال	قیمت کل – ریال
رکوردی یافت نشد				

هزینه مسافرت

مقصد	تعداد مسافرت در مدت اجرای طرح و منظور آن	نوع وسیله نقلیه	تعداد مسافرت	مبلغ
رکوردی یافت نشد				

هزینه کتب، نشریات و مقالات

نوع هزینه	توضیحات	مبلغ – ریال
رکوردی یافت نشد		

سایر هزینه ها

نوع هزینه	مبلغ – ریال
رکوردی یافت نشد	

کل اعتبار درخواست شده

هزینه پرسنلی (هیات علمی و غیر هیات علمی)	هزینه مواد مصرفی	هزینه مواد غیر مصرفی	هزینه تجهیزات،موادوخدمات موجوددر مرکز	هزینه مسافرت	هزینه چاپ و تکثیر	سایر هزینه ها	جمع کل هزینه – ریال
۱۲,۰۰۰,۰۰۰	۲۷۴,۲۰۰,۰۰۰	۰					۲۸۶,۲۰۰,۰۰۰