



## ANESTEZİ ALTINDA SPONTAN SOLUNUM YAPAN KOBAYLARDA EKSPİRASYON GAZLARININ ANALİZİ VE VENTİLASYON ÖLÇÜMÜ İÇİN BİR DENEYSEL DÜZENEK \*

### AN EXPERIMENTAL SET-UP TO ANALYSE EXPIRATORY GASES AND TO MEASURE VENTILATION IN SPONTANEOUSLY BREATHING GUINEA PIGS UNDER ANAESTHESIA

Mustafa ÖZBEK<sup>1</sup> Tamer ZEREN<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Manisa

<sup>2</sup>Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, Manisa

Anahtar Sözcükler: oksijen alımı, karbondioksit atımı, ventilasyon, spontan solunum, kobay

Key Words: oxygen uptake, carbon dioxide release, ventilation, spontaneous breathing, guinea pig

## ÖZET

*Bir gaz karışımındaki oksijen fraksiyonunu paramanyetik olarak belirleyen analizörler, gaz karışımını belirli bir hızda emerek işlemektedir. Bu çalışmada kullanılan gaz analizörü 210 ml.dk<sup>-1</sup> gaz akımı hızına ihtiyaç duymaktadır. Bu hız ise, spontan solunum yapan küçük deney hayvanının ventilasyon değerlerine yakındır. Bu nedenle, bu tip bir analizörün solunum sistemi çıkışına doğrudan bağlanması büyük ölçüm hatasına neden olur.*

*Bu problemi çözmek amacı ile, ekspire edilen gaz bir mikro valf yardımı ile bir odada biriktirilmiş, ve hem Oksijen hem de Karbondioksit fraksiyonunu belirlemek için, analizörün girişi bu bölmeğe bağlanmıştır. Ventilasyon ölçümü, kullanılan deney düzeneği içine yerleştirilen bir pnömotakograf ile yapılmıştır. Vücut ağırlıkları 0.85 - 1.0 kg arasında olan nöroleptanestezi altındaki kobaylarda oksijen alınımları ve karbondioksit atımları sırasıyla  $8.03 \pm 0.68$  ml.dk<sup>-1</sup> STPD ve  $7.38 \pm 0.70$  ml.dk<sup>-1</sup> STPD bulunmuştur. Bu değerler anestezi edilmiş ve normal kan gazı değerleri bulunan kobayların spontan solunum fonksiyonunu yansıtmaktadır.*

## SUMMARY

*The analysers which determinate oxygen fraction in a mixed gases paramagnetically, vworks by suction of the mixed gas with a certain flow rate. The gas analyser used in this study needs a flow of gas of 210 mimin<sup>-1</sup>. This rate was near of ventilation value of spontaneously breathing small laboratory animal. Therefore, a direct connection of such an analyser to output of respiratory system causes a great error of measurement.*

*To solve this problem, the expired gas was collected in a room with the aid of respiratory micro valve and in order to determinate fractions of both oxygen and carbondioxide, the input of analyser was connected to this room.*

*The ventilation measurement was performed by a pneumotachograph incorporated into the experimental set-up used. The oxygen uptake and carbon dioxide release were found  $8.03 \pm 0.68$  ml.min<sup>-1</sup> STPD and  $7.38 \pm 0.70$  mimin<sup>-1</sup> STPD respectively in guinea pigs with body weights between 0.85 and 1.0 kg under neuroleptanaesthesia. These values reflect spontaneous respiratory function of anaesthetized guinea pigs with normal blood-gas values.*

Yazışma adresi: Mustafa Özbek, Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Manisa  
Makalenin geliş tarihi: 11. 05. 2000;kabul tarihi: 14. 11. 2000

## GİRİŞ

BARNIKOL ve ark. tarafından, anestezi altındaki küçük laboratuvar hayvanlarında spontan solunum sırasındaki ekspirasyonu ve/veya inspirasyonu hava akımını ölçmek amacıyla bir "mikro valf yöntemi" geliştirilmiştir (1). Bu valf yardımı ile sıçanlarda ölü boşluk hacmini oldukça düşük tutulmakta ve akciğer yolu ile çıkan havayı bir toplama bölümünde biriktirilerek gaz analizi (paramanyetik oksijen ölçümü) yapmak mümkün olabilmektedir (1). Bu yöntem ile kobaylarda hemoglobin-polimerlerinden oluşan yapay oksijen taşıyıcılarının solunum sistemi üzerine olan etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda kullanılan ve solunum fiziolojisi alanında yeni olan bu yöntemin uygulanışı ve kalibrasyon işlemi hakkında ayrıntılar verilmemiştir (1,2). Bu çalışmada amaç, spontan solunumu taklit eden bir deneysel düzenek kullanılarak, mikro valf yöntemi ile ventilasyon, akciğerden alınan oksijen miktarı ve atılan karbondioksit miktarı ölçümlerinin uygulanışı ve kalibrasyonu hakkında ayrıntıları ortaya koymaktır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

### Deney hayvanları:

Deney hayvanı olarak erişkin kobaylar kullanılmıştır (n=7). Vücut ağırlıkları 0.85 kg - 1.0 kg arasında değişen albino kobaylar deney gününe kadar serbest bir şekilde besine ve suya ulaşılabilir şekilde bekletilmiştir.

### Anestezi:

Anestezi için nöröleptanestezi metodu seçilmiştir (2). Kısaca, fentanyl (0.2 mg.kg<sup>-1</sup>), droperidol (10 mg.kg<sup>-1</sup>) ve uretane (400 mg.kg<sup>-1</sup>) bir karışım şeklinde ilk doz olarak intraperitoneal (i.p.) uygulanmıştır. Yeterli analjezi oluşturmadığı pedal ağrı refleksi ile tespit edilir ise, ilk dozun % 30-40 i tamamlayıcı doz olarak kullanılmıştır (i. p).

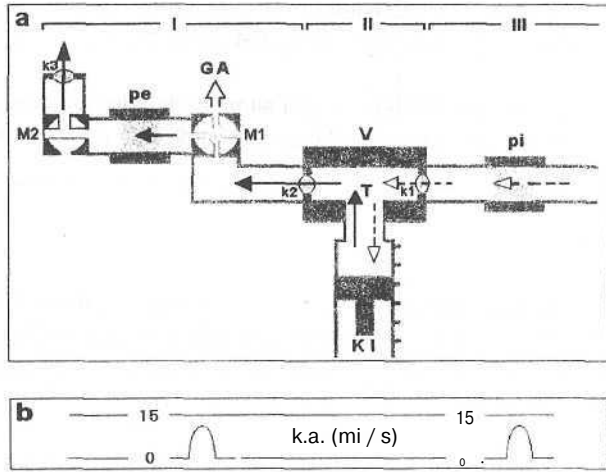
### Monitorizasyon:

Çene altında yapılan kesiyi takiben hemen larinksin altında trakeostomi yapılmıştır. İn vivo solunum gazları analizi için trakea kanülü mikro valf e (1) bağlanmıştır. Bu valf yardımı ile aşağıda ayrıntılı olarak açıklandığı gibi solunum gazlarının analizi yapıldı. Arteriyel kan basıncı kaydı için sağ femoral arter kanüle edilerek basınç çevirecine bağlanmış (SP 1400, Gould Pressure-Monitor, USA) ve arteriyel kan analizleri femoral arterden alınan kan örneklerinde yapılmıştır. Venöz kan analizleri ise vena jugularis yolu ile sağ kalp içine kadar uzanan bir kateterden sağlanan kanda yapılmıştır.

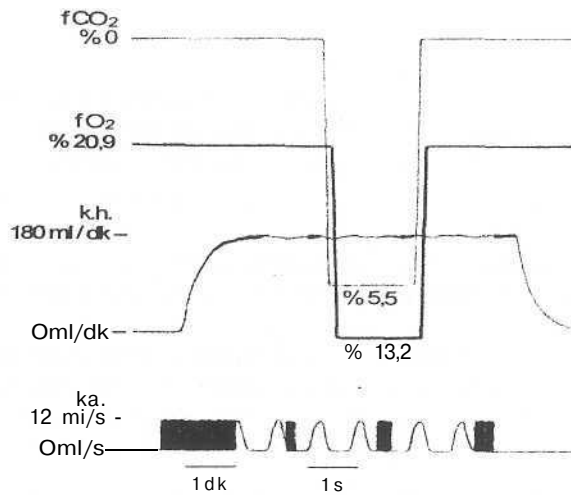
### Deneysel Düzenek'in Yapısı ve Protokol

Şekil 1a da şematik olarak gösterilen deneysel düzenek başlıca üç bölümden (I, II, III) oluşmaktadır. III. Bölüm inspirasyon havasının geçeceği bölümdür. Burada bulunan pi pnönotakografı (Fleisch, type 00) ile sisteme giren hava akımı ölçülür. II. Bölüm mikro valf (V) ve bir motor ile hareket eden kalibrasyon enjektöründen (K1) oluşur. Mikro valf içinde bulunan ve silikon membrandan yapılmış olan k1 ve k2 kapakları aşağıda açıklandığı gibi tek yönlü

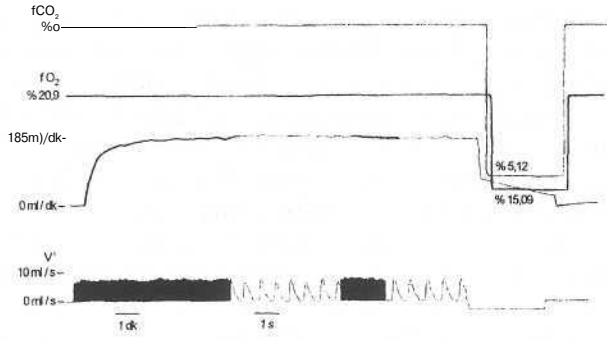
açılabilir. Piston aşağı doğru hareket ederken, ki bu faz inspirasyonu temsil etmektedir, k1 kapağı ölü boşluk (T) içinde oluşan negatif basınç ile açılır, bu sırada k2 kapalıdır. Ekspirasyonu temsil etmek için piston yukarı doğru hareket sırasında ise ölü boşluk içinde oluşan pozitif basınç ile k1 kapağı kapanır ve k2 kapağı açılır. Ölü boşluk (T) hacmi yaklaşık 0,5 mi dir. I. Bölüm ekspirasyon havasının geçeceği bölümdür. Burada, ekspirasyon havası Sırasıyla M1 musluğu, pe pnönotakografını (Fleisch, type 00), M2 musluğunu ve k3 kapağını geçerek sistemin dışına çıkar. Sistemin çıkışında bulunan k3 kapağının rolü ekspirasyonun sonunda I. Bölüm içinde biriken havanın dış ortamla temasını engellemektir. Ekspirasyon tamamlandığında k3 kendi ağırlığı ile kapanarak ekspirasyon havasının P ile Avarasında hapsedilmiş olur.



Şekil 1. a: Kalibrasyon sırasında deneysel düzenek. Kalibrasyon enjektörü (K1) ile oluşturulan, inspirasyonu ve ekspirasyonu temsil eden akımlar, iki farklı ok ile sembolize edilmiştir, b: Şematik olarak inspirasyon (sağda) ve ekspirasyon (solda) hava akımları (k.a.).



Şekil 2. Gaz analizleri ve ventilasyon ölçümünde temel alınacak olan bir kalibrasyon deneyi örneği



Şekil 3. Spontan solunum yapan anestezi altındaki bir kobayda ventilasyon ölçümü ve solunum gazlarının analizi

Hayvan deneyi sırasında trakea kanülü aracılığı ile mikro valf e bağlandı. Yaklaşık 10 dakikalık bir spontan solunumdan sonra M1 ve M2 muslukları uygun pozisyona getirilerek gaz analizörünün (GA) girişi birikmiş havanın bulunduğu bölüm ile ince bir hortum ile temas ettirildi. Şekil 1b de temsili inspirasyonu ve temsili ekspirasyon döneminde oluşan akımlar (k.a) sırasıyla bu şeklin sağ ve sol tarafında gösterilmektedir. Pnömotakograflar (pi ve pe) içinden geçen akımlar tek yönlü olmak zorundadır. Hayvan deneyi sırasında bu kayıtların sürekli olarak yapılması ile her iki kapağında tek yönlü olarak çalışıp çalışmadığı kontrol edilebilir.

Ventilasyon ölçümü, gaz analizleri ve kalibrasyonlar Şekil 2 de bir kalibrasyon ölçümü sırasında alınan yazıcı kaydı görülmektedir (Linseis Yazıcı, Almanya). Burada Şekil 1 de gösterilen düzenek kullanılarak injektörün (Kİ) frekansı 60 min<sup>-1</sup> olarak ayarlanmış ve her devirde 3 ml hacim sisteme pompalanmıştır.

En alttaki kayıt; deney düzeneğindeki pe içinden akan hava akımıdır (k.a). Bu hava akımı kalibrasyon için kullanılan ekspirasyon akımını temsil etmektedir (Ganshorn Elektronik, Almanya). Bu grafiğin hemen üstünde k.a. akımının integralini gösteren k.h eğrisi görülmektedir ki "ml.dk"<sup>im</sup> olarak ventilasyonu temsil eder (Multiplier/Divider, Model 193, EG&G, Almanya). Akımın (k.a.) zamana göre değişimini açık bir şekilde gösterebilmek için kayıt sırasında iki farklı hız kullanılmıştır. Şekil 2 de gösterilen üstten birinci ve ikinci grafikler sırasıyla CO<sub>2</sub> ve O<sub>2</sub> gazlarının fraksiyonlarının (f O<sub>2</sub>, f CO<sub>2</sub>) kalibrasyon esnasındaki ölçümlerini gösterir (Datex, Hoyer-Bremen, Almanya). Bu ölçüm ventilasyon ölçümü ile ilgili Şekil 1 deki düzenekten tamamen bağımsız olarak yapılmıştır. Deneysel odası havasının f CO<sub>2</sub>'de f O<sub>2</sub> değerleri sırasıyla % 0 ve % 20,9 olarak varsayılmıştır. Gaz analizi kalibrasyonu amacıyla kullanılan tüpündeki gaz oranları, f CO<sub>2</sub> için % 5,5 ve f O<sub>2</sub> için %13,2 dir (Şekil 2).

Ventilasyon ölçümünün kalibrasyonu işlemine ise aşağıdaki gibi devam edilmiştir. Kalibrasyon injektörü ile her bir periyotta sistemine pompalanan hava hacmi 1,5 ml ile 6,5

ml arasında 1'er ml lik artışlarla değiştirilmiştir (n=6). Bu işlem pompanın frekansının 30 dak<sup>-1</sup>, 60 dak<sup>-1</sup> ve 90 dak<sup>-1</sup> değerleri için tekrarlanmıştır (n=3). Yani toplam olarak Şekil 2 deki ne benzer biçimde 18 (6x3) deney yapılmıştır. Her bir deneyde ölçülen integrasyon eğrisinin yükseklik değeri "y" ile sisteme 1 dakikada pompalanan kalibrasyon hava hacmi "k.h"(= frekans x 1 periyotta pompalanan hava hacmi) karşılaştırılmıştır. Ventilasyon ölçümünün güvenilirliği için y ile k.h. arasındaki doğrusal ilişki Spearman testi kullanılarak değerlendirilmiş ve "r= 0,998" bulunmuştur. Böylece, Şekil 1 de gösterilen ve ventilasyon ölçümü için kullanılan mekanik komponentlerin yanında diğer elektronik komponentlerin performansları da test edilmiş olmaktadır.

Ventilasyon değerlerinin ölçülmesi için BTPS şartlarına göre (vücut sıcaklığında, su ile doymuş ve ortamın basıncında ölçülen hacim) düzeltmeler yapılmıştır. Ayrıca BTPS şartlarındaki ventilasyon değerinden (Vt BTPS) standart şartlar altındaki (STPD) ventilasyon değeri de (Vt STPD) hesaplanmıştır. Bu konu ile ilgili akciğer hacimlerinin düzeltme hesapları daha önceki bir yayında ayrıntılı olarak verilmiştir (3). Sonuçlar "ortalama ± standart sapma" olarak ifade edilmiştir.

## SONUÇLAR

Şekil 3'te kobay deneyi sırasında alınan orjinal bir kayıt gösterilmektedir. V" ekspirasyon hava akımını göstermektedir. Ventilasyon değeri (Vt), integrasyon eğrisinin yüksekliğinden, 185 ml.dak<sup>-1</sup> BTPS olarak bulunmuştur. Aynı deneyde kayıt süresinin sonuna doğru M-, ve M2 musluklarının arasında birikmiş olan ekspirasyon gazı analizatör tarafından emilerek f O<sub>2</sub> ve f CO<sub>2</sub> değerleri belirlenmiştir, inspirasyon havasındaki gaz fraksiyonu ile ekspirasyon havasındaki gaz fraksiyonlarının farkı sırasıyla karbondioksit için % 5,12 (AfCO<sub>2</sub> = % 5,12 - % 0), oksijen için % 5,81 (AfO<sub>2</sub> = %20,9 - % 15,09) olarak bulunmuştur. En alttaki kanalda açık olarak görüldüğü gibi; paramanyetik prensibe göre çalışan analizörün birim zamanda kullandığı hava hacmi yaklaşık -3,5 ml.dak<sup>-1</sup> dir.

Standart fiziksel şartlar altında akciğer yolu ile 1 dakikada alınan oksijen miktarının (O<sub>2</sub> alımı) ve yine akciğer yolu ile dış ortama atılan karbondioksit miktarının (CO<sub>2</sub> atımı) hesaplanmasında; "O<sub>2</sub> alımı STPD = Vt STPD X AfO<sub>2</sub>" ve "CO<sub>2</sub> atımı = Vt STPD x AfCGV" formülleri kullanılmıştır. O<sub>2</sub> alımı ve CO<sub>2</sub> atımı değerleri sırasıyla 8.03 ± 0.68 ml STPD ve 7.38 ± 0.70 ml STPD bulunmuştur. Aynı hayvanlarda Vt BTPS , 205 ± 18 ml.dak<sup>-1</sup>, solunum katsayısı (AfCO<sub>2</sub>/AfO<sub>2</sub>) ise % 89 ± 3 dür. Anestezinin dolaşım sistemi üzerine olan etkisini araştırmak amacıyla ölçülen ortalama arteriyel basınç 56 ± 6 mmHg olarak saptanmıştır. Bu değer anestezi edilmemiş kobaylardaki ortalama arteriyel kan basıncı değeri ile hemen hemen aynıdır (4).

Ölçtüğümüz kalp atım hızı  $270 \pm 16$  dak<sup>-1</sup> olup normal kobay kalp hızı değerlerinden yaklaşık % 10 düşüktür (4).

## TARTIŞMA

Bu çalışmada kobaylar için kullanılan neuroleptanestezi yöntemi; EVANS tarafından önerilen kombinasyon değiştirilerek elde edilmiştir (5). Bu anestezi yöntemi yapay oksijen taşıyıcı hemoglobin-polimerlerinin özellikle spon-tan solunum üzerine etkilerini araştırmak için ÖZBEK ve ark. tarafından geliştirilmiştir (2). Bu anestezi altındaki kan gazları değerleri daha önce ölçmüştür ve BROWN ve ark. nin anestezi edilmemiş kobaylarda ölçtüğü kan gazları değerlerine yakın değerler bulunmuştur (4).

Burada ölçtüğümüz kan basıncı ve kalp atım hızı yükseklikleri BROWN ve ark. nin yayınladıkları değerlerle kıyaslanırsa önemli bir kardiovasküler depresyonun gelişmediği söylenebilir (4). Fakat,, ölçtüğümüz, ventilasyon, O<sub>2</sub> alımı ve CO<sub>2</sub> atımı değerleri anestezi edilmemiş kobaylarda BLAKE ve BANCHERO tarafından ölçülen değerlerle kıyaslandığında belirgin olarak düşüktür bulunmuştur (6). Bu durum Anestezi altındaki hayvanlarda fiziksel aktivite olmadığından metabolizmanın yavaşladığını gösterebilir.

## KAYNAKLAR

1. Barnikol, WKR, Hiller B, Guth S. Ein Mikro-Atemstromventil für spontan atmende narkotisierte Kleintiere. Biomed Technik 1994; 39:57-62.
2. Özbek M, Domack U, Barnikol, WKR. A model for evaluation of artificial oxygen carriers regarding circulation, respiration and metabolism in anaesthetized spontaneously breathing guinea pig. Adv Exp Med Biol 1999; 471:17-26.
3. Egan DF. Fundamentals of Respiratory Therapy, London, Mosby Co. 1973 Çevirisi : Vidinel i, Demirdağlı H : Gazlar ve atmosfer ve gaz yasaları. Bornova: Ege Üniversitesi Matbaası, 1976: 1-39.
4. Brown JN, Thorne PR, Nuttal AL : Blood pressure and other physiological responses in awake and anesthetized guinea pigs. Laboratory Animal Science 39(2): 142-148, 1989.
5. Evans EF. Neuroleptanesthesia for the guinea pig. An ideal anesthetic procedure for long-term physiological studies of the cochlea Arch Otolaryngol 1979; 105:185-186.
6. Blake, C I. Banchero, N. Ventilation and oxygen consumption in the guinea pig. Respiration Physiology 1985; 61:347-355.

Alman Fiziyojji Derneği 78. Kongresinde kısmen sunulmuştur (14-17 Mart, 1999, Bonn)

Şekil 3 de gösterilen paramanyetik ölçü prensibine göre çalışan oksijen analizörünün oluşturduğu hava akımının yüksekliği (210 ml.dk<sup>-1</sup>) yaklaşık olarak ortalama ventilasyon değeri düzeyindedir. Analizörün direkt olarak trakea havası ile teması spontan solunumu büyük ölçüde bozulacağından, Şekil 1'deki düzenek geliştirilerek ekspirasyon havası biriktirildikten sonra gaz fraksiyonları belirlenmiştir. Bu modelde biriktirme süresi yaklaşık 10 dakika olduğuna göre; gaz fraksiyonu ve ventilasyon değerleri de bu süre içindeki ortalama değerlerdir. Her bir solunum periyodunda ekspirasyon sonu fraksiyonların belirlenememesi veya daha sık aralıklarla alınan örneklerde gaz analizi yapılamaması bu deneysel yöntemin bir dezavantajı olarak görülebilir. Ancak, paramanyetik oksijen analizi duyarlılığı (<% 0.01) ve mikro valf ölü-boşluk hacminin düşüklüğü göz önünde bulundurulursa, tanıttılan bu in vivo modelin "solunum ve/veya metabolizma fiziyojisi" alanında geniş bir kullanım alanı bulabileceği düşünülebilir. Literatür taramasında anestezi altında spontan solunum yapan kobaylarda oksijen alımı ve karbondioksit atımı ile ilgili bir kaynak yoktur. Ayrıca, spontan ve yeterli solunum fonksiyonunu bozmayan bir kobay anestezi yöntemi oluşturabilmek başlı başına bir problemdir (4). Bu sorunun aşılabilmesi için henüz yaygın olarak kullanılmayan nöroleptanestezinin özel bir değeri vardır (2,5).