

Mgr. Ksenia Sedova, Ph.D.

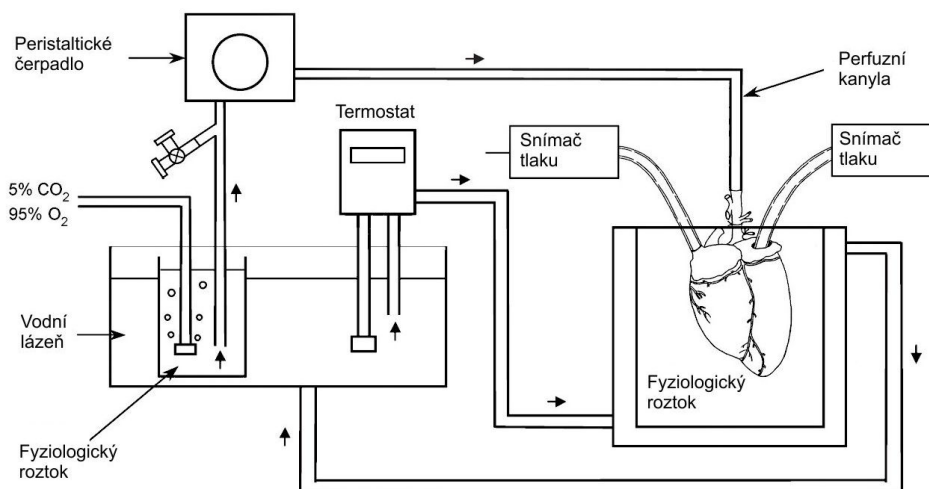
Langendorffův perfuzní systém

Úvod

Rozšířený výskyt kardiovaskulární patologií ve vyvinutých zemích vyžaduje studium její patogenetických mechanismů, zlepšení diagnostických metod a terapeutických algoritmů. Z hlediska základního výzkumu srdeční patologie experimentální techniky jsou nezbytným instrumentem, umožňujícím studium mechanismů patologických dějů v srdce, stanovení a hodnocení efektivity farmakologických účinků kardioprotektivních látek.

Vhodným modelem pro tyto účely slouží Langendorffův perfuzní systém pro realizace experimentů na izolovaném srdci. Hlavní výhodou tohoto systému je absence ovlivnění funkcí myokardu vlivů ze státny regulačních systémů působící na úrovni celého organismu (nervový a endokrinní), což umožňuje sledovat změny funkcionální aktivity srdeční závislé výhradně na patofysiologických procesech probíhajících v kardiomyocytech.

Existují dva způsoby perfuze izolovaného srdce, hlavním rozdílem je metodika podání perfuzního roztoku. První varianta se realizuje podáním perfuzního roztoku retrográdně přes aortu, klasický Langendorffův model vyvinutý rakouským fyziologem Oskarem Langendorffem v roce 1895 [1]. Druhý způsob podání perfuzního roztoku umožňuje přetékání tekutiny přes levou předsíň což je fyziologickým analogem krevního oběhu. Tento anterográdní režim perfuze myokardu byl vyvinut v 1967 roce Henrym Morganem a Jamesem Neely na základě Langendorffůva perfuzního modelu [2].



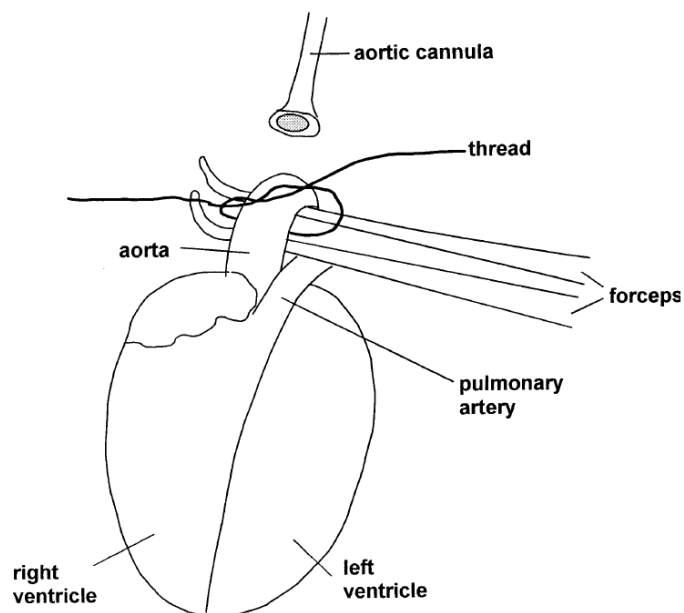
Obr. 1 Příklad uspořádání Langendorffůva perfuzního systému [3]

Cíl laboratorní úlohy

Cílem laboratorní úlohy je seznámení s metodikou experimentu na izolovaném dle Langendorffa srdci včetně analýzy registrovaných elektrických potenciálů srdce.

Metodika přípravy preparátu izolovaného srdce

Na anestetizovaném zvířete se provádí mediální torakotomie, srdce se vyjímá z hrudníku odříznutím v místě aortálního oblouku (arcus aortae). Srdce se umístí do Krebs-Henseleitůva roztoku o teplotě 4°C kde se provádí odstranění perikardu, zbytky plicního parenchymy a pojivové tkáně. Aorta se přivěsí do kanyle perfuzního přístroje a je fixována pomocí ligatury. Kanyla je vyplněna perfuzním roztokem aby nedošlo ke vniknutí vzduchu do aorty. Dále se začíná perfuze srdce. Stabilizace funkční aktivity po zahájení perfuze trvá 10 -20 minut, pak mohou se začít experimentální měření.



Obr. 2 Příklad přípravy preparátu izolovaného srdce [4]



Principy fungování systému izolovaného srdce

1. Nezbytnou podmínkou je stálá perfuze koronárních cév srdce perfuzním roztokem.
 - Existuje několik typů perfuzních roztoků: Ringerův, Ringerův-Lockeho, Tyrodův roztok, Krebs-Henseleitův.
 - Optimálním pro perfuze izolovaného srdce teplokrevných živočichů je pufrovací roztok Krebs-Henseleitův následujícího složení mM: NaCl - 118.0; KCl - 4.7; MgSO₄ - 1.2; KH₂PO₄ - 1.2; CaCl - 2.0; glukóza - 5.5; NaHCO₃ - 25.0.
2. Perfuzní kapalina musí vstupovat do koronárních cév pod stálým tlakem. Obvykle tlak je nastavený 60.0 - 100.0 cm vodního sloupce v závislosti na druhu experimentálního zvířete.
3. Pro udeřování oxidačního metabolismu myokardu je nutné dostatečné nasycení perfuzního roztoku kyslíkem. Okysličování perfuzního roztoku je zajištěno karbogenem (5% CO₂, 95% O₂). pH roztoku je 7.4.
4. Teplota protékající srdcem kapaliny má být konstantní v rozmezí 37-38°C pokud jde o srdce teplokrevných živočichů. Výjimkou jsou experimenty s hypo- nebo hypertermií.

Realizace experimentální úlohy

Experimentální úloha se řeší na modelu Langendorff za použitím izolovaného srdce žáby nebo potkanu.

1. Nastavení experimentálního modelu izolovaného srdce dle Langendorffa
 - 1.1. Zapojte izolované srdce do perfuzního systému. Nastavte odpovídající hodnotu perfuzního tlaku. Teplota perfuzátu má být 18°C pro srdce žáby a 38°C pro srdce potkanu.
 - 1.2. Umístíte stimulační elektrodu v oblasti srdeční báze. Stimulace se provádí o frekvenci 240 imp/min u srdce potkanu a 35 imp/min u srdce žáby.
 - 1.3. Měřicí elektrodu (umožňuje registraci monofazních akčních potenciálů, MAP) umístíte v oblasti hrotu srdce.
 - 1.4. Připojte k systému bipolární svody odpovídající standartním EKG svodům.
2. Experimentální měření
 - 2.1. Po stabilizaci srdce registrujte MAP a EKG ve výchozím stavu.



Analyzujte následující základní parametry MAP: amplituda a doba trvání (APD90) MAP. Na EKG křivce změřte délku trvání QRS komplexu a interval QT.

2.2. Snižte nebo navyšte teplotu perfuzního roztoku o 3-4°C a registrujte elektrofyziologické data a popište změny elektrofyziologických parametrů.

2.3. Zvyšte nebo snižte stimulační frekvenci o 50% a proveďte záznam MAP a EKG. Analyzujte zjištěné data.

Pokyny k vypracování protokolů

1. Popište základní princip fungování systému izolovaného srdce dle Langendorffa. Ukažte hlavní komponenty systému.
2. Nakreslete schéma popisující způsob perfuze izolovaného srdce dle Langendorffa.
3. Analyzujte zjištěné experimentální data a určité vliv teploty a tepové frekvenci na elektrofyziologické vlastnosti srdce.

Literatura:

1. LANGENDORFF, O. Untersuchungen am uberlebenden Saugetierherzen. Pflugers. Arch. 1895, 61: 291-332.
2. NEELY J.R. et al. Effects of ischemia on function and metabolism of the isolated working heart. Am. J. Physiol. 1973, 225(3):651-658.
3. VOŽDA M. Mikroprocesorem řízené měření a regulace teploty. Brno: Vysoké učení technické v Brně. 2011
4. DHEIN, S. The Langendorff Heart. DHEIN, S., Friedrich W. MOHR a M. DELMAR, ed. Practical Methods in Cardiovascular Research. Berlin/Heidelberg: Springer-Verlag, 2005, s. 155-172