

КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

И.И. Хабибрахманов, Л.И. Хисамиева, Н.И. Зиятдинова, Т.Л. Зефиров

ФИЗИОЛОГИЯ ИЗОЛИРОВАННОГО СЕРДЦА

Учебно-методическое пособие



КАЗАНЬ - 2022

УДК 612

ББК 28.073

Печатается по рекомендации Учебно-методической комиссии
Института фундаментальной медицины и биологии ФГАОУ ВО К(П)ФУ
(протокол № 2 от 15.12.2021 г.)

Рецензенты:

доктор биологических наук, профессор кафедры охраны
здоровья человека Ф.Г. Ситдинов

кандидат биологических наук, доцент кафедры охраны
здоровья человека Г.А. Билалова

Хабибрахманов И.И. Физиология изолированного сердца: учебно-методическое пособие / И.И. Хабибрахманов, Л.И. Хисамиева, Н.И. Зиятдинова, Т.Л. Зефирова. – Казань: Вестфалика, 2022. – 34 с.

Учебно-методическое пособие составлено для проведения практических занятий по физиологии изолированного сердца с бакалаврами и магистрантами биологического отделения Института фундаментальной медицины и биологии КФУ. Учебно-методическое пособие подготовлено в соответствии с требованиями ФГОС и программ дисциплин «Возрастная анатомия, физиология» и «Физиология человека и животных». Пособие может быть использовано студентами для закрепления лекционного материала по анатомии и физиологии сердечно-сосудистой системы при выполнении практических работ и в процессе самостоятельной подготовки.

Методические рекомендации могут быть полезны студентам, аспирантам и научным сотрудникам при проведении экспериментов, связанных с изучением влияния различных факторов и фармакологических воздействий на изолированное сердце.

Авторы-составители:

кандидат биологических наук, старший преподаватель
кафедры охраны здоровья человека **Хабибрахманов И.И.**;

кандидат биологических наук, ассистент кафедры охраны
здоровья человека **Хисамиева Л.И.**;

доктор биологических наук, профессор кафедры охраны
здоровья человека **Зиятдинова Н.И.**;

доктор медицинских наук, профессор кафедры охраны
здоровья человека **Зефирова Т.Л.**;

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение	4
1. Строение и работа сердца	6
2. Условия работы изолированного сердца	9
3. Перфузионные растворы	9
4. Режимы циркуляции перфузионного раствора при перфузии изолированного сердца	12
5. Метод перфузии изолированного сердца по Лангендорфу	13
5.1. Исторические сведения о методе	13
5.2. Технология подготовки препарата работающего сердца по методу Лангендорф	15
5.3. Схема устройства для перфузии по Лангендорфу и принцип его работы	16
5.4. Общая схема установки для перфузии по Лангендорфу	17
5.5. Установка «Langendorff Systems» для перфузии изолированного сердца компании ADInstruments (Австралия)	18
5.6. Определяемые параметры перфузии и состояния изолированного сердца с помощью метода Лангендорфа	23
6. Метод перфузии изолированного сердца по Нилли	27
6.1. Исторические сведения	27
6.2. Принцип метода	27
6.3. Принципиальная схема установки для перфузии изолированного сердца методом Нилли	28
6.4. Технология подготовки препарата работающего сердца по методу Нилли	29
6.5. Определяемые параметры состояния изолированного миокарда с помощью метода Нилли	30
Заключение	31
Перечень использованных сокращений	32
Понятия и определения	32
Список литературы	33

Введение

Увеличение числа сердечно-сосудистых заболеваний, которые являются ведущими среди причин инвалидизации и смертности населения во всем мире является одной из острых проблем современной медицины [1, 2]. Широкая распространенность сердечно-сосудистой патологии обуславливает повышенное внимание к изучению патогенетических механизмов их развития и совершенствованию методов лечения и профилактики. Одним из способов оценки влияния неблагоприятных факторов и различных фармакологических воздействий на сердце является модель изолированного сердца. Эта модель позволяет детально исследовать физиологические и биохимические процессы в сердце, а также внешние воздействия на него в условиях отсутствия системных нейрогенных и гуморальных факторов. Таким образом, исследования, проводимые на изолированном сердце дают экспериментатору огромные возможности, которые отсутствуют при проведении опытов на сердце *in vivo*. Параметры перфузии изолированного сердца могут быть выбраны произвольно в зависимости от целей эксперимента. Особенности данной модели позволяют регулировать содержание кислорода в перфузионном растворе, концентрацию различных фармакологических агентов, компонентный состав перфузата и создавать ишемию миокарда, при которой не только полностью прекращается поступление кислорода и питательных субстратов к клеткам сердца, но и отток продуктов метаболизма. На этой модели существует возможность регистрации сократительной функции (давление, развиваемое левым желудочком, ЧСС) и уровня коронарного кровоснабжения (КП) сердца, исследования состава оттекающего перфузата и биохимических показателей самого миокарда, измерения концентрации кислорода. Это дает возможность обнаружить изменения биохимических процессов и сократительной функции, зависящих только от нарушений структуры и метаболизма миокарда.

Изолированное сердце – удобная модель для решения следующих задач:

- Доклинической оценки влияния новых лекарственных средств на сократительную способность и метаболизм миокарда, тонус коронарных сосудов, частоту сердечных сокращений и электрофизиологические параметры сердечной мышцы [3].

- Изучения морфологических изменений в миокарде при воздействии различных факторов с помощью световой и электронной микроскопии, иммуногистохимических исследований и других подходов [4].

- Изучения биохимических показателей миокарда и оттекающего от сердца перфузата в норме и при различных патологических процессах (ишемии-реперфузии, сахарном диабете и др. [3].

- Разработки методов защиты миокарда от ишемического и реперфузионного повреждения при моделировании тотальной или регионарной ишемии-реперфузии и изучения механизмов пре- и посткондиционирования миокарда, станнирования, гибернации [5, 6, 7, 8, 9, 10].

- Разработки способов консервации и хранения сердечного трансплантата с целью улучшения результатов трансплантации сердца [11].

- Исследования антиаритмической эффективности различных субстанций и тестирования наличия проаритмической активности лекарственных средств путем регистрации электрограммы и монофазного потенциала действия [12].

Модель изолированного миокарда должна обеспечивать поток перфузионного раствора через коронарные сосуды сердца и возможность регистрации изучаемых показателей жизнедеятельности миокарда.

Существует два способа перфузии изолированного сердца, принципиальным различием которых является способ подачи перфузата: в первом случае подача перфузионного раствора осуществляется ретроградно через аорту (метод Лангендорфа), во втором — через левое предсердие, что является физиологичным аналогом кровообращения (антеградный режим перфузии методом Нилли).

К сожалению, публикации, посвященные подробному описанию технического исполнения данных методов, в современной методической литературе представлены в весьма ограниченном количестве. Настоящее учебно-методическое пособие представляет собой структурированную информацию, сочетающую конкретное описание алгоритма действий с методическими рекомендациями при проведении перфузии изолированного сердца (исходя из имеющегося опыта авторов).

Заключение

Модель изолированного перфузируемого сердца широко применяется для фармакологических исследований [4]. При перфузии под постоянным давлением испытуемый препарат лучше всего добавлять в перфузионный раствор, находящийся в дополнительной колонке. В другом случае фармакологический агент можно доставлять напрямую в коронарные артерии, при этом сердце будет получать препарат в необходимой концентрации независимо от величины коронарного кровотока. В случае перфузии при постоянном объеме для введения препарата лучше использовать инфузomat, подключенный к аортальному контуру.

Модель изолированного сердца часто используется для моделирования ишемического и ишемически-реперфузионного повреждения миокарда и для оценки состояния сердца во время и после этих патологических процессов [3, 8]. Ишемия вызывается путем прекращения перфузии. При перфузии сердца постоянным объемом возможно создание неполной ишемии путем снижения объемной скорости перфузии.

Помимо ишемии, моделирование гипоксии возможно путем изменения степени оксигенации перфузионного раствора или уменьшения процентного содержания кислорода в газовой смеси, используемой для насыщения раствора кислородом [25].

Для исследования эффективности кардиоплегических растворов часто используется методика перфузии изолированного сердца [10, 23], причем введение кардиоплегического раствора в аорту является аналогом антеградной кардиopleгии.

Особенно следует отметить преимущество исследований на модели изолированного сердца различных физических факторов, например, температурного, ультразвукового воздействий [26]. Такие воздействия достаточно легко осуществить на изолированном сердце и крайне сложно в ситуации *in vivo* [23, 27].

В заключение следует отметить, что перфузия изолированного сердца – современная и инновационная методика, которую можно использовать во многих областях биологической науки. Она обеспечивает хорошо воспроизводимые измерения, образцы легко готовятся, исследования относительно дешевы даже при использовании большого количества животных и позволяют проводить широкий спектр физиологических, биохимических, фармакологических и морфологических измерений. Все измерения проводятся без учета влияния других органов и систем на работу сердечной мышцы.

Перечень использованных сокращений

КДД – конечное диастолическое давление

КФК - креатинфосфокиназа

ЛДГ - лактатдегидрогеназа

ЛЖ - левый желудочек

МСР – максимальная скорость расслабления

МСС - максимальная скорость сокращения

ПОЛ - перекисное окисление липидов

ЧСС - частота сердечных сокращений

Понятия и определения

Перфузия - пропускание крови или какого-либо раствора через сосуды изолированного или выключенного из общего круга кровообращения органа.

Тотальная ишемия - полное прекращение кровообращения с повреждением ткани и нарушением его функций.

Реперфузия - восстановление кровообращения после ишемии.

Сердечный выброс (мл/мин) - количество крови, выбрасываемое желудочком сердца в единицу времени.

Коронарный поток (мл/мин) - объем крови или перфузата, протекающий через коронарные артерии в единицу времени.

Частота сердечных сокращений (уд/мин) - число сокращений сердца в течение одной минуты.

Давление, развиваемое левым желудочком (мм рт.ст.) вычисляется как разница между систолическим и диастолическим давлением.

Максимальная скорость сокращения (мм рт.ст./сек) рассчитывается как максимум производной первого порядка от кривой развития давления в левом желудочке.

Список литературы:

1. Cheng J.W., Nayar M.A review of heart failure management in the elderly population // *Am J Geriatr Pharmacother* – 2009. – Vol. 7(5) - P. 233–249.
2. Оганов Р.Г. Ишемическая болезнь сердца/ Оганов Р.Г., Поздняков Ю.М., Волков В.С.// М.: Синергия, 2002. - С. 7-20.
3. Писаренко О.И. Модифицированная реперфузия уменьшает повреждения изолированного сердца крысы после ишемии / Писаренко О.И., Шульженко В.С., Студнева И.М., Тимошин А.А. // *Кардиологический вестник №1, Том II (XIV)-2007.* - С. 13.
4. Капелько В.И. Функциональные и структурные изменения миокарда в ранней стадии действия адриамицина / Капелько В.И., Лакомкин В.Л., Цыпленкова В.Г.// *Кардиологический вестник том I (XIII), № 2.* – 2006. С. 14-20.
5. Ramasamy R, H Liu, S Anderson, J Lundmark, and S Schaefer Ischemic preconditioning stimulates sodium and proton transport in isolated rat hearts *J Clin Invest.* -1995. –Vol. 96(3). –P. 1464–1472.
6. Penna, C. Myocardial protection from ischemic preconditioning is not blocked by sub-chronic inhibition of carnitine palmitoyltransferase I / C. Penna [et al] // *Life Sci.* - 2005. - Vol. 77(16). - P. 2004– 2017.
7. Белоярцев Ф.Ф. Оценка возможностей использования фторуглеродной кардиоopleгии для противоишемической защиты миокарда. / Белоярцев Ф.Ф., Кайдаш А.Н., Исламов Б.И., Маевский Е.И., Коккоз Ю.М., Фрейдин А.А., Образцов В.В. // *Вестник АМН СССР- 1986-№6-С. 37-43.*
8. Murry С.Е. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium / Murry С.Е., Jennings R.В., Reimer К.А.// *Circulation* 1986;5:1124-1136.
9. Ласукова Т.В., Л. Н. Маслов, А.С. Горбунов Агонисты опиоидных рецепторов имитируют феномен «ишемического прекоондиционирования» сердца: роль циклических нуклеотидов и Ca²⁺-АТФ-азы саркоплазматического ретикулума / Ласукова Т.В., Маслов Л.Н., Горбунов А.С. // *Вестник ТГПУ- 2010. -Выпуск 3(93) - С. 64-69.*
10. Marcengill M.В. Antioxidant effects of pyruvate in isolated rat hearts / Marcengill M.В., Puri S, Puri SK, Mohanram A, Leonova E, Raymond R.M., Watts J.A. // *J Mol Cell Cardiol.*- 1995. - Vol. 27(9). –P. 2059-67.
11. Интернет-ресурс:
<http://www.cardioprotect.spb.ru/langendorf/usersguide.pdf>
12. Интернет-ресурс: <http://www.mediasphera.ru/journals/detail/3688/>
13. Интернет-ресурс: <http://bio.1september.ru/articlef.php?ID=200102402>
14. Интернет-ресурс: http://medbook.medicina.ru/chapter.php?id_level=25
15. Krebs, H. A. Untersuchungen ueber die Harnstoffbildung im Tierkoerper / H. A. Krebs, K. Henseleit // *Hoppe Seylers Z. Physiol. Chem.* - 1932. - Vol. 210. - P. 33–36.
16. Интернет-ресурс:
<http://bigmeden.ru/article/%D0%A4%D0%B8%D0%B7%D0%B8%D0%BE%D0>

[%BB%D0%BE%D0%B3%D0%B8%D1%87%D0%B5%D1%81%D0%BA%D0%B8%D0%B5%D0%A0%D0%B0%D1%81%D1%82%D0%B2%D0%BE%D1%80%D1%8B.](#)

17. Гительзон И.И. Культура изолированных органов / Гительзон И.И., Нефедов В.П., Самойлов В.А. // Издательство «Наука», Ленинград, 1977 - С. 98-101.

18. Интернет-ресурс:

http://www.adinstruments.com/downloads/brochures/Working_Heart_Information_ru.pdf

19. Zimmer Heinz-Gerd The Isolated Perfused Heart and Its Pioneers // News in Physiological Sciences - August 1998 - Vol. 13, No. 4. - P. 203-210.

20. Langendorff, O. Untersuchungen am uberlebenden Saugetierherzen / O. Langendorff // Pflugers. Arch. - 1895. - Vol. 61. - P. 291–332

21. Минасян С.М. методика перфузии изолированного сердца крысы / Минасян С.М., Галагудза М.М., Сонин Д.Л, Боброва Е.А., Зверев Д.А, Королев Д.В., Дмитриев Ю.В. , Васильева М.С, Григорова Ю.Н., Власов Т.Д.// Регионарное кровообращение и микроциркуляция – 2009. - Т.8 №4(32) - С. 54-59.

22. Интернет-ресурс:<https://www.adinstruments.com/support/knowledge-base/how-are-parameters-blood-pressure-module-calculated#:~:text=IRP%20Average%20dP%2Fdt%3A%20The,used%20for%20estimation%20of%20tau.&text=Systolic%20Pressure%3A%20The%20maximum%20pressure%20during%20the%20cycle>.

23. Минасян С.М. Сравнительное исследование защитного эффекта гипотермии, ишемического прекодиционирования и модифицированных кардиоплегических растворов при ишемии-реперфузии изолированного сердца крысы / Минасян С.М., Бадриханова Л.Р., Галагудза М.М., Курапеев Д.И.// Регионарное кровообращение и микроциркуляция. - 2008. - Т. 7. - № 2(26). - С. 72-78.

24. N.Y., Methods of enzymatic analysis. Academic Press (H.U. Bergmeyer ed.). 1974; 1777–81.

25. Панин Л.Е. Влияние плазменных липопротенинов и адреналина на работоспособность изолированного сердца крыс / Панин Л.Е., Колпаков А.Р., Максимов В.Ф // БЮЛЛЕТЕНЬ СО РАМН - 2006 №1 (119).- С. 56-60.

26. Petrishchev N.N. Effect of Low-Frequency Low-Intensity Ultrasound on Contractile Function of Isolated Heart / Petrishchev N.N., Vlasov T.D., Galagudza M.M. and Makov Yu.N. //Bulletin of Experimental Biology and Medicine Volume 133(4) – P. 327-329.

27. Петрищев Н.Н. Частотнозависимые эффекты воздействия малоинтенсивного ультразвука на показатели работы изолированного сердца / Н.Н. Петрищев [и др.] // Бюлл. эксперимент. биологии и мед. - 2003. - Т. 136. - № 9. - С. 273–276.