

Модель работающего сердца

Введение

Для изучения работы различных органов исследователи часто используют модель изолированных органов, которая позволяет исследовать воздействия разнообразных внешних физических факторов, например, температуры, а также химических (лекарственных) субстанций и электрической стимуляции на физиологические функции.

История

Оскар Лангендорф разработал первый препарат *ex vivo* по изучению изолированного сердца млекопитающих в 1895 году. В качестве перфузионной жидкости (перфузата) использовалось дефибрилированная кровь животных того же вида. В этом подходе коронарные сосуды перфузируются в обратном направлении (т.е. ретроградно) через аорту. Перфузии через коронарные сосуды было достаточно для обеспечения длительных сердечных сокращений. Однако, вследствие того, что нормальные пути циркуляции через желудочки не задействованы, эта модель не позволяет получать физиологически значимые данные по показателям «давление-объем», которые наблюдаются в целостном организме. В целом, препарат Лангендорфа обеспечивает только общую информацию по сердечной функции и дает данные, ограниченные динамикой в коронарных артериях.

В последующем препарат Лангендорфа был улучшен, когда в 1967 году Говард Морган и Джеймс Нили разработали на его основе модель работающего сердца. В их экспериментах использовали крыс, а перфузат на основе крови был заменен модифицированным бикарбонатным буфером Кребса-Хенселейта, насыщенного смесью кислорода (95%) и двуокиси углерода (5%). Этот перфузат нагнетался в левое предсердие, а затем самим сердцем изгонялся в аорту. В отличие от препарата Лангендорфа, препарат работающего сердца (модель прокачки жидкости) обеспечивает более полный анализ функций сердца при воздействии разнообразных факторов. Он также является более предпочтительной моделью для оценки состояния желудочков. В дальнейшем этот препарат неоднократно модифицировали в соответствии с различными задачами лабораторий по всему миру.

Стоит отметить, что хотя препараты изолированного сердца обеспечивают сокращение сердца в течение нескольких часов, состояние сердца постоянно ухудшается в ходе эксперимента. Поэтому требуется тщательная подготовка для выполнения всех необходимых измерений в течение короткого времени.

Методика работающего сердца

Кратко опишем технологию по хирургической подготовке препарата работающего сердца:

1. На начальном этапе используется методика Лангендорфа, так как она обеспечивает самый простой способ для предотвращения ухудшения состояния сердца после его извлечения из тела животного. Вначале хирургически извлекаем сердце из тела животного вместе с легкими и легочными сосудами.
2. Далее находим аорту и вставляем в неё канюлю.
3. Подводим ретроградную перфузию через аорту для кровоснабжения сердца через коронарные артерии. Это обеспечивает стабильность сердечной функции и дополнительное время для подвода канюли через легочную вену (рис 1а).

4. Сердце должна начать автономно сокращаться.
5. Находим легочную вену и вставляем канюлю.
6. Остальные легочные сосуды перевязываем, а легкие удаляем.
7. Включаем перфузию через левое предсердие и выключаем ретроградную перфузию (её также можно переключить в режим гидростатической колонки). *Замечание:* перфузат должен подаваться со скоростью, превышающей сердечный выброс таким образом, чтобы обеспечить достаточное количество перфузионного раствора для подачи в само сердце.
8. На этом этапе перфузия сердца начинает осуществляться в нормальном направлении кровообращения (рис. 1б).

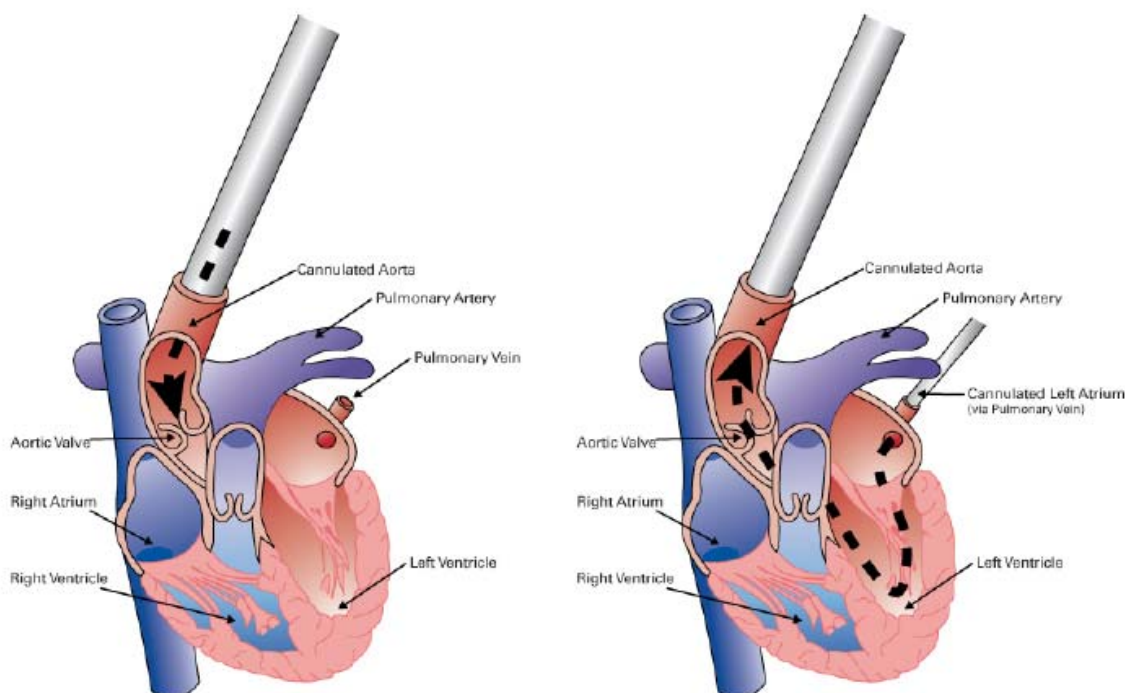


Рис 1. А) Слева показан препарат изолированного сердца по Лангендорфу, когда перфузат подается в ретроградном направлении через аорту и выходит через коронарные артерии. Б) Справа показан препарат работающего сердца, когда перфузат подается в левое предсердие и выгоняется из левого желудочка в аорту.

Базовая терминология

Преднагрузка (preload)

Преднагрузкой называют давление или объем в левом желудочке в конце диастолы. В модели работающего сердца, преднагрузка может быть представлена как давление, прикладываемое к предсердию для заполнения желудочка перфузатом. Это обеспечивает достаточно точную оценку давления внутри левого желудочка в конце диастолы, так как отверстие между предсердием и желудочком достаточно большое, а значит оказывает лишь минимальное сопротивление. Перфузионную жидкость, доставляемую в левое предсердие через катетер, обозначают как преднагрузочный поток.

Постнагрузка (afterload)

Под постнагрузкой понимают давление в артерии (аорте), в которую кровь или перфузат закачивается из желудочка. Эта величина отражает циркуляторное сопротивление кардиоваскулярной системы. В модели работающего сердца, аорта через вставленную в

неё канюлю подключена к гидростатической колонке с жидкостью. Так как количество жидкости в колонке можно регулировать, то это позволяет контролировать уровень постнагрузки, против которой сердце должно выкачивать жидкость. Изгоняемую сердцем жидкость можно оценивать как по изменениям давления, так и по объему потока.

Подобные измерения невозможны при использовании препарата Лангендорфа. Вследствие того, что в модели работающего сердца и левое предсердие и аорта канюлированы, то и предсердное давление (преднагрузка) и аортальное сопротивление (постнагрузка) могут быть изменены таким образом, что вызвать необходимые изменения систолического и диастолического давления, а также общей сердечной нагрузки.

Режимы работы

Изолированное сердце исследует либо в условиях постоянного потока либо постоянного давления перфузионной жидкости, каждое из которых имеет свои преимущества и недостатки.

Постоянный поток

В режиме постоянного потока, коронарный поток не меняется, даже если коронарные сосуды сузились или расширились. Следовательно, наблюдаемые изменения давления перфузата будут являться результатом какого-либо внешнего воздействия на сердце, например, фармакологических препаратов. Однако недостатком этого подхода является то, что при этом выключается авторегуляторный контроль самого сердца и количество перфузата, доставляемого ко всему сердцу, не меняется даже в условиях изменения частоты сердечных сокращений или при появлении региональной ишемии.

Постоянное давление

В этом режиме поддерживается постоянное давление перфузии и это давление не меняется даже при сужении или расширении коронарных сосудов. Следовательно, наблюдаемые изменения коронарного потока будут связаны с внешним воздействием или лекарствами. Перфузия с постоянным давлением не является идеальным вариантом в условиях, когда мал объем циркулирующей жидкости.

Режим без рециркуляции

В этом режиме перфузат протекает через сердце один раз и затем сливается.

Режим с рециркуляцией

После вставления канюль в сердце и начала перфузии, любая остаточная кровь и белки будут быстро выведены из него. Это приводит к тому, что со временем сердцем будет выталкиваться все более чистый перфузионный раствор. Этот перфузат можно собирать и возвращать в перфузионную систему для ре-оксигенации и повторной прокачки через сердце, т.е. проводить рециркуляцию. Однако, если рециркуляция продолжается 15-30 и более минут, то денатурированные белки, освобождаемые в сердце, будут постепенно накапливаться и блокировать сердечные сосуды и капилляры. Поэтому в этом режиме необходимо использовать специальные фильтры для удаления белков и продуктов их распада из перфузата.

Использование препаратов изолированного сердца в научных исследованиях

Препарат изолированного сердца по Лангендорфу и препарат работающего сердца являются двумя основными моделями при изучении изолированного перфузированного сердца. Из-за необходимости использования больших объемов перфузионной жидкости и неудобства крупногабаритного оборудования, сердца крупных животных (свиньи, обезьяны, овцы и собаки) редко используются в подобных препаратах. Сердца мелких лабораторных животных (кроликов, морских свинок, хомяков, крыс-песчанок, хорьков, крыс и мышей) используются чаще.

Последние достижения в методике генетических манипуляций и разработке моделей кардиоваскулярных болезней на трансгенных линиях мышей привели к увеличению запросов на системы, которые обеспечивают достоверную оценку кардиоваскулярной функции у этих видов. Хотя хронические записи *in vivo* и неинвазивные методики визуализации сердца на томографе для оценки кровотока являются чрезвычайно значимыми подходами, эксперименты с изолированным сердцем позволяют исследователю изучать функционирование сердца без системных влияний со стороны других физиологических процессов.

Исследования на изолированном сердце на мелких животных обеспечивают хорошо воспроизводимые измерения, быстро подготавливаются, относительно дешевы даже при использовании большого количества животных и позволяют проводить широкий спектр биохимических, физиологических, морфологических и фармакологических измерений. Эти измерения выполняются с исключением возможных эффектов воздействия на другие органы и общую систему циркуляции, а также различных периферических воздействий, таких как циркуляция нейрогормональных факторов. Эти исследования изолированного сердца также отключает его от воздействия симпатической и парасимпатической систем.

Модель изолированного сердца обеспечивает:

- Контролируемые исследования типа «концентрация фактора - ответ сердца» при добавлении в перфузат метаболических, гуморальных и фармакологических агентов
- Исследования по влиянию скорости реперфузии и реоксигенации, а также компонентного состава перфузата, при изучении гипоксии, ишемии и реперфузионных осложнений
- Различные датчики сокращения могут быть присоединены к изолированному сердцу для исследования сократительной функции, что обеспечивает информацию о систолическом и диастолическом давлении в левом желудочке, а также их производных параметров для оценки функции сердца по прокачке жидкости

Системы работающего сердца от ADInstruments/Radnoti

Компания Radnoti Glass Technology производит разнообразное оборудование из стекла более 30 лет и была одним из первых производителей подобного оборудования в области физиологии и фармакологии. Компания Radnoti производит сложнейшие, однако легко используемые, системы для экспериментов с изолированным сердцем и другими органами. Эти системы хорошо интегрированы с системами PowerLab для регистрации и анализа данных, что позволяет исследователю фокусироваться на научных задачах, а не на используемой технологии. Системы от Radnoti предоставляют:

- Международную репутацию как «золотой стандарт» в области изделий из стекла для исследователей в области физиологии и фармакологии
- Модульность систем позволяет легко чинить отдельные компоненты системы, а также улучшать всю установку путем использования новых моделей компонентов, без замены всей установки в целом
- Качество производства всех изделий гарантирует полную совместимость деталей разных лет выпуска

ADInstruments и Radnoti объединили свои усилия по созданию нескольких решений для исследования работающего сердца:

- ML870B55-V - Система работающего сердца для мышей
- ML880B56-V - Система работающего сердца (максимальная) для мышей
- ML870B50/X-V - Система работающего сердца для крыс и кроликов
- ML880B51/S-V - Система работающего сердца (максимальная) для крыс

Для всех этих систем может быть куплен специальный набор Pressure Gauge Kit для калибровки датчиков давления.

ML870B55-V Система работающего сердца для мышей

Эта система включает следующие компоненты:

- ML870 PowerLab 8/30 – 8-и канальная система регистрации и анализа, включая программы LabChart и Scope
- MLS260/7 LabChart Pro – дополнительные модули анализа биосигналов
- ML221 Bridge Amps (2 шт.) – мостиковые усилители
- MLT844 Physiological Pressure Transducer (2 шт.) - датчики давления
- ML312 T-type Pod – согласующее устройство для подключения датчиков температуры
- ML1401 T-type Implantable Thermocouple Probe – имплантируемые датчики температуры на основе термопар
- ML136 Animal Bio Amp – биоусилитель для животных
- MLA1210 Spring Clip Electrodes (3 шт.) – набор клипс-электродов
- MLAC17 Front-End Extension Cable Kit – набор кабелей
- SP2881 Transducer Bracket (2 шт.) – зажимы для датчиков
- 130101EZ-V Working Heart Apparatus for Mice – аппарат для работающего сердца мыши, включает водяную термобаню с системой циркуляции и перистальтический насос)



ML880B56-V Система работающего сердца (максимальная конфигурация) для мышей

Эта система включает следующие компоненты:

- ML880 PowerLab 16/30 – 16-и канальная система регистрации и анализа, включая программы LabChart и Scope
- MLS260/7 LabChart Pro – дополнительные модули анализа биосигналов
- ML221 Bridge Amps (2 шт.) – мостиковые усилители
- MLT844 Physiological Pressure Transducer (2 шт.) - датчики давления
- ML312 T-type Pod – согласующее устройство для подключения датчиков температуры
- ML1401 T-type Implantable Thermocouple Probe – имплантируемые датчики температуры на основе термопар
- ML136 Animal Bio Amp – биоусилитель для животных
- MLA1210 Spring Clip Electrodes (3 шт.) – набор клипс-электродов
- MLAC17 Front-End Extension Cable Kit – набор кабелей
- SP2881 Transducer Bracket (2 шт.) – зажимы для датчиков
- 130101EZ-V Working Heart Apparatus for Mice – аппарат для работающего сердца мыши, включает водяную термобаню с системой циркуляции и перистальтический насос)

А также:

- ML180 Stimulus Isolator – изолированное устройство для подачи электрических стимулов
- MLA260/L Simulator Cable – кабель подачи стимулов 2 м, заканчивается разъемом типа крокодил
- SP0139 Teflon Insulated Silver Wire (7.5 м) – провод, изолированный тефлоном
- ML165 pH Amplifier – усилитель для измерения pH
- MI-405 Miniature Glass Electrode for pH – миниатюрный стеклянный электрод для измерения pH
- MI-409 Miniature Reference Electrode – миниатюрный референтный электрод
- MLT1120 Micro-Oxygen Electrode – микроэлектрод измерения уровня кислорода
- MLT1122 Analog Adapter (for Micro-Oxygen Electrode) – адаптер аналоговый для подключения микроэлектрода измерения уровня кислорода
- T402-TT Two Channel Tubing Flowmeter – двухканальный датчик измерения потока
- ME1PXN PXN-Series Inline Flowprobe – 3.2 mm (2 шт.)
- SPR-671 Millar Pressure Catheter (1.1F) (2 шт.) – катетер для измерения давления
- AEC-10D Catheter Interface Cable – кабель для подключения катетера давления



ML870B50/X-V Система работающего сердца для крыс/кроликов

Эта система включает следующие компоненты:

- ML870 PowerLab 8/30 – 8-и канальная система регистрации и анализа, включая программы LabChart и Scope
- MLS260/7 LabChart Pro – дополнительные модули анализа биосигналов
- ML221 Bridge Amps (2 шт.) – мостиковые усилители
- MLT844 Physiological Pressure Transducer (2 шт.) - датчики давления
- ML312 T-type Pod – согласующее устройство для подключения датчиков температуры
- ML1401 T-type Implantable Thermocouple Probe – имплантируемые датчики температуры на основе термопар
- ML136 Animal Bio Amp – биоусилитель для животных
- MLA1210 Spring Clip Electrodes (3 шт.) – набор клипс-электродов
- MLAC17 Front-End Extension Cable Kit – набор кабелей
- SP2881 Transducer Bracket (2 шт.) – зажимы для датчиков
- 120101BEZ-V Working Heart Apparatus for Rats/Rabbits – аппарат для работающего сердца крыс/кроликов, также включает водяную термобаню с системой циркуляции и перистальтический насос)



Параметр X в названии системы обозначает тип животного. Для крыс и морских свинок он должен быть задан как S, для кошек и кроликов как M.

ML880B51/S-V Система работающего сердца (максимальная конфигурация) для крыс

Эта система включает следующие компоненты:

- ML880 PowerLab 16/30 – 16-и канальная система регистрации и анализа, включая программы LabChart и Scope
- MLS260/7 LabChart Pro – дополнительные модули анализа биосигналов
- ML221 Bridge Amps (2 шт.) – мостиковые усилители
- MLT844 Physiological Pressure Transducer (2 шт.) - датчики давления
- ML312 T-type Pod – согласующее устройство для подключения датчиков температуры
- ML1401 T-type Implantable Thermocouple Probe – имплантируемые датчики температуры на основе термопар

- ML136 Animal Bio Amp – биоусилитель для животных
- MLA1210 Spring Clip Electrodes (3 шт.) – набор клипс-электродов
- MLAC17 Front-End Extension Cable Kit – набор кабелей
- SP2881 Transducer Bracket (2 шт.) – зажимы для датчиков
- 120101BEZ-V Working Heart Apparatus for Rats/Rabbits – аппарат для работающего сердца крыс/кроликов, также включает водяную термобаню с системой циркуляции и перистальтический насос)

А также:

- ML180 Stimulus Isolator – изолированное устройство для подачи электрических стимулов
- MLA260/L Simulator Cable – кабель подачи стимулов 2 м, заканчивается разъемом типа крокодил
- SP0139 Teflon Insulated Silver Wire (7.5 м) – провод, изолированный тефлоном
- ML165 pH Amplifier – усилитель для измерения pH
- MI-405 Miniature Glass Electrode for pH – миниатюрный стеклянный электрод для измерения pH
- MI-409 Miniature Reference Electrode – миниатюрный референтный электрод
- MLT1120 Micro-Oxygen Electrode – микроэлектрод измерения уровня кислорода
- MLT1122 Analog Adapter (for Micro-Oxygen Electrode) – адаптер аналоговый для подключения микроэлектрода измерения уровня кислорода
- T402-TT Two Channel Tubing Flowmeter – двухканальный датчик измерения потока
- ME1PXN PXN-Series Inline Flowprobe – 3.2 mm (2 шт.)
- SPR-671 Millar Pressure Catheter (1.1F) (2 шт.) – катетер для измерения давления
- AEC-10D Catheter Interface Cable – кабель для подключения катетера давления
- MLAC16 BNC Extension Cable Kit – набор кабелей типа BNC
- 170403 Latex Balloon (размер 3 для крыс, 10 штук) – набор латексных баллонов
- 170423 Flexible Teflon Balloon Catheter (размер 3 и 4) – гибкий тефлоновый катетер для латексных баллонов



Таким образом, системы в максимальной комплектации включают 16-канальную систему регистрации вместо 8-канальной, а также приборы и датчики для измерения pH среды и уровня кислорода, потока жидкости по 2-м каналам, измерения давления в левом желудочке. Наличие развязывающего электростимулятора позволяет задавать частоту сердечных сокращений. Система для крыс в максимальной комплектации также включает латексные баллоны для измерения изовольюмного давления.

Измерения в препарате работающего сердца

Представленные системы позволяют измерить следующие параметры:

№	Параметр	Система			
		ML870B55	ML870B50	ML880B56	ML880B51
1	Давление в левом предсердии (преднагрузка) с помощью датчика давления MLT844	√	√	√	√
2	Давление в аорте (постнагрузка) с помощью датчика давления MLT844	√	√	√	√
3	Систолическое и диастолическое давление на основе аортального потока	√	√	√	√
4	Частота сердечных сокращений	√	√	√	√
5	Температура на основе имплантируемого термпарного датчика MT1401	√	√	√	√
6	Бифазный потенциал действия (поверхностная ЭКГ) с помощью электродов клипс MLA1210	√	√	√	√
7	Поток перфузата, поступающий в предсердие (Atrial Inflow), и поток, вытекающий через аорту (Aortic Outflow) с помощью 2-х канального флоуметра			√	√
8	Коронарный поток (Atrial Inflow- Aortic Outflow)			√	√
9	Ударный объем и сердечный выброс			√	√
10	Объем левого предсердия (расчетный параметр)			√	√
11	Давление в левом желудочке (LVP), измеряемое с помощью катетера давления SPR-671			√	√
12	Давление в левом желудочке в конце диастолы (LVEDP)			√	√
13	Скорость изменения давления в левом желудочке dP/dt (минимум и максимум)			√	√
14	Уровень pH, измеряемый с помощью миниатюрного датчика MI-405			√	√
15	Концентрация O ₂			√	√
16	Электрическая стимуляция для задания ритма			√	√
17	Измерения давления в левом желудочке в изовольюмном режиме				√
18	Сила сердечных сокращений (требуют дополнительного датчика силы)			√	√