



Langendorff İzole Perfüze Kalp Modeli ve Araştırmalarda Kullanım Alanları

Prof. Dr. Öner Süzer
Cerrahpaşa Tıp Fakültesi
Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji Anabilim Dalı
www.onersuzer.com

Konuşma planı

- Düzenegin tanıtılması
- Çalışma örnekleri
- Gerçek kayıtlarla veri ölçüm gösterisi

2

Langendorff kalp modeli

- İzole perfüze kalp preparatı ilk kez Oskar Langendorff isimli bir Alman doktoru tarafından tanımlanmıştır*.
- Bugüne kadar pek çok modifikasyona uğramış olan preparat fizyolojik, farmakolojik ve biyokimyasal araştırmalarda çok yaygın olarak kullanılmaktadır.
- Preparat en çok akut ilaç etkilerini araştırmak için kullanılsa da önceden belli bir uygulamaya tabi tutulmuş hayvanların kalplerindeki değişiklikler ve bu kalplere ilaçların akut etkileri de incelenebilmektedir.

*Langendorff O. Untersuchungen am Überlebenden Säugetierherzen. Pflügers Arch 61, 291, 1895

3

Preparatın hazırlanması I

- Assendan aort izole ve kanüle edilir.
- Buradan belli bir basınçla verilen perfüzyon sıvısı aort kapaklarını kapatır ve sıvı sol ventrikül içine gidemez ancak koroner arterleri perfüze eder.
- Perfüze daha sonra koroner sinüsten sağ atriya boşalır ve daha sonra anatomi intaktsa pulmoner arterlerden atılır.
- Langendorff preparatı bu yönüyle perfüze sol atriya boşaltıldığı ve koroner perfüzyonun kalbin kendi kasılma gücüyle gerçekleştiği çalışan kalp (working heart) preparatlarından ayrılır.

4

Preparatın hazırlanması II

- Yeterli el becerisiyle, kalbin izolasyonu ve perfüzyonu 60 saniyenin altında bir sürede gerçekleştirilebilir.
- Küçük hayvanlarda anestezi gerekli değildir. Dekapitasyon yapıldıktan sonra hızla sağ sternotomi ile toraks açılmalı ve kalpte herhangi bir mekanik hasar oluşturmadan assendan aorta izole edilip kalp soğuk perfüzyon solüsyonuna konulmalıdır.
- Kalbin atması soğuk solüsyon içinde durur ve perfüzyon için hazır bekletilen kanüle kolayca takılabilir.
- İplikler aortu kanüle sabitlemek için bağlandıktan sonra perfüzyona derhal başlanabilir.

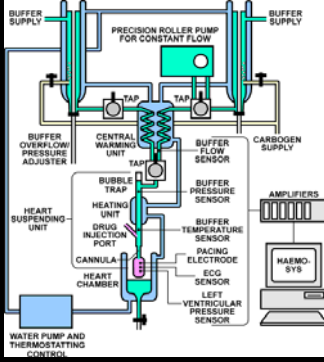
5

Preparatın hazırlanması III

- Perfüzyon sıvısı bir ısı sarmalı aracılığıyla ısıtılmış ve %95 O₂ + %5 CO₂ ile oksijenlendirilmiştir.
- Perfüzyon başladığı anda kanül içinde hava kabarcığı olmamasına dikkat edilmelidir; varsa kalp hafifçe sıkılarak hava uzaklaştırılmalıdır.
- Preparat kayıtlar için gerekli prosedür yerine getirildikten sonra cidarları ısıtılan bir kalp odacığı içine alınmalıdır. Bu şekilde preparatın termoregülasyonu daha hassas bir şekilde yapılmış ve kalbin dış cidarları kurumaya karşı korunmuş olur.

6

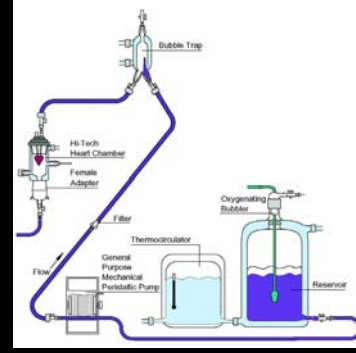
Langendorff düzeneği kuruluş şeması



7

<http://quantametrics.com>

Basitleştirilmiş şema



8

www.radnoti.com

Perfüzyon solüsyonunun hazırlanması

- Preparat genellikle modifiye Krebs veya Tyrode solüsyonları ile perfüze edilir.
- Preparatın iyi çalışması perfüzyon solüsyonunun kalitesine de bağlıdır.
- Solüsyon kesinlikle hiçbir partikül içermemelidir. Bunun için kaplar çok temiz olmalı, mümkünse deiyonize edilmiş distile su kullanılmalı ve solüsyon için en yüksek saflıkta tuzlar tercih edilmelidir.
- Çözelti hazırlanması bittikten sonra mutlaka uygun filtrelerle (örn. 5 µm) süzülmalıdır.

9

Sıçan kalbi için kullandığım modifiye Tyrode solüsyonu

NaCl	7.5 g/L
KCl	0.35 g/L
CaCl ₂	0.15 g/L
NaHCO ₃	1.7 g/L
NaH ₂ PO ₄	0.05 g/L
MgCl ₂	0.1 g/L
Glikoz	2 g/L

10

Tyrode solüsyonu için stok solüsyonlar

A solüsyonu

NaCl	150 g/L
KCl	7 g/L
CaCl ₂	3 g/L
MgCl ₂	2 g/L

B Solüsyonu

NaHCO ₃	34 g/L
NaH ₂ PO ₄	1 g/L

Hazırlama: 1 litre için 850 mL distile-deiyonize su alınır, 50 mL A alınır ve karıştırılır; karıştırılırken 50 mL B ilave edilir; daha sonra 2 g glikoz ilave edilir ve karıştırılır; en sonunda solüsyon 1 litreye tamamlanır.

11

Perfüzyon ve akımla ilişkili parametreler I

- Perfüzyon iki ayrı şekilde yapılabilir: **Sabit basınç veya sabit akım.**
- Sabit basınçla perfüzyonda koroner akımı, sabit akımla perfüzyonda da koroner perfüzyon basıncını kaydetmek mümkündür.
- Eğer yeterli basınç veya akımda perfüzyon yapılırsa preparatın viabilitesi açısından iki metodun birbirine üstünlüğü yoktur.
- Elde edilen parametreler (basınç veya akım) birbirleriyle ters orantılı oldukları için herhangi birinin ölçülmesi diğeri hakkında da fikir verir.

12

Perfüzyon ve akımla ilişkili parametreler II

- Bazı Langendorff sistemlerinde kullanılan perfüzyon sıvısı yeniden sirküle edilir.
- Kullanılmış perfüzyon sıvısı da pek çok biyokimyasal parametrenin ölçülebilmesi için bize fayda sağlar. Bunlardan en sık kullanılanları arasında LDH, CK, troponin T ölçümleri.
- pH, pO₂, pCO₂ gibi parametrelerin *online-realtime* ölçümü için modüller üretilmiştir.

13

Kasılma gücü ile ilişkili parametreler

- Sol ventrikül içine sol atrium yoluyla bir balon yerleştirilir.
- Balona belli bir basınç uygulanarak preload oluşturulur.
- Balon içinde oluşan basınç intraventriküler basıncı simüle eder.
- Yeni cihazlarda ultrasonik sensörlerle ventrikül boyutlarını, segment uzunluklarını ve duvar kalınlıklarını da ölçmek mümkündür.

14

Elektriksel parametreler

- Yerleştirilen iki elektrodla bipolar elektrogram kaydedilebilir.
- Elektrogram için metal veya suction elektrodlar kullanılır.
- Kalpten monofazik aksiyon potansiyelinin kaydı için özel cihazlar da üretilmiştir.
- Langendorff preparatında ritim ve hız değişikliklerinin deneyimizi etkilemesini istemiyorsak kalbi sağ atriya yerleştirilen iki elektrotla uyarabiliriz.
- Uygun izolasyon yöntemleri izlenirse, uyarı yapılması elektrogram kayıtlarının alınmasına engel değildir.

15

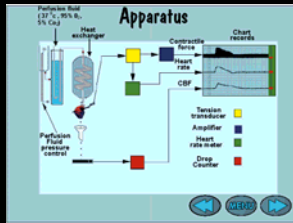
Ölçülen ve hesaplanan parametreler

- Pik sistolik basınç
- End diastolik basınç
- +dp/dt_{max}
- -dp/dt_{max}
- Slope indeks (+dp/dt_{max} / -dp/dt_{max})
- Kontraksiyon-zaman eğrisi altında kalan alan
- Kalp hızı
- Basınç hız çarpanı
- Sol ventrikül volümü
- Koroner rezistans
- Oksijen kullanımı
- Refrakter periyod.....

16

Langendorff heart simulation

- A computer simulation of experiments which may be performed on the isolated, perfused mammalian heart written by David Dewhurst and Malachy Doherty.
- This program is highly interactive and simulates experiments, which may be performed on the isolated perfused mammalian heart (Langendorff preparation)...



17

<http://www.coacs.com/PCCAL/order/forms/letter/bioscience.pdf>
<http://members.aol.com/Sheffbp/products/langndrf.htm>

Experimetria LF-01 P düzenegi



18

<http://quantametrics.com>

Experimetria LF-01 F-P düzeneği



19

<http://quantametrics.com>

Panlab s.l. düzeneği

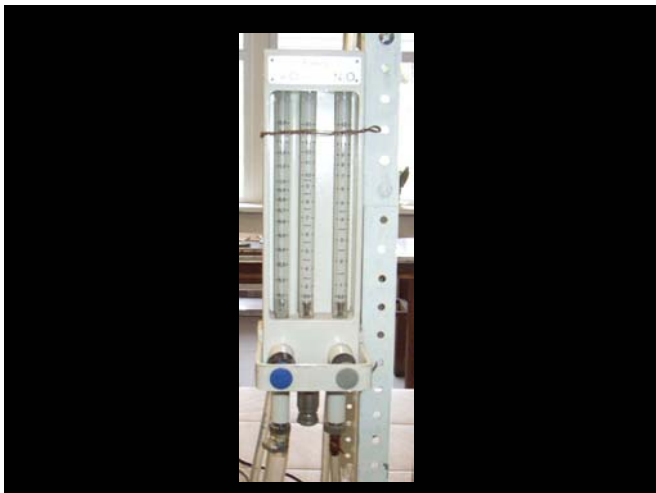


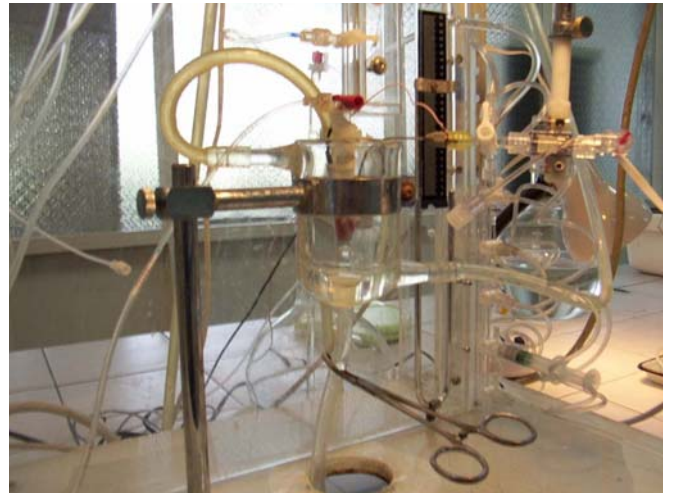
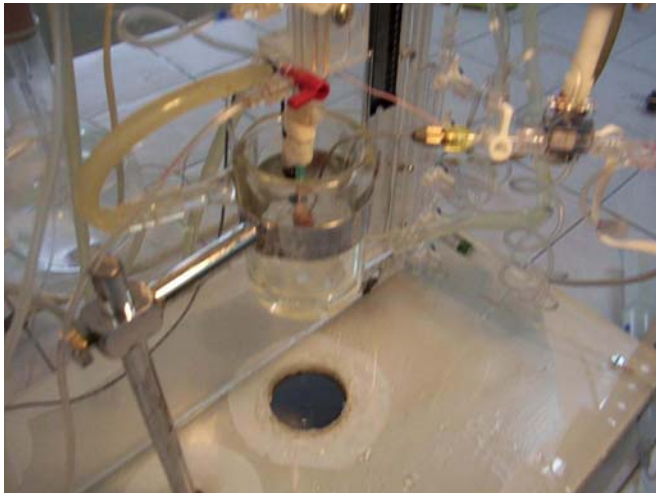
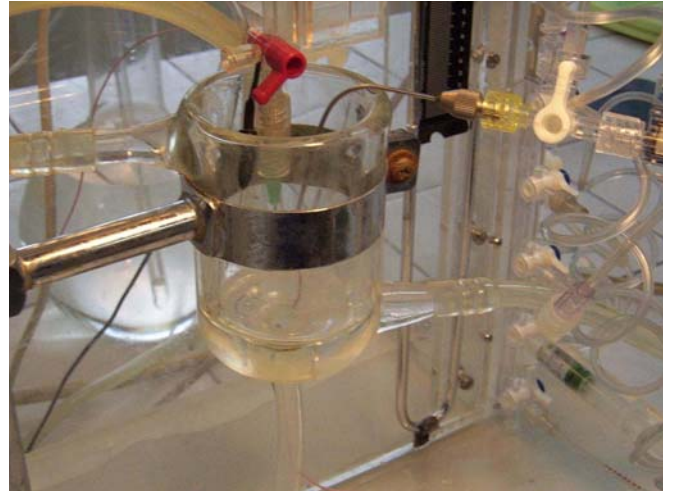
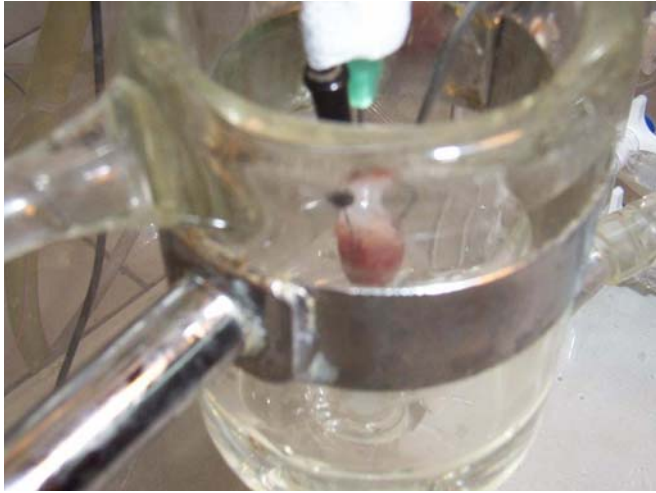
20

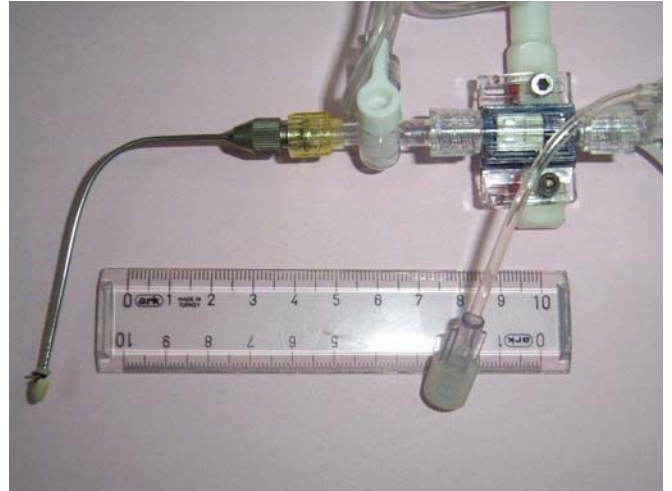
<http://www.panlab-sl.com>

Kendi düzeneđim









GRASS.
First and Still the Best!



Langendorff preparatını kullandığımız çalışma modeli örnekleri

- Bu başlık altında yaptığımız çalışma modellerinin her biri sistemin kullanımında kendine özgü değişiklikler gerektirdi.

43

Kalsiyum paradoksu

- Bu modeli incelediğimiz çalışmalarda kalbin belli bir süre kalsiyumsuz ortamda perfüze edilmesi gerekmektedir.
- Bu nedenle kalsiyumlu ve kalsiyumsuz solüsyonların hiçbir şekilde birbirleriyle karışmamaları için özen gerekmektedir.
- Ayrıca, kalsiyumsuz ortamın yaratılması gereken bölgeler deiyonize suyla temizlenmeli ve bununla yetinilmeyerek kalsiyum bağlayıcı şelat olan EGTA kullanılmalıdır.

44

İskemi-reperfüzyon

- Bu modelde sabit akımlı sistemler, koroner akımı istediğimiz değerlerde uygulamamızı sağladıkları için tercih edilmelidirler.

45

Kalp koruması-kardiyopleji

- Bu model, açık kalp cerrahisinde ve kalp transplantasyonunda total global iskemide geçen süreyi simüle etmek için kullanılmıştır.
- Bu modelin pratik olarak uygulanabilmesi için her izole edilen kalp için ayrı kanüller kullanılmalı ve kalpler koruyucu solüsyon içine kanüllerinden çıkartılmadan konulmalıdır.

46

Hipoksi

- Bu modelde hipoksinin sağlanacağı kolondaki oksijen konsantrasyonunun standartlaştırılması için bir ön çalışma gerekmektedir.

47

Aritmi

- Burada en önemli nokta elektrogram kayıtlarının artifaktsız çok net bir şekilde alınmasıdır.
- Ventrikül ve atrium kayıtlarının ayrı ayrı eşzamanlı olarak alınması aritmilerin tanımlanmasında kolaylık sağlar.
- Elektrogram kayıtları yapılırken kalp odacığının içinin perfüzyon sıvısıyla dolu olması daha düzgün kayıtlar almamızı, kaydın kullanılmış perfüzyonun damlalarından etkilenmemesini sağlar.

48

Doz-cevap eğrileri

- Herhangi bir maddenin izole kalpte ölçülen parametreler üzerine doza bağımlı etkilerinin incelenmesi için çok kolonlu Langendorff düzeneğinin hazırlanması kolaylık sağlamıştır.
- Bunun dışında doz-cevap eğrilerini almak istediğimiz madde infüzyon pompası ile perfüzyon sıvısı içine enjekte edilebilir veya gazlar perfüzyon sıvısı içinde eritilebilir.

49

Yapılabilecek başka çalışmalar....

Sonuç

- Langendorff, izole kalpte akut deneyler yapmamızı ve pek çok parametreyi aynı anda ölçümümüzü sağlayan kullanışlı bir preparattır.
- Çalışmadan istenen şartlara göre modifiye edilebilir.
- Sistem laboratuvarımız imkanlarıyla kurulabileceği gibi oldukça pahalıya mal olan hazır sistemler şeklinde de satılmaktadır.

51

Çalışmalarımdan örnekler

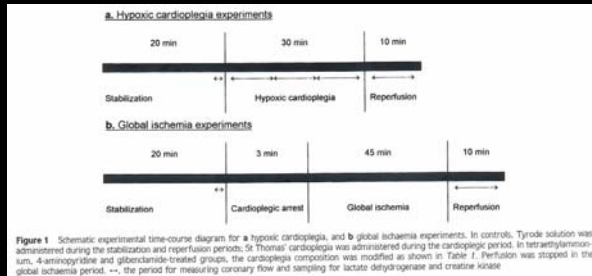


Figure 1 Schematic experimental time-course diagram for a hypoxic cardioplegia, and b global ischemia experiments. In controls, Tyrode solution was administered during the stabilization and reperfusion periods. In tetraethylammonium, 4-aminopyridine and glibenclamide-treated groups, the cardioplegia composition was modified as shown in Table 1. Perfusion was stopped in the global ischemia period. —, the period for measuring coronary flow and sampling for lactate dehydrogenase and creatine kinase.

K Bozkurt, Ö Süzer, M Kaynar. Cardiovasc Surg, Vol 5(1): 117-124, 1997

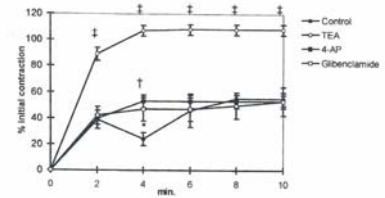


Figure 2 Percentage of initial contraction during reperfusion in hypoxic cardioplegia experiments. (* P<0.05, † P<0.01, ‡ P<0.001 versus simultaneous control group values determined by Scheffé's procedure)

K Bozkurt, Ö Süzer, M Kaynar. Cardiovasc Surg, Vol 5(1): 117-124, 1997

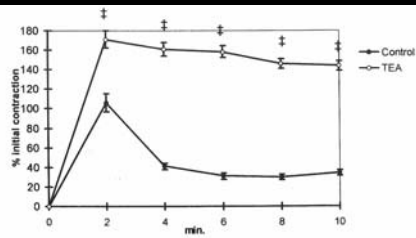
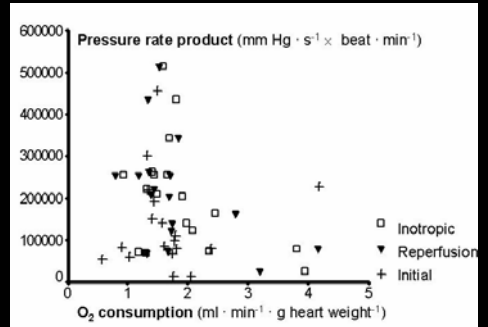
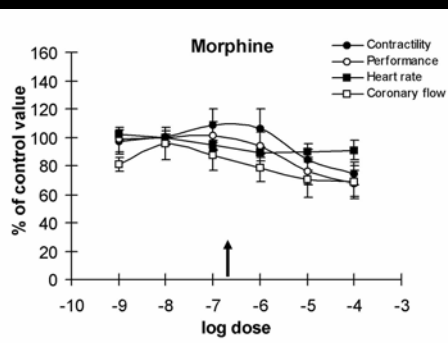


Figure 3 Percentage of initial contraction in the reperfusion period in global ischaemia experiments (\pm P<0.001 versus control group)

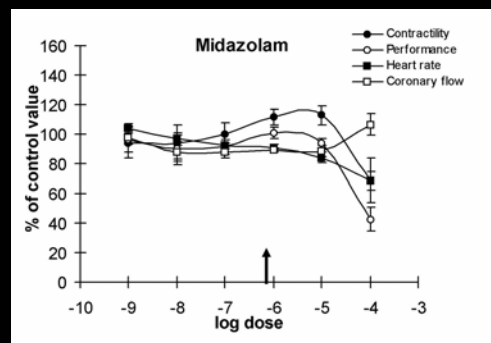
K Bozkurt, Ö Süzer, M Kaynar. *Cardiovasc Surg*, Vol 5(1): 117-124, 1997



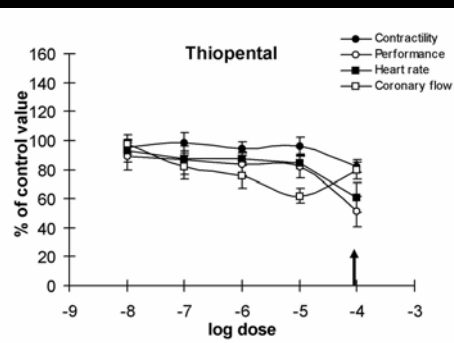
Ö Süzer et. al *BJA* 80(suppl. 2): A35, 1998.



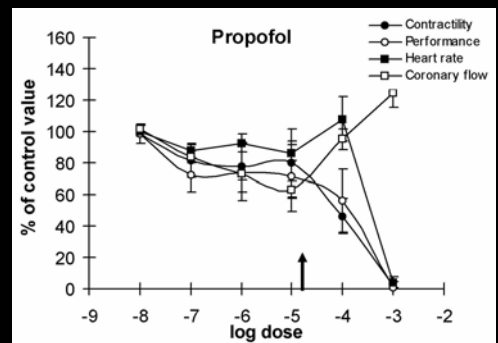
Ö Süzer et al. *EJA* 15(4): 480-485, 1998



Ö Süzer et al. *EJA* 15(4): 480-485, 1998



Ö Süzer et al. *EJA* 15(4): 480-485, 1998



Ö Süzer et al. *EJA* 15(4): 480-485, 1998

Table 1
The incidences (%) per min basis of VPB, bigeminy, salvo, VF, VT and atrioventricular conduction abnormality (AV cond.) in total ischemia-reperfusion experiments

	VPB			Bigeminy			Salvo			VT			VF			AV cond.			
	C ₁	M ₁	T ₁	C ₁	M ₁	T ₁	C ₁	M ₁	T ₁	C ₁	M ₁	T ₁	C ₁	M ₁	T ₁	C ₁	M ₁	T ₁	
Initial	0	5	5	n.s.	0	0	5	n.s.	0	0	5	n.s.	0	0	0	n.s.	0	0	0
Reperfusion	40	40	40	*	25	30	25	n.s.	30	30	30	n.s.	30	30	30	n.s.	0	0	5
5th min	25	15	45	**	5	15	n.s.	n.s.	5	15	n.s.	n.s.	0	5	15	n.s.	0	0	5
10th min	25	15	45	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

n.s. = not significant, *P < 0.05, **P < 0.01 and ***P < 0.001 when placed at the right of the rows are Kruskal-Wallis non-parametric ANOVA results of simultaneous groups, and when placed under columns are Friedman non-parametric repeated measures test results of one particular group for the related parameter.

	VPB			
	C ₁	M ₁	T ₁	
Initial	0	5	5	n.s.
Reperfusion	45	45	80	*
5th min	25	15	65	**
10th min	**	**	***	

Ö Süzer et al. Pharm Res 37(6): 461-468, 1998

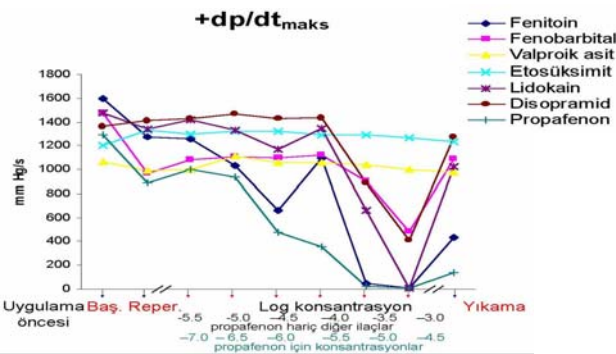
Table 11
Number of ventricular premature beats per min values in total (panel A) and low-flow (panel B) ischemia-reperfusion experiments

	C ₁			M ₁			T ₁			n.s.
	C ₁	M ₁	T ₁	C ₁	M ₁	T ₁	C ₁	M ₁	T ₁	
Initial	0.0 ± 0.0	2.4 ± 2.4	0.2 ± 0.2	n.s.						
Reperfusion	21.9 ± 7.0	2.7 ± 2.0	20.9 ± 12.2	**						
5th min	27.7 ± 14.6	0.7 ± 0.4	23.7 ± 12.5	**						
10th min	n.s.	n.s.	n.s.							

	C ₂			M ₂			T ₂			n.s.
	C ₂	M ₂	T ₂	C ₂	M ₂	T ₂	C ₂	M ₂	T ₂	
Initial	0.0 ± 0.0	1.6 ± 1.1	3.0 ± 1.7	n.s.						
Mild ich.	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.1	n.s.						
5th min	1.8 ± 1.5	0.1 ± 0.1	2.2 ± 2.2	n.s.						
10th min	0.4 ± 0.3	0.0 ± 0.0	1.7 ± 1.0	*						
Severe ich.	0.3 ± 0.2	0.0 ± 0.0	1.4 ± 1.0	*						
Reperfusion	6.3 ± 3.3	1.8 ± 1.4	27.6 ± 15.7	n.s.						
5th min	2.8 ± 2.4	6.0 ± 4.0	27.2 ± 17.2	n.s.						
10th min	n.s.	n.s.	n.s.							

n.s. = not significant, *P < 0.05, **P < 0.01 and ***P < 0.001 when placed at the right of the rows are Kruskal-Wallis non-parametric ANOVA results of simultaneous groups, and when placed under columns are Friedman non-parametric repeated measures test results of one particular group for the related parameter.

Ö Süzer et al. Pharm Res 37(6): 461-468, 1998



N Gürsoy. Uzmanlık Tezi, İÜ 2003

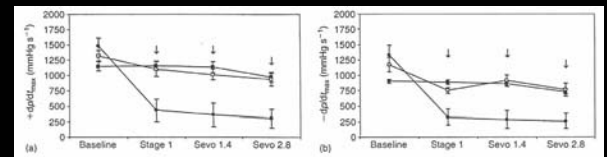


Figure 1. Contractility: contraction and relaxation. Changes in (a) contraction (+dp/dt_{max}); (b) relaxation (-dp/dt_{max}). ■: Sevoflurane; □: B5; ●: B10. *Statistical significance with ANOVA repeated measurements. Data are the mean ± SEM. ↓: Statistical significance with one-way ANOVA (comparison between groups (P < 0.05); n = 10 for each group).

P Bozkurt, Ö Süzer et al. EJA 20: 199-204, 2003

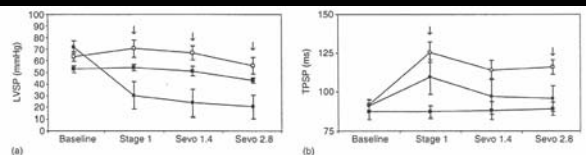


Figure 2. Contractility: left ventricular systolic pressure (LVSP) and time to reach systolic pressure (TPSP). Changes in (a) left ventricular systolic pressure; (b) time to reach systolic pressure. ■: Sevoflurane; □: B5; ●: B10. *Statistical significance with ANOVA repeated measurements. Data are the mean ± SEM. ↓: Statistical significance with one-way ANOVA (comparison between groups (P < 0.05); n = 10 for each group).

P Bozkurt, Ö Süzer et al. EJA 20: 199-204, 2003

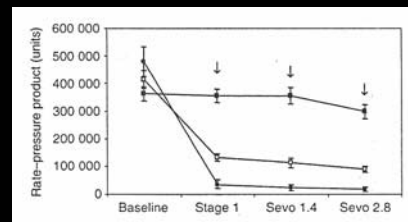


Figure 3. Myocardial function: changes in rate-pressure product. ■: Sevoflurane; □: B5; ●: B10. *Statistical significance with ANOVA repeated measurements. Data are the mean ± SEM. ↓: Statistical significance with one-way ANOVA (comparison between groups (P < 0.05); n = 10 for each group).

P Bozkurt, Ö Süzer et al. EJA 20: 199-204, 2003

Teşekkürler

- Kürşat Bozkurt
- Cengiz Köksal
- Murat Kaynar
- Sabahat Köseođlu
- Vildan Şenses
- Asuman Süzer
- Pervin Bozkurt
- Gülay Han
- Nilüfer Gürsoy
- Gülay Öner
- Çiğdem Usul