

CAPITOLUL 4

EFECTELE IONILOR, MEDIATORILOR CHIMICI, pH-ULUI, TEMPERATURII ȘI A UNOR SUBSTANȚE FARMACOLOGICE ASUPRA CORDULUI IZOLAT

Aspecte teoretice. Proprietățile fundamentale ale cordului pot fi modulate de o serie de „agenți cardioactivi” și anume: diverși ioni (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+}); mediatorii chimici ai sistemului nervos vegetativ *simpatic* (adrenalina, noradrenalina) și *parasimpatic* (acetilcolina); pH-ul mediului extra și intracelular; diferite substanțe cu acțiune farmacologică.

Pentru studiul acțiunii acestor agenți asupra inimii este necesar ca aceasta să fie scoasă din organism (cord izolat) și să fie menținută în activitate pentru mai multe ore, la parametri cât mai apropiați de cei fiziologici.

- Modelul experimental de inimă izolată imaginat de Oskar Langendorff în 1895 a permis studiul proprietăților fundamentale ale cordului și modul în care aceste proprietăți sunt influențate de adausul în lichidul de perfuzie a unor substanțe, precum și de variațiile de pH sau de temperatură.
- Tehnica Langendorff prezintă avantajul utilizării cordului de mamifer, tetracameră și cu circulație coronariană. Animalele de experiență cele mai utilizate sunt: șobolanul, iepurele și câinele. Spre deosebire de modelul de cord izolat de broască care poate funcționa chiar și 30 ore, cordul izolat de mamifer are parametri de funcționare constanți pentru o durată de numai 3-4 ore.
- În modelul Langendorff, inima este scoasă din organism și conectată la un perfuzor (la nivelul aortei) prin care circulă o soluție de perfuzare încălzită și oxigenată, la o presiune constantă de 60 mm Hg, care menține cordul viabil. Soluția de perfuzie va închide sigmoidele aortice și va trece prin arterele coronare, hrănind miocardul. Tot prin acest perfuzor se vor administra *diferiți modulatori farmacologici*. În ventriculul stâng (prin valva mitrală) se introduce un transductor de presiune. Acesta transformă modificările de presiune în forță de contracție izometrică.

4.1. Efectul ionilor asupra proprietăților fundamentale ale cordului

Ionul de Na^+

- Concentrația extracelulară a Na^+ este de $140 \pm 5 \text{ mmol/L}$ ($140 \pm 5 \text{ mEq/L}$), iar cea intracelulară este de aproximativ 10 mmol/L .
- În organism, Na^+ -ul participă la realizarea depolarizării lente diastolice la nivelul nodulilor de automatism, la producerea potențialului de acțiune (faza 0) la nivelul fibrei miocardice contractile și la toate celulele excitabile, la menținerea osmolarității mediului intern, la realizarea echilibrului hidric și la reglarea echilibrului acido-bazic.
- Deși este atât de important pentru fiziologia inimii, efectele scăderii sau creșterii concentrației Na^+ -ul sunt minime asupra cordului *in situ*; de exemplu, doar scăderea marcată a concentrației extracelulare a Na^+ -ului sub 30% din valoarea normală produce blocarea activității nodulului sinusal – **efect cronotrop negativ**.



Reamintiți-vă din anul I

Rolul sodiului în generarea și menținerea osmolarității mediului intern și în deplasarea apei între diversele compartimente ale acestuia.

Ionul de K^+

- Concentrația K^+ în mediul extracelular sau potasemia este de **3-5 mmol/L (3-5 mEq/L)**, iar concentrația sa intracelulară este de cca. **138 mmol/L**.
- În organism, K^+ -ul participă la generarea potențialului de repaus, la repolarizarea miocardului și a altor celule excitabile și la producerea depolarizării lente diastolice de la nivelul centrilor de automatism.

- **Creșterea concentrației K^+ -ului extracelular:**

- limita superioară critică este considerată a fi $> 6,5$ mmol/L. La aceste valori, K^+ -ul are efecte *deprimante asupra tuturor proprietăților fundamentale ale miocardului*;
- la valori ale potasemiei $> 8,5$ mmol/L, cordul se oprește în diastolă, fenomen cunoscut sub numele de ***inhibitio potassica***.

Detaliat, creșterea concentrației K^+ extracelular produce:

- deprimarea automatismului (efect cronotrop negativ), exprimat prin ***scăderea frecvenței cardiace***;
 - efectul devine pregnant la concentrații ale K^+ extracelular peste 8 mmol/L și se datorează creșterii permeabilității membranei celulelor pacemaker pentru K^+ .
 K^+ -ul iese mai rapid din celulă, se depune pe suprafața externă a membranei și prin surplusul de sarcini pozitive produce hiperpolarizarea membranei, care devine hipoexcitabilă.
- deprimarea dromotropismului (efect dromotrop negativ) - efectul se manifestă la concentrații ale K^+ extracelular peste 6,5 mmol/L și se datorează aceluiași fenomen de hiperpolarizare a membranei. Se exprimă prin ***scăderea vitezei de conducere*** a stimulilor, cu posibilitatea apariției tulburărilor de conducere;
- deprimarea contractilității (efect inotrop negativ) se datorează tot creșterii conductanței (efluxului) pentru K^+ , ceea ce determină scurtarea perioadei de platou a potențialului de acțiune și scăderea cantității de Ca^{2+} care intră în celulele miocardului contractil, în cursul sistolei. Se exprimă prin ***scăderea forței de contracție***;
- scăderea tonusului miocardic (efect tonotrop negativ) – în hiperpotasemie, cordul devine dilatat și flasc;
- tulburări de ritm cardiac – hiperpotasemia determină apariția de extrasistole ventriculare și fibrilație ventriculară.

Concentrația potasiului poate crește în mai multe situații patologice:

- Scăderea eliminării renale ca urmare a insuficienței renale acute sau cronice, tratament cu antidiuretice care economisesc potasiul, ca spironolactona.
- Aport crescut – administrare excesivă de potasiu în bolile cardiace, transfuzii de sange, consum de fructe cu conținut mare de potasiu (banane).
- Eliberarea de potasiu din celulele distruse în cursul unor traumatisme, arsuri sau necroze tisulare

- **Scăderea concentrației de K^+ extracelular (hipopotasemia) produce:**
 - stimularea ușoară a automatismului prin accelerarea vitezei de depolarizare lentă diastolică; la scăderi severe, această funcție este deprimată;
 - deprimarea dromotropismului, mai ales la nivelul nodulului atrioventricular, ceea ce determină apariția de fenomene de bloc atrioventricular de diferite grade; efectul se datorează alungirii potențialului de acțiune, prin scăderea permeabilității sarcolemale pentru K^+ ;
 - creșterea ușoară a tonusului miocardului;
 - tulburări de ritm cardiac care constau în tahicardie, extrasistole atriale și ventriculare.

Cauze de hipopotasemie:

- Scăderea aportului sau eliminări mari de potasiu prin vărsături, diaree, transpirație sau pe cale renală, inclusiv prin administrarea de diuretice care favorizează eliminarea acestui cation etc.

Ionul de Ca^{2+}

- Concentrația Ca^{2+} -ului în mediul extracelular sau calcemia sau calciul seric este de **8,5–11 mg/dL**; pentru calciul ionic, concentrația este de **2–2,5 mmol/L (4-5 mEq/L)**, iar concentrația sa intracelulară este foarte mică, de cca $10^{-8}M$.
- În organism, calciul realizează cuplarea excitației cu contracția, modulează contractilitatea miocardică, participă, împreună cu Na^+ la realizarea curentului lent de depolarizare lentă diastolică din nodulii de automatism, participă la transducția semnalului prin membrana celulară ca urmare a rolului de mesager secund; face parte din structura oaselor și dinților, este indispensabil pentru hemostază și pentru coagularea laptelui etc.
- **Creșterea concentrației Ca^{2+} -ului extracelular** peste un anumit nivel: aproximativ 3 mmol/L sau 6 mEq/L) produce următoarele efecte:
 - creșterea forței de contracție prin creșterea concentrației Ca^{2+} liber intracitoplasmatic (efect inotrop pozitiv); actualmente acțiunea majorității agenților cardioactivi asupra contractilității se explică prin modificarea concentrației Ca^{2+} intracelular;
 - scăderea duratei potențialului de acțiune, pe seama perioadei de platou, prin creșterea fluxului transmembranar de Ca^{2+} ;
 - creșterea tonusului miocardului;
 - la concentrații foarte mari ale Ca^{2+} extracelular se produce **oprirea cordului în sistolă**, fenomen cunoscut sub numele de **rigor calcis**.

Hipercalcemia apare în hiperparatiroidism, boli ale glandelor suprarenale, hipertiroidism, insuficiență renală, excesul de vitamina D etc..

- **Scăderea concentrației de Ca^{2+} extracelular** produce:
 - creșterea frecvenței de descărcare a nodulului sinusal; efectul devine evident când calcemia scade la 1/10 din valoarea sa normală și se datorează accelerării vitezei de depolarizare lentă diastolică; se exprimă prin **creșterea frecvenței cardiace**;
 - scăderea contractilității miocardice (efect inotrop negativ); la concentrații foarte scăzute ale Ca^{2+} extracelular activitatea mecanică a cordului dispare, deși activitatea sa electrică persistă (fenomenul de disociere electro-mecanică).
 - creșterea duratei potențialului de acțiune a miocardului contractil, datorită alungirii perioadei de platou (canalele lente de Ca^{2+} stau deschise mai mult).

Hipocalcemia se datorează hipoparatiroidismului, hipomagnezemiei, creșterii concentrației de fosfați (mai ales prin consumul mare de băuturi carbogazoase, care conțin cantități mari de acid ortofosforic), aportului insuficient, deficitului de vitamină D.

4.2. Efectul pH –ului asupra proprietăților miocardului

- Denumirea de pH semnifică puterea ionilor de hidrogen, iar ca definiție reprezintă logaritmul cu sens invers, în baza 10 al concentrației ionilor de H^+
- Valori normale ale pH-ului: 7,38 – 7,42; scăderea < 7,38 se numește acidoză; creșterea >7,42 se numește alcaloză
- Valoarea pH-ului mediului intern influențează toate reacțiile din organism, deoarece Ionii de H^+ în exces sau în minus pot accelera sau încetini aceste reacții prin modificarea încărcăturii electrice și a proprietăților proteinelor.
 - acidoza extracelulară (pH<7,38) are efecte deprimante asupra miocardului, asemănătoare cu cele apărute după administrarea de KCl; de altfel, acidoza intensifică efectele cardiace ale hiperpotasemiei.
 - alcaloza extracelulară (pH>7,42) determină stimularea contractilității și deprimarea automatismului.

4.3. Efectul temperaturii mediului de perfuzie asupra proprietăților miocardului

- creșterea temperaturii induce creșterea frecvenței cardiace.
- scăderea temperaturii deprimă automatismul; aceste efecte se datorează modificării permeabilității sarcolemale pentru ioni.

LUCRAREA PRACTICĂ

Efectele ionilor, pH-ului și temperaturii asupra proprietăților miocardului

Obiectivele lucrării

- evidențierea acțiunii ionilor de Ca^{2+} și K^+ , ale pH-ului acid și alcalin și ale temperaturii asupra cordului de broască izolat.
- desenarea graficelor rezultate și explicarea acestora.

Materiale necesare:

- Pentru **experimentul simulat**: computer și programul de fiziologie virtuală, același ca pentru ligaturi și cardiografia Marey.

Tehnica de lucru

- Se urmează aceiași pași ca la lucrarea “Ligaturile lui Stannius”, dar acum, din meniu se alege lucrarea “Efectul ionilor”. În experimentul pe cord *in situ*, după fiecare administrare se face spălarea inimii pentru îndepărtarea substanței care s-a adăugat înainte.

Rezultate – interpretare

- administrarea unei soluții de $CaCl_2$ (care simulează creșterea Ca^{2+} -ului extracelular) **determină creșterea forței de contracție**, exprimată pe grafic prin creșterea amplitudinii; Administrarea unor cantități mari de $CaCl_2$ produce oprirea cordului în sistolă -fenomenul de **rigor-calcis**.
- administrarea unei soluții de oxalat de amoniu, care chelează ionii de Ca^{2+} (simulează hipocalcemia) este urmată de scăderea forței de contracție;

- după administrarea unei soluții de KCl (care simulează hiperpotasemia) se observă **scăderea frecvenței și a amplitudinii contracțiilor** (scade forța), iar *inima devine flască și dilatăată*;
La administrarea unor cantități mai mari de KCl, inima se oprește în diastolă, fenomenul de **inhibiție potasica**. Efectele administrării KCl pot fi contracarate prin administrarea de CaCl_2 ;
- după administrarea a câtorva picături de soluție de HCl (pH acid) se observă **scăderea amplitudinii și frecvenței de contracție a cordului**, efect similar cu cel apărut după administrarea de soluție KCl.
- dacă se administrează o soluție de NaOH (pH alcalin) se observă **scăderea frecvenței și creșterea forței de contracție**, efect similar cu cel apărut după administrarea de CaCl_2 .
- **modificarea temperaturii mediului de perfuzie** – perfuzia cordului cu soluție Ringer rece ($+4^\circ\text{C}$) determină **bradicardie și scăderea forței de contracție**, pe când perfuzia cordului cu soluție Ringer caldă ($+25^\circ\text{C}$) determină **tahicardie și creșterea forței de contracție**.

4.4. Studiul efectelor mediatorilor chimici și a unor substanțe cu acțiune farmacologică asupra proprietăților miocardului, cu programul de simulare SimHEART

Programul de fiziologie virtuală SimHEART este o alternativă la experimentul clasic Langendorff efectuat pe animal. SimHEART este de fapt un laborator virtual care reproduce pe calculator componentele și etapele de lucru din modelului experimental.

Programul simulează proprietățile vitale ale unei inimi izolate de șobolan, după modelul Langendorff, reproducând astfel comportamentul fiziologic al inimii *in situ*.

Obiectivul acestor experimente este *evidențierea efectelor pe care diferiți mediatorii chimici sau substanțe cu acțiune farmacologică le au asupra proprietăților fundamentale ale inimii*.

Principiul lucrării.

Transductorul plasat în ventriculul stâng convertește modificările de presiune generate de contracțiile cardiace în semnale electrice, care sunt amplificate și redată grafic sub forma unei **cardiomecanograme**. Analiza parametrilor **cardiomecanogramei** permite evidențierea efectelor pe care mediatorii chimici ai sistemului nervos simpatic și parasimpatic, precum și diverse substanțe cardioactive le au asupra proprietăților miocardului.

Parametrii înregistrați în cursul experimentului. Analiza traseului obținut se face cu ajutorul parametrilor:

- *Frecvență (numărul de contracții cardiace/minut)*
- *Amplitudine: 1 mV/div. = 2 mmHg; 5 mV/div = 10 mmHg/div.*
- *Poziția față de linia diastolică.*

Variația acestor parametri față de valorile inițiale, de referință permite *evaluarea efectelor diverselor substanțe asupra proprietăților inimii*.

Variațiile de frecvență – ne dau relații despre efectele substanțelor folosite asupra funcțiilor: cronotrope, batmotrope și dromotrope:

- creșterea frecvenței - efect cronotrop **pozitiv**
- scăderea frecvenței - efect cronotrop **negativ**

Variațiile de amplitudine - ne dau relații despre efectele substanțelor folosite asupra funcției inotrope

- creșterea amplitudinii - efect inotrop pozitiv (crește forța de contracție)
- scăderea amplitudinii - efect inotrop negativ (scade forța de contracție)

Modificarea poziției graficului față de linia diastolică - semnifică efectele asupra funcției tonotrope:

- supradenivelarea graficului - efect tonotrop pozitiv; subdenivelarea - efect tonotrop negativ

Substanțele utilizate în experimentul SimHEART sunt:

1. **Epinefrina (EPI)** sau adrenalina. Face parte, alături de noradrenalină sau norepinefrină din grupul catecolaminelor. Este deopotrivă hormon sintetizat în medulosuprarenală și neuromediator eliberat la nivelul terminațiilor sistemului nervos vegetativ simpatic. Acționează pe receptorii alfa și beta adrenergici. În această lucrare este utilizată ca agonist al receptorilor β_1 – adrenergici de la nivelul cordului. În urma stimulării simpaticului, EPI se eliberează la nivelul terminațiilor simpatiche cardiace, unde determină stimularea tuturor proprietăților fundamentale ale miocardului.
2. **Propranolol (PRO)** este un blocant neselectiv al receptorilor β adrenergici. Ca medicament se folosește în tratamentul aritmiilor, al hipertensiunii arteriale, al fenomenelor vegetative din anxietate etc. După administrare determină scăderea frecvenței cardiace, a amplitudinii contracțiilor și a debitului cardiac.
3. **Fentolamina (PHE)** sau regitina – este un blocant neselectiv al receptorilor α adrenergici. Ca medicament se folosește în urgențele hipertensive.
4. **Acetilcolina (ACH)** este mediatorul chimic al parasimpaticului, agonist al receptorilor M_2 – colinergici. În urma stimulării parasimpaticului, ACH se eliberează la nivelul terminațiilor nervului vag, care inervează atriile și determină deprimarea tuturor proprietăților fundamentale ale miocardului.
5. **Atropina (ATR)** este un blocant al receptorilor colinergici. Atropina este un alcaloid natural extras din planta *Atropa belladonna* (mătrăguna). Are acțiune anticolinergică sau antimuscarinică prin blocarea receptorilor M, colinergici. Prin blocarea acestor receptori se opune efectului deprimant al ACH. Administrarea ei, după administrarea ACH va duce la revenirea frecvenței și a amplitudinii contracțiilor la valorile anterioare adăusului de ACH.
6. **Verapamil (VER)** este blocant al canalelor de Ca^{2+} de tip L din:
 - membrana celulelor cardiace de tip P (pacemaker). Acest tip de canale sunt concentrate mai ales în nodulul sino-atrial și atrio-ventricular, motiv pentru care, verapamilul este folosit pentru a reduce conductibilitatea prin NAV și a proteja astfel ventriculele de tahicardiile cu punct de plecare atrial;
 - membrana fibrelor musculare netede din structura vaselor, motiv pentru care este folosit ca vasodilatator.

În afara administrării separate a fiecărei substanțe, metoda Langendorff permite și introducerea simultană în experiment a substanțelor cu efecte antagonice asupra proprietăților inimii. Datorită acestei facilități se pot studia două mecanisme fiziologice:

- **antagonismul fiziologic dintre epinefrină și acetilcolină**
- **inhibiția competitivă dintre:**
 - epinefrină și propranolol pentru legarea de receptorii β - adrenergici
 - acetilcolină și atropină pentru legarea de receptorii M_2 - colinergici

Programul are 3 secțiuni:

Preparation: care prezintă înregistrarea video a disecției șobolanului, obținerea inimii izolate, cuplarea ei la perfuzor și introducerea transductorului.

Getting started: care permite pregătirea soluțiilor care se vor utiliza într-un laborator virtual de chimie. Nu va fi utilizat în această lucrare.

Practical course: conține laboratorul de fiziologie virtuală în care studenții vor efectua experimentele.

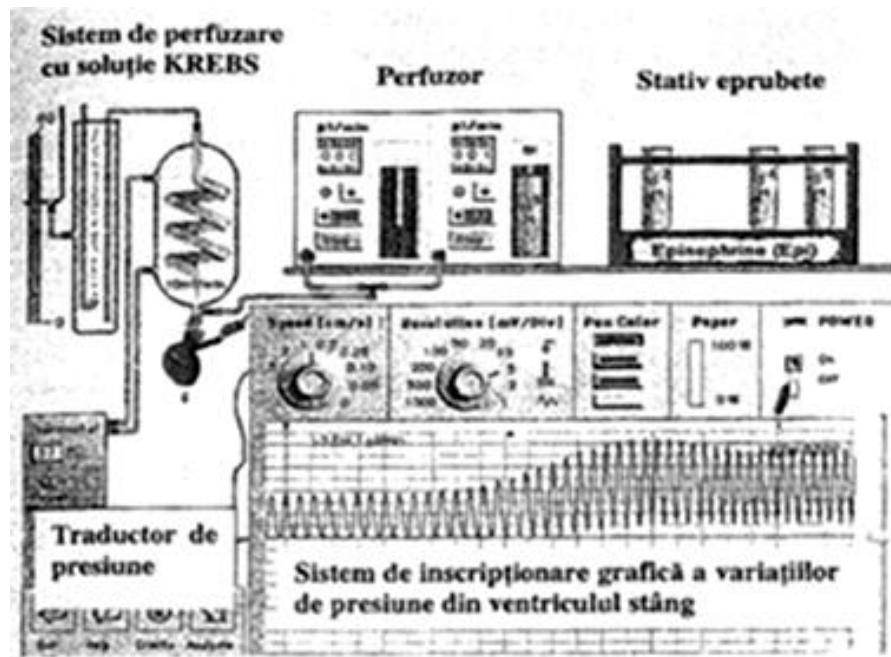
După deschiderea programului:

- Click pe **Preparation** pentru a viziona pregătirea cordului izolat de șobolan, după care dați click pe exit.
- Click pe **Practical course** pentru a pregăti și a efectua experimentul

Organizarea laboratorului SimHEART. Laboratorul SimHEART cuprinde componentele prezentate în figura 4.1.

- *Sistemul de fixare și perfuzare a inimii izolate* - inima izolată și canulată la nivelul aortei este fixată de un sistem de perfuzare permanentă cu soluție Krebs oxigenată, cu debit constant de 10 ml/min și la temperatura de 37°C. Prin aceeași canulă ajung în inima izolată substanțele utilizate în experiment.
- *Transductorul de presiune* - este conectat cu ventriculul stâng prin intermediul unui cateter.
 - Traductorul înregistrează variațiile de presiune din ventriculul stâng, pe care le amplifică și în același timp le transformă în semnale electrice, redată grafic cu ajutorul sistemului inscriptor.
- *Perfuzorul* – permite adăugarea substanțelor folosite în experiment
 - Prezintă două poziții de plasare a eprubetelor. Când se utilizează consecutiv două substanțe, **prima eprubetă se plasează întotdeauna în poziția din dreapta.**
 - Fiecare poziție permite stabilirea debitului substanței (μl/min) și are trei trepte de funcționare:
 - *pregătire* - activare buton săgeată verticală → bec culoare verde;
 - *activare* (activare buton cu săgeată orizontală);
 - *oprire* (activare buton STOP).
- *Stativul cu eprubete* - cuprinde substanțele care pot fi utilizate pentru experiment în diverse concentrații inițiale (Mi). Pentru a ușura munca în laborator toate substanțele utilizate au concentrația de 10^{-2} M, după care, concentrația se poate modifica prin schimbarea debitului de perfuzie.

Figura 4.1.
Organizarea
Laboratorului
SimHEART



- Sistemul de inscripționare - permite înregistrarea în timp real a modificărilor induse de utilizarea diverselor substanțe.
 - Prezintă un sistem de etalonare a înregistrării ca viteză (Speed - cm/s) și amplitudine (Resolution - mV/Div), precum și un sistem de schimbare a culorii peniței (Pen Color) ce poate fi utilizat atunci când se studiază interacțiunea dintre două substanțe.
 - Cu ajutorul butonului POWER On/Off sistemul de inscripționare se pornește când se înregistrează efectele unei substanțe și se oprește când inima trebuie "spălată" de substanțele introduse în experiment.
 - Cu ajutorul cursorului vertical plasat la marginea din dreapta a sistemului de inscripționare se stabilește poziția liniei diastolice a înregistrării.

EFFECTUAREA EXPERIMENTULUI SIMHEART – OPERAȚIUNI VALABILE PENTRU ORICARE DINTRE ETAPELE DE LUCRU

- Se stabilește **rezoluția (amplitudinea)** la **5 mV/div** și
 - **viteza (speed)**, care poate fi de **1 cm/sec** – în această situație **5 div. pe orizontală = 1 secundă**
 - **între 2 puncte numerotate ale graficului (de ex. între 1 și 2) sunt 4 secunde. Pentru a calcula pe minut: numărul de vârfuri din cele 4 sec X 15**
- Se stabilește poziția liniei diastolice a înregistrării prin mișcarea în jos a cursorului, în jumătatea inferioară a "hârtiei" inscripătorului.
- Din stativul cu eprubete
 - se alege eprubeta cu soluția dorită, în concentrația cea mai mare (**10⁻²M**) și se plasează în locul din **dreapta** al perfuzorului;
 - dacă se utilizează și a doua substanță, aceasta se plasează în locul din **stânga** al perfuzorului;
 - se stabilește debitul la **100 μl/min** (sau mai mult) pentru fiecare substanță;
 - se pregătește perfuzorul (lumina roșie trebuie să devină verde);
 - se alege culoarea dorită pentru inscripător (albastru, negru, roșu sau galben);
 - se pornește osciloscopul (**POWER/ON**);
 - la începutul fiecărei etape trebuie **înregistrat un scurt traseu de repaus**;
 - se activează perfuzorul (butonul cu săgeată orizontală) cu substanța dorită;
 - se așteaptă obținerea efectului și stabilizarea traseului;
 - se oprește **OBLIGATORIU** administrarea substanței (**STOP**) și înregistrarea traseului (**POWER/OFF**). Această manevră se repetă după fiecare etapă deoarece soluția Krebs care perfuzează permanent inima izolată trebuie să "spele" substanța utilizată.

Pentru Analiza datelor

- se activează tasta **ANALYSIS**;
- cu ajutorul butonului din stânga al mouse-ului care se ține apăsat se "trage" de înregistrare până la segmentul dorit;
- nu uitați că între 2 puncte numerotate ale graficului sunt 4 secunde;
- dacă aveți nevoie de durate mai scurte de timp le puteți delimita cu cele 2 cursoare (săgețile în jos de la baza caroiajului);
- pentru a salva graficul delimitat de cele 2 cursoare se deschide o pagină nouă prin click pe numerele din stânga jos ale paginii și apoi pe imaginea cu grafic (de lângă "coșul de gunoi").
- se determină:

- **FC = numărul de vârfuri din 4 secunde (20 de diviziuni) x 15**
- **Amplitudinea = 10 mm Hg/diviziune** (10 x nr. de diviziuni)
- se notează valorile obținute în tabelul corespunzător fiecărei etape;
- *se copiază pe caiet graficele obținute și se marchează momentul administrării substanței;*
- pentru revenirea la etapa de înregistrare se activează tasta **Lab**;
- se completează tabelul cu rezultate finale.

ETAPELE DE LUCRU

1. ACȚIUNEA EPINEFRINEI ASUPRA PROPRIETĂȚILOR INIMII

Principiu: se administrează EPI și se notează efectele obținute.

- Se stabilește viteza și rezoluția (**1 cm/sec și 5 mV/div**)
- Se alege eprubeta cu EPI 10^{-2} M și se pune în perfuzor. Se alege debitul de **100 μ l/min**.
- Se pregătește perfuzorul: click pe becul roșu -> verde
- Se pornește osciloscopul (POWER/ON);
- Se înregistrează un scurt traseu de repaus
- Se activează perfuzorul: click pe săgeata orizontală, apare verde și se începe administrarea EPI.
- După cca 15 secunde se oprește (STOP) perfuzorul și osciloscopul.
- Se trece pe modulul **ANALYSIS** și se determină:
 - FC = nr. vârfuri pe 5 diviziuni x 60 (sau numărul de vârfuri din 4 secunde (20 de diviziuni) x 15
 - Amplitudinea = 10 mm Hg/diviziune; (10 x nr. de diviziuni)
 - Rezultatele se trec în tabelul de mai jos și *se copiază pe caiet graficele obținute, cu marcarea momentului în care s-a administrat substanța.*

Parametri	FC (b/min)	Amplitudine (mm Hg)	Denivelare (mm Hg)
REPAUS		-	-
EPI 10^{-2} M			

Tabel 4.1. Efectele EPI asupra frecvenței și amplitudinii contracțiilor pe cordul de șobolan.

1.1 . EFECTELE EPINEFRINEI ÎN PREZENȚA ALTOR SUBSTANȚE

Principiu: se administrează EPI, se așteaptă stabilizarea traseului și apoi **fără a opri** administrarea EPI se adaugă, în etape câte una dintre substanțele: Propranolol (PRO) Fentolamină (PHE) și Verapamil (VER).

- **ETAPA 1. Relația epinefrină - propranolol = inhibiția competitivă**
 - Se revine în LAB
 - Se verifică viteza și rezoluția
 - Se pun eprubetele:
 - POZIȚIE EPRUBETĂ dreapta: EPI 10^{-2} M cu debit 100 μ l/min
 - POZIȚIE EPRUBETĂ stânga: PRO 10^{-2} M cu debit 100 μ l/min
 - Se pornește osciloscopul
 - Se înregistrează un scurt traseu de repaus
 - Se activează perfuzorul cu EPI
 - Se așteaptă stabilizarea traseului și se activează perfuzorul cu PRO. Se recomandă schimbarea culorii de înregistrare la adăugarea PRO
 - După cca 15 secunde se opresc perfuzoarele și osciloscopul
 - Se trece pe modulul **ANALYSIS** și se face analiza parametrilor

- Rezultatele se trec în tabel și se copiază pe caiet graficele obținute, cu marcarea momentului în care s-au administrat substanțele.

Parametri	FC (b/min)	Amplitudine (mm Hg)	Denivelare (mm Hg)
REPAUS			-
EPI 10^{-2} M			
PRO 10^{-2} M			

Tabel 4.2. Efectele Propranololului asupra modificărilor induse de Epinefrină - inhibiția competitivă pentru receptorii β -adrenergici.

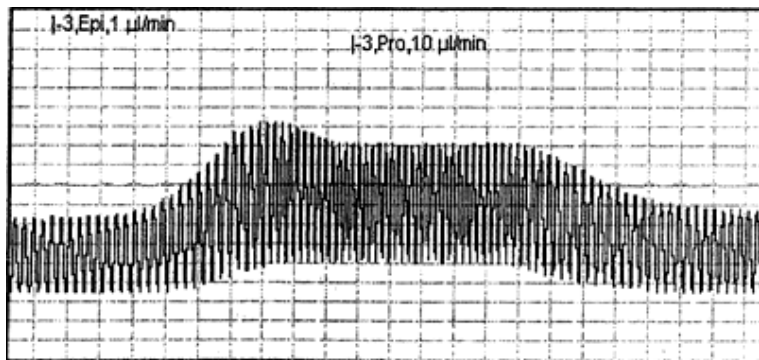


Figura 4.2. Inhibiția competitivă pentru receptorii β_1 adrenergici, între EPI și propranolol. Propranololul anulează efectele stimulatorie ale EPI.

ETAPA 2. Relația EPI – Fentolamină. Administrarea de Fentolamină nu modifică efectul stimulator al EPI, deoarece la nivelul cordului nu există receptori α – adrenergici.

- Se repetă aceleași etape de lucru, numai că în loc de propranolol se adaugă fentolamină
- Se completează tabelul și se desenează traseul

Parametri	FC (b/min)	Amplitudine (mm Hg)	Denivelare (mm Hg)
REPAUS			-
EPI 10^{-2} M			
PHE 10^{-2} M			

Tabel 4.3. Administrarea de PHE nu influențează efectele induse de EPI, datorită absenței receptorilor α – adrenergici de la nivelul miocardului.

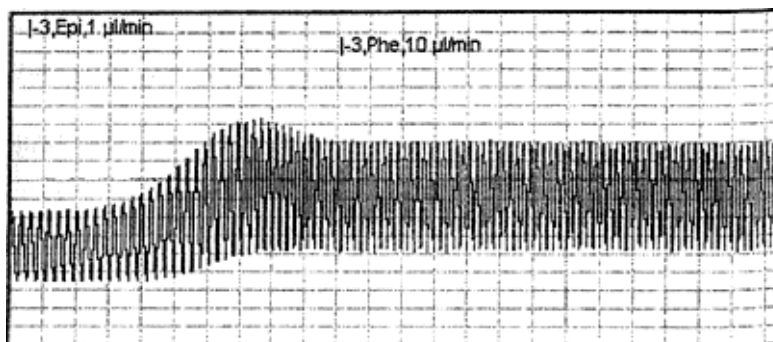


Figura 4.3. Administrarea de PHE, după adausul de EPI nu modifică efectele acesteia.

ETAPA 3. Relația EPI – Verapamil

Blocarea canalelor lente de Ca^{++} din membrana celulelor pace-maker privează aceste celule de un ion depolarizant, astfel că efectele stimulatorii ale EPI sunt anulate.

- Se repetă aceleași etape de lucru, numai că acum se adugă Verapamil
- Se completează tabelul și se desenează traseul (vezi și figura 4.4.)

Parametri	FC (b/min)	Amplitudine (mm Hg)	Denivelare (mm Hg) .
REPAUS			-
EPI 10^{-2} M			
VER 10^{-2} M			

Tabel 4.4. Relația de antagonizare necompetitivă dintre EPI și VER.

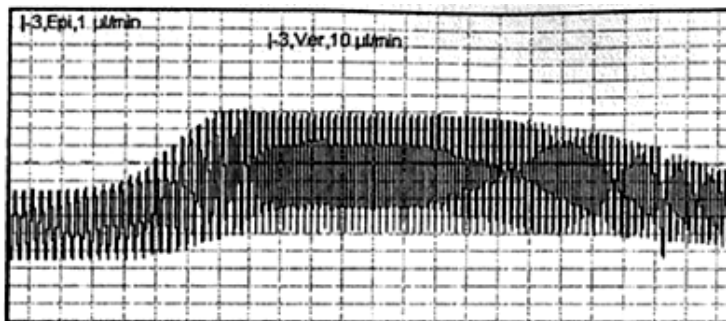


Figura 4.4. Efectele Verapamilului asupra modificărilor induse de Epinefrină. Chiar în prezența EPI, verapamilul scade frecvența și amplitudinea contracțiilor.

ETAPA 4. Repetați administrarea Verapamilului în absența epinefrinei și observați efectele deprimante asupra proprietăților inimii!

- STOP EPI
- Așteptați cca. 1 minut. Când frecvența și amplitudinea au scăzut foarte mult, “reanimați” inima cu EPI.
- Desenați traseul și marcați adăugarea substanțelor

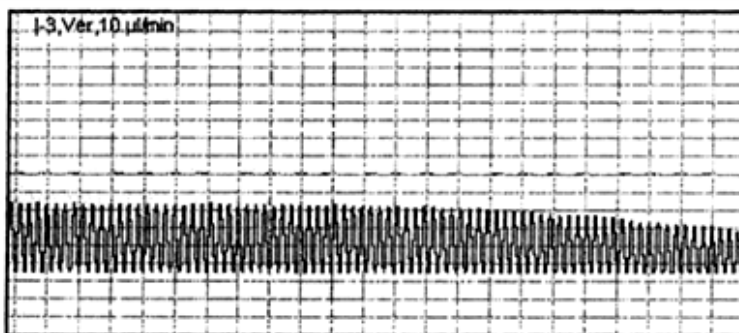


Figura 4.5. Efectele Verapamilului fără administrarea prealabilă a Epinefrinei.

2. ACȚIUNEA ACETILCOLINEI ASUPRA PROPRIETĂȚILOR MIOCARDULUI

Principiu: se administrează ACH și se notează efectele obținute.

- Se lucrează la fel ca la EPI
- După întreruperea perfuzoarelor și a osciloscopului se trece în modul ANALYSIS, se completează tabelul și se desenează traseul

Parametri	FC (b/min)	Amplitudine (mm Hg)	Denivelare (mm Hg)
REPAUS			-
ACH 10^{-2} M			

Tabel 4.5. Efectele ACH asupra frecvenței și amplitudinii contracțiilor pe cordul de șobolan.

2.1. Efectele ACETILCOLINEI în prezența altor substanțe

Principiu: se administrează acetilcolină (ACH), se așteaptă stabilizarea traseului și fără a opri administrarea ACH se adaugă epinefrină (EPI). Se repetă operațiunea cu atropină.

- **ETAPA 1. Relația Acetilcolină-Epinefrină – antagonismul fiziologic.**

- Se repetă aceleași operațiuni de pregătire.
- Se perfuzează ACH 10^{-2} M cu debit $10 \mu\text{l/min}$ (eprubetă dreapta)
- Se așteaptă obținerea efectului și apoi, după câteva secunde se adaugă EPI 10^{-2} M cu debit $1 \mu\text{l/min}$
- După cca. 10-15 secunde se opresc perfuzoarele și osciloscopul și se trece în modulul ANALYSIS pentru calcule.
- Se completează tabelul și se desenează traseul

Parametri	FC (b/min)	Amplitudine (mm Hg)
REPAUS		
ACH 10^{-2} M		
EPI 10^{-2} M		

Tabel 4.6. Efectele ACH asupra proprietăților inimii și interacțiunea cu EPI - **antagonismul fiziologic.**

Întrucât efectele epinefrinei și acetilcolinei se produc prin activarea unor tipuri diferite de receptori, antagonismul dintre cele două substanțe este unul **fiziologic și nu competitiv**.

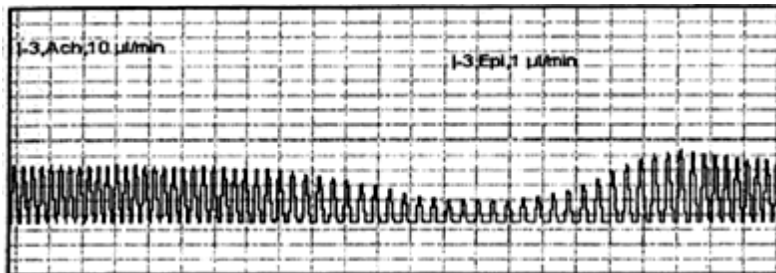


Figura 4.6. Efectele Acetilcolinei asupra proprietăților inimii și interacțiunea cu Epinefrina - antagonismul funcțional

- **ETAPA 2. Relația Acetilcolină-Atropină – inhibiție competitivă.**

- Se repetă operațiunile de la etapa precedentă. În loc de EPI se pune ATR cu un debit de $10 \mu\text{l/min}$.
- Se face analiza traseului și se notează în tabel. Se desenează traseul.

Parametri	FC (b/min)	Amplitudine (mm Hg)
REPAUS		
ACH 10^{-2} M		
ATR 10^{-2} M		

Tabel 4.7. Efectele Atropinei asupra modificărilor induse de Acetilcolina - **inhibiția competitivă**

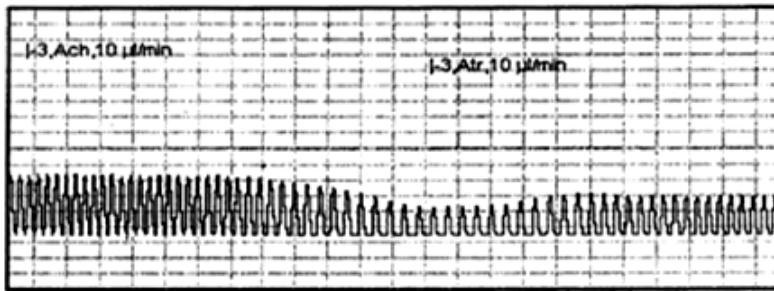


Figura 4.7. Relația Atropină - Acetilcolina - **inhibiția competitivă**

Concluzii

1. EPINEFRINA, mediatorul chimic al SNV simpatic.

- EPI are efecte stimulatoare asupra tuturor proprietăților miocardului prin acțiunea asupra receptorilor beta1-adrenergici.
 - efectul cronotrop pozitiv se manifestă prin creșterea frecvenței cardiace;
 - efectul batmotrop pozitiv se manifestă prin creșterea excitabilității care se poate exprima atât prin creșterea frecvenței cardiace, cât și prin apariția unor aritmii de tipul extrasistolelor atriale sau ventriculare, fibrilației atriale etc.;
 - efectul inotrop pozitiv se manifestă prin creșterea forței de contracție. Urmarea este creșterea debitului cardiac și a presiunii arteriale;
 - efectul dromotrop pozitiv se manifestă prin accelerarea conducerii stimulilor.
- Blocarea receptorilor β cu beta-blocante (propranolol) anulează efectul stimulator al EPI prin fenomenul de **inhibiție competitivă** la legarea pe aceeași receptori. Administrarea terapeutică a beta-blocantelor scade frecvența cardiacă, regularizează ritmul inimii (efect antiaritmice) și, prin vasodilatație scade tensiunea arterială.
- Blocarea receptorilor alfa-adrenergici cu Fentolamină nu influențează efectele EPI, deoarece la nivelul cordului avem numai receptori β_1 adrenergici.
- Verapamilul – blocant al canalelor lente de Ca^{++} are acțiune antagonică epinefrinei, scăzând frecvența și amplitudinea contracției, dar NU prin inhibiție competitivă ca beta-blocantele, ci prin scăderea influxului depolarizant de Ca^{++} la nivelul nodulilor de automatism. Administrarea terapeutică are efecte antiaritmice și hipotensoare.

2. ACETILCOLINA - mediatorul chimic al SNV parasimpatic

- ACH are efecte deprimante asupra tuturor proprietăților miocardului prin acțiunea asupra receptorilor muscarinici M2. Se eliberează la nivelul terminațiilor vagale care inervează în special atriile.
 - efectul cronotrop negativ se manifestă prin scăderea frecvenței cardiace. La o stimulare puternică vagală, cordul se poate opri în diastolă (stop cardiac);
 - efectul batmotrop negativ se manifestă prin scăderea excitabilității;
 - efectul inotrop negativ se manifestă prin scăderea forței de contracție. Urmarea este scăderea debitului cardiac și a presiunii arteriale;
 - efectul dromotrop negativ se manifestă prin încetinirea conducerii stimulilor, cu posibilitatea apariției blocurilor atrio-ventriculare.
- ✓ Efectele deprimante ale acetilcolinei (și ale SNV parasimpatic) pot fi prevenite prin administrarea de atropină, care blochează receptorii muscarinici prin **inhibiție competitivă**.
- ✓ Acetilcolina și epinefrina au efecte antagonice de **tip funcțional** și nu prin competiție pentru aceeași receptori.



Studiu individual

5. Utilizând un dicționar medical sau alte materiale de documentare explicați înțelesul următorilor termeni: in situ, in vivo, in vitro, agonist și antagonism, efect sinergic, bradicardie, tahicardie, necroză.
6. Explicați ce înseamnă: efect cronotrop pozitiv, efect batmotrop pozitiv, efect dromotrop pozitiv.
7. Definiți, explicați și exemplificați următoarele mecanisme fiziologice: inhibiție competitivă, antagonism funcțional, antagonism necompetitiv,

FIȘĂ DE LUCRU ÎN LABORATOR

1. Desenați o cardiogramă în stare de repaus. Marcați administrarea de CaCl_2 și evidențiați efectul asupra frecvenței și amplitudinii contracțiilor.

.....

2. Desenați o cardiogramă în stare de repaus. Marcați administrarea de oxalat de amoniu și evidențiați efectul asupra frecvenței și amplitudinii contracțiilor.

.....

3. Desenați o cardiogramă în stare de repaus. Marcați administrarea de KCl și evidențiați efectul asupra frecvenței și amplitudinii contracțiilor.

.....

4. Desenați o cardiogramă în stare de repaus. Marcați administrarea de HCl și evidențiați efectul asupra frecvenței și amplitudinii contracțiilor.

.....

5. Desenați o cardiogramă în stare de repaus. Marcați administrarea de NaOH și evidențiați efectul asupra frecvenței și amplitudinii contracțiilor.

.....

6. Desenați o cardiogramă în stare de repaus. Marcați momentul în care s-a administrat EPI și evidențiați efectul asupra frecvenței și amplitudinii contracțiilor.

.....

7. Pe graficul de mai sus continuați cu marcarea momentului în care se adăugă PRO. Interpretați rezultatele. Definiți relația care se stabilește între cele două substanțe.

.....

8. Desenați o cardiogramă în stare de repaus. Marcați momentul în care s-a administrat EPI și evidențiați efectul. Adăugați și Fentolamină. Desenați în continuare și explicați ce se întâmplă.

.....

9. Desenați și explicați relația EPI – Verapamil. Definiți această relație.

10. Desenați și explicați ce se întâmplă la administrarea de Verapamil în absența Epinefrinei.

11. Desenați o cardiogramă în stare de repaus. Marcați momentul în care s-a administrat ACH și evidențiați efectul asupra frecvenței și amplitudinii contracțiilor. Comentați rezultatele.

12. Pe desenul de mai sus marcați și adăugarea de EPI. Evidențiați rezultatele. Definiți relația Acetilcolină-Epinefrină.

13. Desenați o cardiogramă în stare de repaus. Marcați momentul în care s-a administrat ACH și evidențiați efectul. Adăugați și atropină. Desenați în continuare și explicați ce se întâmplă. Definiți relația Acetilcolină-Atropină.

14. Completați tabelul cu: (+) efect de stimulare; (-) efect de inhibiție, (x) fără efect

Substanțe	Cronotropism	Inotropism	Tonotropism
Epinefrină			
Propranolol			
Verapamil			
Fentolamină			
Acetilcolină			
Atropină			

15. Numiți un agonist pentru receptorii: β_1 adrenergici; α adrenergici; M colinergici. Găsiți sinonime pentru termenul de agonist.

16. Numiți un blocant al receptorilor: β adrenergici; α adrenergici; M colinergici și al canalelor lente de Ca^{++} .

17. Numiți câteva boli sau situații în care se administrează: propranololul, atropină; verapamil, epinefrină, acetilcolină, fentolamină.