

Oběh

Uzavřený systém s cirkulujícími tělesnými tekutinami (krev, lymfa) vytváří **oběhovou soustavu**, která zajišťuje v organismu rozvod živin, přenos plynů, produktů látkové přeměny, hormonů a jiných faktorů regulujících činnost buněk a podílí se i na řízení tělesné teploty. U ptáků a savců je krevní oběh tvořen dvěma sériově za sebou zařazenými čerpadly (levé a pravé srdce), které ženou krev do uzavřeného systému cév, velkého (tělního) a malého (plicního) oběhu. Určitý podíl tkáňové tekutiny vstupuje do uzavřených cév lymfatického systému, který ústí do žilního systému (lymfatický oběh).

Rytmickou činností srdce se při každé systole vytlačuje do arteriálního řečiště krev. Množství krve, které v daném okamžiku aorta pojme, je menší než vypuzený objem, ale poněvadž jsou arteriální stěny pružné, dochází k jejich přechodnému rozeptutí, které je potom v srdeční diastole zdrojem energie pro pohyb krve vpřed. V cévním řečišti existuje tlakový spád jehož směrem krev proudí. Velikost krevního tlaku, tj. hydrostatického tlaku, kterým krev působí na stěny cév, kolísá během srdeční činnosti (tlak systolický a diastolický) a je různá i v různých místech cévního systému. Vysoký **krevní tlak** je v arteriích, nízký v kapilárách a vénách. Na určování velikosti krevního tlaku se podílí hlavně arteriální část řečiště. Jeho velikost je závislá na tzv. periferním odporu a ten je dán celkovým průřezem odporových cév - arteriol (jejich průřez je řízen reflexně, humorálně a místními působky v tkáních).

Kromě pohybu krve vpřed způsobuje náhlá ejekce krve v systole tlakovou vlnu, která se šíří vpřed rychleji než krevní proud. Tato vlna při svém postupu roztahuje arteriální stěnu a dá se nahmatat jako **tep**. Rychlost postupu tlakové vlny se zvětšuje se snižováním elasticity stěn artérií, tedy např. stářím. Počítání tepu se normálně používá ke zjišťování minutové srdeční frekvence při běžném vyšetření.

Při funkčním zatížení organismu stoupají nároky orgánů a tkání na dodávku kyslíku a živin. Oběh je proto řízen velmi složitě tak, aby byl zachován dostatečný průtok krve kapilárami především v životně nejdůležitějších orgánech (mozku, srdci, plicích) k zajištění zejména nepřetržité dodávky kyslíku. Protože objem krve v cévní soustavě se významně nemění, dosahuje se vyšší účinnosti přenosu látek zrychlením cirkulace krve - zvýší se množství krve protékající soustavou za jednotku času.

Fyziologickou veličinou, která odráží tuto skutečnost, je **minutový výdej srdeční** neboli minutový objem, což je objem krve, který srdce vypudí do oběhu za jednu minutu. Lze jej vyjádřit jako součin **systolického objemu** (tj. objemu krve, který srdce vypudí při jednom stahu komory) a **minutové srdeční frekvence**. Tyto dvě veličiny tedy velikost minutového výdeje bezprostředně určují. Na jejich řízení se podílí celá řada reflexních mechanismů (zprostředkovaných vegetativní nervovou soustavou), které působí buď přímo na srdeční svalovinu nebo na cévní řečiště. Velikost systolického objemu a minutové srdeční frekvence se může měnit do jisté míry nezávisle, ale prakticky je změna minutového výdeje dána souhlasnou změnou obou těchto veličin (tedy např. zvýšení minutového výdeje je dáno jak zvýšením frekvence tak systolického objemu); nemusí to platit v extrémních případech.

Existuje úzká souvislost mezi velikostí minutového výdeje a metabolickým obratem. Zvýšení celkového metabolismu je vždy spojeno se zrychlením oběhu krve, proto je největšího zvýšení minutového výdeje dosahováno při tělesné námaze (až 7 krát oproti klidové hodnotě).

Zvýšení minutového výdeje obecně zajišťuje sympatikus a jeho mediátor noradrenalin, zatímco parasympatikus s mediátorem acetylcholinem má účinek tlumivý. Z dalších faktorů, které vyvolávají změnu srdečního výdeje, můžeme jmenovat např. emoce (strach nebo vzrušení), jídlo,

horko, pozdní těhotenství (všechny zvyšují srdeční výdej), náhlá změna tělní polohy z lehu nebo srdeční onemocnění (snížení výdeje).

Klidová velikost srdečního výdeje koreluje s velikostí tělesného povrchu. Pro jeho porovnávání mezi různými subjekty se proto někdy používá jeho hodnota vztažená na jednotku povrchu těla ($l \text{ min}^{-1} \text{ m}^{-2}$), která se označuje jako **srdeční index**. Schopnost zvýšit srdeční výdej se zvětšuje tréninkem. Kromě funkčního přizpůsobení dochází i ke změnám anatomickým, např. zvětšení hmotnosti srdce a objemu srdečních komor, což umožňuje trénovaným osobám zvyšovat srdeční výdej bez velkého zvyšování srdeční frekvence, a to je výhodné z hlediska energetiky srdeční práce a nároků na zásobení srdce kyslíkem. Znalost srdečního výdeje a schopnosti jeho zvyšování při limitní zátěži je tedy výhodná při posuzování výkonnosti oběhové soustavy.

Uvedeme si jeden způsob změření minutového výdeje srdečního - přímou Fickovou metodou. Protože praktické provedení těchto metod je nemožné bez katetrizace cév (což je technika pro začátečníky prakticky nedostupná a nepřijatelná i z etických důvodů) omezíme se na vyhodnocení experimentálně změřených údajů, které ilustruje použití obou technik.

STANOVENÍ MINUTOVÉHO VÝDEJE SRDEČNÍHO PŘÍMOU FICKOVOU METODOU.

Fickův princip udává, že množství látky přijaté nějakým orgánem z krve za jednotku času, je úměrné součinu rychlosti průtoku krve tímto orgánem a rozdílu koncentrace látky v arteriální a venózní krvi (před a po průtoku orgánem). V případě měření srdečního výdeje se měří rychlost spotřeby kyslíku organismem (tedy metabolický obrat) a změny koncentrace kyslíku v krvi během průtoku velkým oběhem (tedy saturace krve kyslíkem po průchodu krve plicemi tj. v arteriální krvi a saturace venózní krve která prošla organismem, tj. v pravé srdeční komoře nebo v plicnici). Téměř výlučným zdrojem kyslíku pro buňky teplokrevných živočichů je totiž krev (nepatrný podíl vzdušného kyslíku pro dýchání povrchových epitelů, např. oční rohovky je kvantitativně zanedbatelný). Saturace arteriální krve kyslíkem se prakticky nemění a lze proto arteriální krev odebrat z kterékoli tepny, ale venózní krev musí zahrnovat i krev zásobující srdce, která se s ostatní krví mísí až v pravé komoře, je tedy nutná katetrizace komory nebo plicní tepny.

Minutový výdej srdeční MVS je určen poměrem celkové spotřeby kyslíku a rozdílu saturací arteriální $c_A O_2$ a venózní krve $c_V O_2$:

$$MVS = \frac{\text{Spotřeba } O_2 \text{ [ml/min]}}{c_A O_2 - c_V O_2 \text{ [ml/ml]}}$$

Rychlost spotřeby kyslíku se měří metabolimetrem, např. analyzátozem kyslíku Spirolyt metodou otevřeného okruhu, která bude v praktických cvičeních probírána při jiné příležitosti. Způsob odběru krve si demonstrujeme na laboratorním potkanu po předchozí kanylaci vhodných cév v celkové anestézii. Pro praktické použití je nutné dokonalé zvládnutí příslušných technik, což je mimo možnosti frekventantů základního praktika. Analýza obsahu kyslíku v krvi je rovněž ne zcela triviální záležitostí. Možné je stanovení objemovým analyzátozem typu Roughton-Scholander, spočívající ve vytěsnění krevních plynů z vazby a jejich postupné selektivní absorpci chemickým činidlem. Ta se projevuje jako změna objemu plynu, kterou přímo měříme. Rychlejší a pohodlnější je polarografické stanovení kyslíkovou elektrodou Clarkova typu, vyžadující kromě senzoru také velmi citlivé měřidlo (schopné registrovat proudy řádově $10^{-6} A$). Obě metody jsou spolehlivé až po jistém zácviku osoby, která měření provádí.

Pro seznámení se s metodou spočítejte minutový srdeční výdej anestetizovaného potkana z údajů zadaných asistentem, které byly naměřeny při skutečném pokuse. Víme-li, že objem krve v ml odpovídá průměrně 8% tělesné hmotnosti v gramech, spočítejte rovněž, kolikrát za 1 min oběhne veškerá krev řečištěm, abyste získali kvantitativní představu o výkonnosti oběhového aparátu nejtypičtějšího laboratorního zvířete.

STANOVENÍ OBJEMU KRVE DILUČNÍ TECHNIKOU

Jako příklad měření velikosti jednoho z oddílů extracelulární tekutiny si provedeme stanovení objemu krve, respektive její tekuté části - krevní plasmy, zředovací technikou. Princip měření diluční technikou je v tom, že známé množství látky se rovnoměrně rozpptlí v celém objemu rozpouštědla a změříme-li pak výslednou koncentraci, můžeme spočítat neznámý objem. Pro látky, které se používají k tomuto účelu platí určitá omezení - např. v případě měření objemu plasmy nemá látka procházet stěnami cév, nemá být v daném časovém intervalu prakticky vylučována ani metabolizována a má být neškodná. V našem praktiku používáme k tomu kongočerveně, jejíž známé množství se intravenózně aplikuje a změří se pak její koncentrace v plasmě. Z objemu plasmy se spočítá celkový objem krve, známe-li hematokrit.

Hematokrit je číslo, která udává objemové procento krvinek v krvi a měří se klinicky v přesně kalibrovaných hematokritových zkumavkách, v nichž se nesrážlivá krev definovanou dobu centrifuguje. Výška sedimentovaného sloupce krvinek se vyjádří v procentech celého sloupce krve - jako hematokrit. My použijeme méně přesnou, ale rychlejší mikrometodu. Nesrážlivá krev se vpraví do skleněné kapiláry, která se na jednom konci opatrně zataví, aby se krev nesrazila. Kapilára se odstředuje 4 min v mikrohematokritové centrifuze a výška sloupce krvinek se vyjádří v procentech celkové výšky krve v kapiláře po změření měřítkem. U člověka se hodnota hematokritu pohybuje kolem 45 % a mění se za některých patologických stavů.

Postup:

Narkotizovanému potkanovi s nakanylovanou artérií carotis odebereme cca 0,7 ml arteriální krve do injekční stříkačky propláchnuté heparinem (zabrání vysrážení krve). Přibližně 70 µl se použije na stanovení hematokritu, zbytek se vpraví do malé plastikové zkumavky (Eppendorf), odstředí při 5 – 10 tisících otáčkách po dobu 5 minut a čistá krevní plazma (budeme ji označovat v dalším textu ČP) se přepipetuje do čisté zkumavky.

Mezitím, ihned po odběru krve, se prostřednictvím arteriální kanyly aplikuje 0,5 ml 0,2% roztoku kongočerveně. Dávka musí být naprosto přesně odměřena (použijte 1 ml tuberkulinovou stříkačku s kovovou jehlou č. 6, která má tupé zakončení a dokonale těsní v arteriální kanyle a pečlivě odstraňte bublinky). Část roztoku kongočerveně, která zůstane v kanyle, je třeba vpravit do oběhu promytím kanyly malým množstvím fyziologického roztoku (cca 0,2 ml).

Po dvou až třech minutách, kdy dojde k dokonalému promíchání kongočerveně s krví, se odebere další vzorek krve (cca 0,5 ml), odstředí se a zbarvená plazma (tu budeme značit ZP) obsahující zředěnou kongočerveně se přepipetuje do další čisté zkumavky. Zkumavky je samozřejmě nutno předem označit, aby nedošlo k záměně vzorků.

Po druhém odběru, který se ukončí opětovným promytím arteriální kanyly fyziologickým roztokem a uzavřením kanyly zátkou, je část experimentu na zvířeti ukončena. Aplikujte další dávku thiopentalu na prohloubení narkózy a prostřížením bránice zvíře usmrťte. Po ověření exitu je možné vyjmout kanyly a karkas odložit do mrazícího boxu.

Po skončení této části experimentu se provede stanovení koncentrace kongočerveně v krevní plasmě po intravaskulárním podání známého množství kongočerveně.

Stanovení koncentrace kongočerveně v krevní plasmě: fotometrické stanovení při vlnové délce 510 nm. Připravíme tři konečné vzorky, které budeme označovat blank (B), vzorek zbarvené plasmy (V) a standard kongočerveně (S) následujícím způsobem:

B	0,1 ml ČP + 1,9 ml H ₂ O
V	0,1 ml ZP + 1,9 ml H ₂ O
S	0,1 ml ČP + 0,1 ml standardního roztoku kongočerveně + 1,8 ml H ₂ O.

Standardní roztok kongočerveně se připraví tak, že 2,5 ml 0,2% kongočerveně se doplní do objemu 100 ml destilovanou vodou. Jeho koncentrace tedy je $5 \cdot 10^{-3} \%$, čili $c_s = 50 \mu\text{g/ml}$.

Na spektrofotometru změříme absorbanci blanku, vzorku a standardu, a protože konečné zředění plasmy i standardu v kyvetě je stejné, je výpočet jednoduchý:

$$c_p = c_s (A_v - A_B)/(A_s - A_B)$$

kde c_s je koncentrace standardu, c_p je koncentrace kongočerveně v krevní plasmě, A_v , A_s , A_b jsou absorbance vzorku, standardu a blanku.

Injikované množství (M_i) je rovno součinu podávané koncentrace ($c_i = 0,2 \%$, tj. $2 \cdot 10^3 \mu\text{g/ml}$) a objemu ($V_i = 0,5 \text{ ml}$):

$$M_i = c_i V_i$$

Množství přítomné v krvi, resp. v její tekuté části – krevní plasmě (M_p) je stejně velké (látka za tak krátkou dobu nepodlehne významnému vylučování nebo metabolické přeměně)

$$M_i = M_p$$

a je také rovno součinu koncentrace látky v plasmě (c_p) a objemu plasmy (V_p):

$$M_p = c_p V_p$$

Z fotometricky stanovené výsledné koncentrace kongočerveně v krevní plasmě a ze známých údajů můžeme lehce spočítat objem krevní plasmy a celkový objem krve.

$$c_i V_i = c_p V_p$$

$$V_p = c_i V_i / c_p$$

Hematokrit (H) je definován takto: $H = 100 V_k / (V_p + V_k)$

kde V_k je objem krvinek a celkový objem krve (V_{krve}) je součtem $V_p + V_k$.

V_k můžeme tedy vyjádřit jako rozdíl celkového objemu krve a plasmy ($V_k = V_{krve} - V_p$). Z toho plyne po dosazení jednoduchý vztah:

$$V_{krve} = 100 V_p / (100 - H)$$

Zjistěte objem krve potkana v ml a vyjádřete jej v procentech celkové hmotnosti zvířete (při zjednodušujícím předpokladu že hustota krve je 1 g na 1 ml).

MĚŘENÍ KREVNÍHO TLAKU

Krevní tlak lze měřit přímou metodou tak, že se do cévy zavede kanyla naplněná protisrážlivým roztokem a tlak se odečítá manometricky nebo složitějším registračním zařízením, které bylo předem kalibrováno. Těto metody se používá u laboratorních zvířat běžně, ale u lidí se většinou používá nepřímé metody auskultační nebo palpační za pomoci tonometru. Tonometr se skládá z nafukovací gumové manžety spojené s manometrem. Manžetou ovinutou kolem paže stlačujeme nafukovaným vzduchem artérii v nadloktí a fonendoskopem posloucháme arteriální tep na artérii brachialis v lokti. Po úplném stlačení neslyšíme žádný zvuk (proud krve neteče). Pomalým vypouštěním vzduchu klesá tlak v manžetě a v okamžiku, kdy právě poklesne pod úroveň arteriálního systolického tlaku, začne procházet proud krve při každém úderu srdce. To slyšíme ve fonendoskopu jako ostré klapnutí a výška manometrického sloupce v manometru udává v tomto okamžiku systolický arteriální tlak. Při dalším poklesu tlaku v manžetě se zvuk postupně zesiluje a pak opět zeslabuje, až mizí (Korotkovův fenomén). Při tlaku vyšším než je tlak diastolický, je zvuk vždy aspoň na krátko přerušen (staccatový zvuk); jakmile poklesne pod hodnotu diastolického tlaku, ozývá se sice ještě šelest (vířivý proud krve pokud je céva zúžená), ale je tlumený, ne staccatový. Tento okamžik indikuje velikost diastolického tlaku, který odečteme na manometru.

Protože hydrostatický tlak je ovlivňován gravitací, našli bychom na různých místech stojícího člověka různě velký arteriální tlak (nejvyšší v artériích chodidla). Aby metoda byla standardní, musíme měřící manžetu upevnit a tlak měřit vždy ve výši srdce, popř. vleže. Změřené hodnoty zaznamenáváme jako poměr systolického a diastolického tlaku (např. 16,7/10,7 kPa, dříve 125/80 Torr).

Rozdíl mezi systolickým a diastolickým tlakem se nazývá tlak pulsový. Průměrný tlak v artérii po celou dobu srdečního cyklu je tlak střední a jeho přesná hodnota se zjistí integrací plochy tlakové křivky, získané časovým grafickým záznamem tlakových změn. Pro přibližné určení se počítá jako součet tlaku diastolického a třetiny tlaku pulsového.

Změřte klidovou hodnotu krevního tlaku člověka a zaznamenejte do protokolu tlak diastolický, systolický, tepový a střední. Totéž proved'te ihned po definovaném pracovním zatížení (např. určitém počtu dřepů v čase) a po zotavení znovu, po zatížení ještě jednou tak velkém. Současně sledujte bezprostředně po skončení výkonu srdeční minutovou frekvenci (tep na artérii radialis) - měřte 20 s a spočítejte pro 1 min. Graficky vyjádřete zjištěné hodnoty tlaku a tepové frekvence v klidu a po námaze a v případě změny vyjádřete její velikost v procentech klidové hodnoty.