

Bài 3

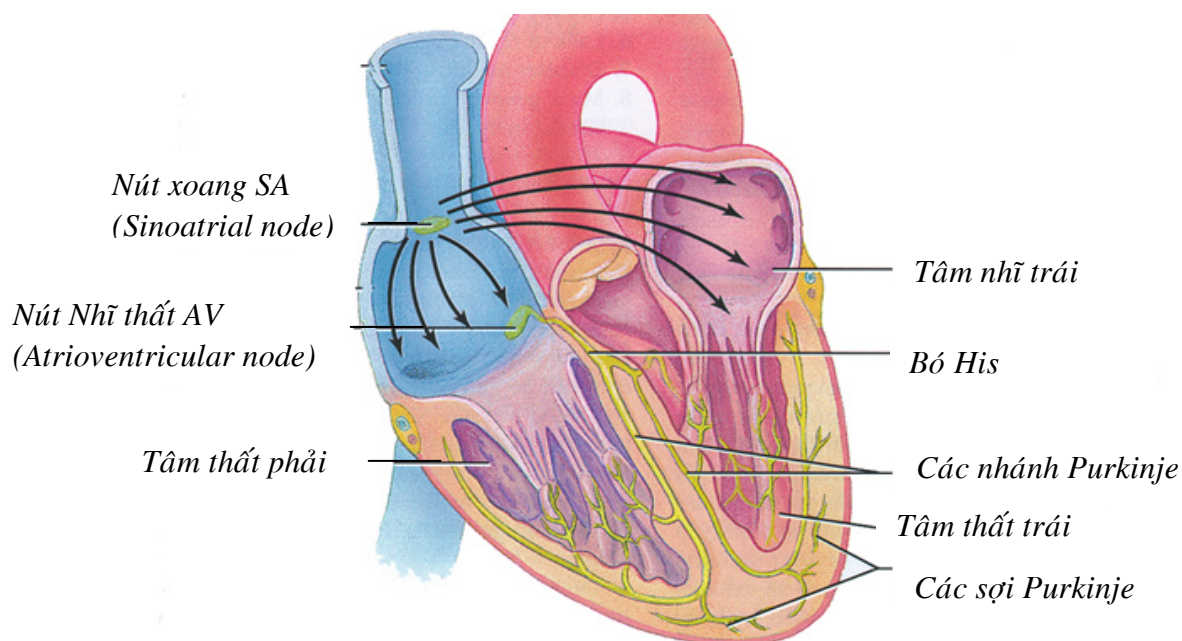
ẢNH HƯỞNG CỦA THỂ DỊCH VÀ MỘT SỐ CHẤT LÊN HOẠT ĐỘNG CỦA TIM ẾCH TÁCH RỜI

I. ĐẠI CƯƠNG

Trong cơ thể, hoạt động sinh lý của tim được điều hoà bởi hệ thần kinh trung ương (thông qua các xung) và thể dịch (các hormon).

Tim của động vật bậc cao có những tính chất sinh lý đặc biệt của mô tim và của các tế bào cơ tim. Nhờ vậy, chúng vẫn có khả năng hoạt động tự động một cách nhịp nhàng ngay cả khi bị tách rời khỏi cơ thể, tức cô lập chúng khỏi sự điều hòa của hệ thần kinh và hệ thể dịch.

Thậm chí khi tim bị tách rời và nuôi sống trong môi trường đầy đủ các dung dịch sinh lý thích hợp (đối với tim ếch là Ringer, thỏ là Tyrode), oxy, nhiệt... những yếu tố có thể thay thế cho vai trò của máu thì chúng lại có sự cảm ứng nhạy hơn so với khi còn trong cơ thể đối với một số các yếu tố kích thích.



Hình 4.1. Hệ thống nút tự động của tim người

Tính tự động của tim nói trên có được nhờ một tổ chức các hạch (nút) đặc biệt. Ở tim ếch, đó là các hạch Remark, Ludwig và Bidder. Ở tim người, đó là các tổ chức hạch xoang, hạch nhĩ thất, bó His và lưới Purkinje.

Hoạt tính của các hạch này khác nhau trong tính năng điều hoà hoạt động tim, dù có tính tự động nhưng chúng chịu sự điều hòa của các sản phẩm thần kinh - tiết.

Bằng phương pháp cô lập tim ếch theo kiểu Straub, đưa dung dịch Ringer vào tâm thất, người ta có thể khảo sát một số hoạt tính của được chất, các hormon và dung dịch ion khác nhau lên hoạt động của tim tách rời khi đưa lần lượt các chất này vào tâm thất của tim tách rời (mỗi khi đưa chất nào đó vào phải rửa tim bằng dung dịch sinh lý cho sạch các chất được sử dụng trước đó đọng trong xoang tim).

Các chất giao cảm như adrenalin, noradrenalin và một số chất điện giải có hóa trị 2 khác như Ca^{2+} ... có tác dụng làm tăng cường hoạt động của tim giống như tác dụng của thần kinh giao cảm. Ngược lại, với các chất thuộc loại phó giao cảm như acetylcholin, digitaline, các ion có hóa trị 1 như K^{+} ... lại có hoạt tính ức chế hoạt động của tim giống như tác dụng của thần kinh phó giao cảm.

II. CHUẨN BỊ

a. Dụng cụ - thiết bị

- Dụng cụ giải phẫu: kim hủy tử, kéo lớn, kéo nhỏ, pince cong, cặp mổ tim, kim khâu (cong) phẫu thuật, chỉ thường, khay giải phẫu...

- Trụ ghi, đèn cồn, giấy cảm nhiệt, giá ghi.

- Các pipette Pasteur hay ống nhỏ giọt.

- Ống Straub (*Một dụng cụ thủy tinh ống có cấu trúc riêng biệt cho các thí nghiệm thông tim. Ống dài khoảng 5cm, một đầu được kéo nhỏ thành mao quản có đường kính từ 0,5-1mm (đường kính này có thể được thay đổi tùy vào tim các loài khác nhau). Phần trên chứa dung dịch hoặc gắn với các ống cao su. Đầu nhỏ của ống Straub được luồn vào động mạch chủ trái của tim tách rời, sau đó dùng chỉ hoặc kẹp để cố định chặt).*

- Ống thông tim (Canuyn, thay cho ống Straub).

- Các ống nhựa (hoặc cao su) có khóa.

- Đồng hồ bấm giây.

- Bút ghi cảm nhiệt bằng kim loại (có thể dùng nhiệt đèn cồn hoặc tụ điện để làm nóng đầu kim ghi ít nhất là 45°C).

- Giấy cảm nhiệt (có thể dùng giấy thường cho ám khói trên bề mặt giấy)

- Máy động ký (Kymograph).

Máy động ký được sử dụng phổ biến trong các thí nghiệm về sinh lý học, động học... Nguyên tắc cấu trúc của máy bao gồm một trụ quay kim loại hình trụ rỗng và được bao bên ngoài bằng giấy cảm ứng nhiệt có kẻ ô hoặc trắng.

Trụ quay hoạt động quay tròn nhờ bộ phận động cơ điện hoặc bộ phận lên giây cót.

Tốc độ của trụ quay có thể điều chỉnh được cho phù hợp với thí nghiệm. Đi kèm với trụ quay thường có các thiết bị tạo nhịp, xác định thời gian, nguồn điện kích thích, hệ thống giá đỡ...

Trong Sinh lý học, máy động ký được sử dụng cho các thí nghiệm nhằm tìm hiểu quy luật hoạt động của các cơ quan như thần kinh, hệ tiêu hóa, hệ hô hấp, hệ cơ. Có thể thực hiện các thí nghiệm cấp diễn và trường diễn.

b. Hóa chất

- Dung dịch Tyrode (sử dụng cho tim thỏ, bọ...).
- Dung dịch Ringer (sử dụng cho tim ếch, cóc).
- Dung dịch Adrenalin 1.10^{-3} .
- Dung dịch Acetylcholin 1.10^{-3} .
- Dung dịch $CaCl_2$ 2%.
- Dung dịch KCl 2%.

Chú ý: - Các dung dịch hormon phải được bảo quản trong điều kiện tránh tối đa ánh sáng, thường xuyên phải đậy nắp.

Bảng 4.1. Công thức của các dung dịch sinh lý

THÀNH PHẦN	DUNG DỊCH (g/l)		
	Ringer	Locke	Tyrode
NaCl	6-6,5	9,0	8,0
KCl	0,1	0,2	0,2
$CaCl_2$	0,1	0,2	0,2
$NaHCO_3$	0,1	0,19	1,0
$MgCl_2$		0,16	1,0
NaH_2PO_4		0,16	0,05
Glucose		1,0	1,0

Chú ý: - Khi pha các dung dịch trên cần sử dụng nước cất trung tính tránh các muối kim loại nặng làm tổn thương tế bào sống và mô sống.

- Luôn pha $NaHCO_3$ và Na_2HPO_4 sau cùng để đảm bảo sự hoà tan.

c. Mẫu vật

- Thỏ khỏe mạnh (hoặc con Bọ-Guinea pig).
- Ếch khỏe mạnh.
- Trước khi thí nghiệm 2 giờ, không nên cho con vật ăn.

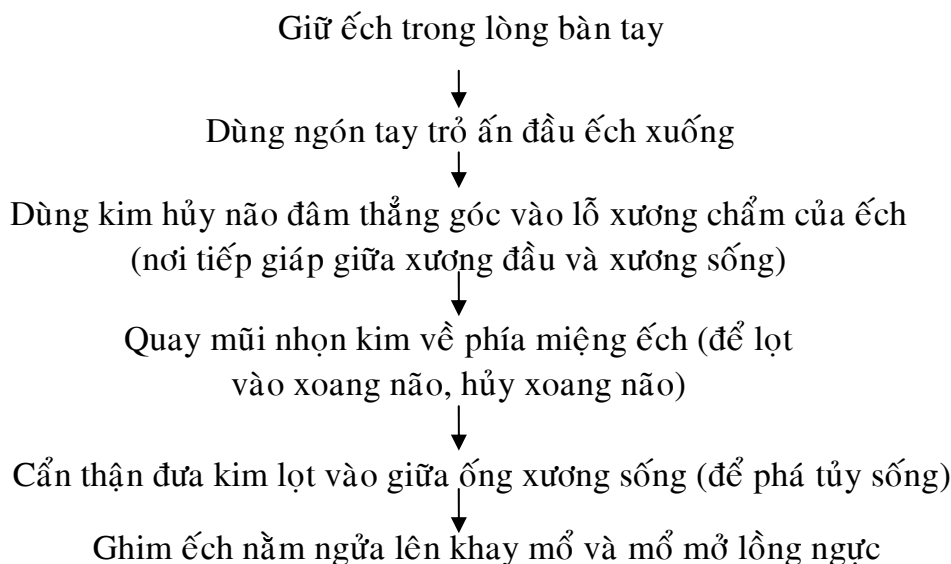
III. THỰC HÀNH

1. Thao tác máy động ký

- Dán giấy cảm nhiệt vào trụ ghi (mặt láng giấy nằm phía ngoài), hơi nóng kim ghi bằng đèn cồn đặt phía dưới đầu kim ghi.
- Bố trí các vị trí máy, giá đỡ sao cho thuận lợi, khi giải phẫu chế phẩm xong có thể thí nghiệm được ngay, tránh để lâu, tìm rời hoạt động yếu đi.
- Đặc biệt, bố trí sự tiếp cận giữa đầu kim ghi và mặt giấy (đã dán bao quanh trụ) sao cho có khả năng tiếp xúc tốt nhất (luôn tiếp xúc với bề mặt của giấy trong suốt quá trình khởi động máy, lực ma sát giữa kim ghi và giấy phải giảm ở mức tối thiểu, kim ghi luôn vuông góc với trục của trụ ghi).
- Chạy thử máy và thử ghi các dao động trên giấy, tắt máy để giải phẫu ếch.

2. Làm chế phẩm tìm rời của ếch

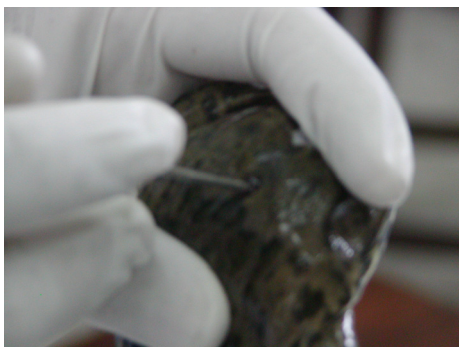
- *Hủy tử ếch*



Chú ý: - Nếu hủy não thành công thì ếch sẽ duỗi thẳng hai chân và chỗ hủy não không bị chảy máu, ếch bất động.

- Quá trình giải phẫu không để cho da ếch bị khô, có thể dùng khăn ẩm bao lấy mình ếch. Ếch hủy tử xong, gọi là ếch tử.

- Ghim ếch nằm ngửa lên khay mổ.
- Cắt da ngực theo đường tam giác cân, một đỉnh nằm giữa bụng dưới, hai đỉnh còn lại nằm ở hai vị trí nách.
- Dùng kéo cắt bỏ thành ngực theo đường đã cắt da, cẩn thận cắt rời mô liên kết, cố gắng không gây tổn thương các nội quan, nhất là tim.
- Dùng kẹp nhắc nhẹ bao tim, đưa mũi kéo nhỏ cắt dọc theo trục dài của tim, tách bao tim qua hai bên để tim lộ ra ngoài.



Tìm lỗ chấm và phá xoang não



Hủy tử sống

**Hình 4.2. Thao tác hủy tử ếch
Mổ lồng ngực và xoang bao tim**

Buộc các mạch

- Dùng kim cong luồn chỉ dưới cung động mạch phải, sau đó buộc chặt tại vị trí cách tim khoảng 1cm, cắt gọn hai đầu chỉ. Máu không còn lưu thông vào động mạch phải (nên thắt nhiều nút chỉ tránh trường hợp chỉ bị xức trong thí nghiệm). Tương tự, dùng kim cong luồn chỉ dưới cung động mạch trái sau tim 1cm, cắt một vết chữ V tại vị trí phía ngoài sợi chỉ rồi buộc hờ. Máu sẽ chảy ra, cứ để máu chảy tự do ra khỏi mạch tại vị trí vết cắt
- Lật ngược tim lên, luồn kim có chỉ dưới tĩnh mạch chủ chia làm 3 nhánh, cắt một vết chữ V phía ngoài sợi chỉ khoảng 1cm rồi buộc hờ.

Rửa tim

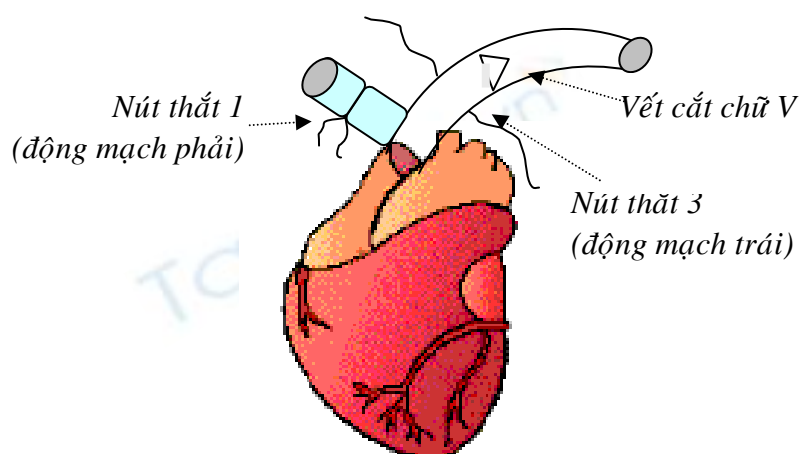
Luồn ống nhỏ giọt có sẵn dung dịch Ringer trong ống, bơm vào vết cắt V ở tĩnh mạch chủ, máu trong tim sẽ được tống ra ngoài qua vết cắt ở động mạch trái.

Tiếp tục bơm dung dịch Ringer vào cho đến khi thấy tim trắng (sạch hết máu trong tim), sau đó buộc chặt tĩnh mạch chủ, cắt gọn đầu chỉ.

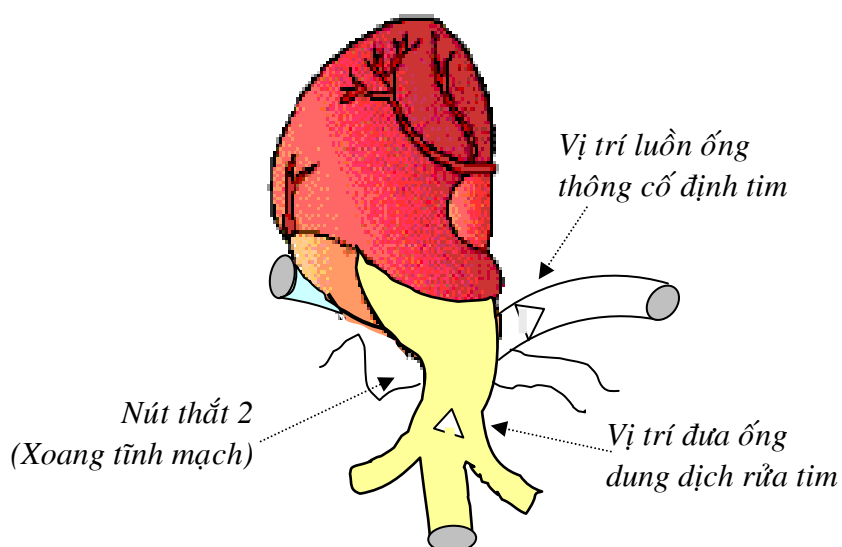
Luồn ống thông tim (Canuyn)

Ống thông tim chứa đầy dung dịch Ringer gắn với một kim thông tim. Luồn đầu kim thông tim qua vết cắt chữ V ở cung động mạch trái, dùng ngón tay đẩy nhẹ nhàng sao cho đầu kim vào tận tâm thất xuyên qua van nhĩ thất nằm trên vách nhĩ thất (lúc kim qua van thất – động ta nghe có tiếng “sặc” nhỏ là được). Buộc cung động mạch vào kim thông, kẹp chặt. Nâng cả ống thông tim lẫn tim lên, dùng kéo cắt tim khỏi lồng ngực, cắt các mạch và đưa tim với ống thông tim ra.

Chú ý: Cắt ngoài các nút chỉ, tránh làm tổn thương xoang tĩnh mạch, ở đây có hạch xoang tim rất quan trọng.



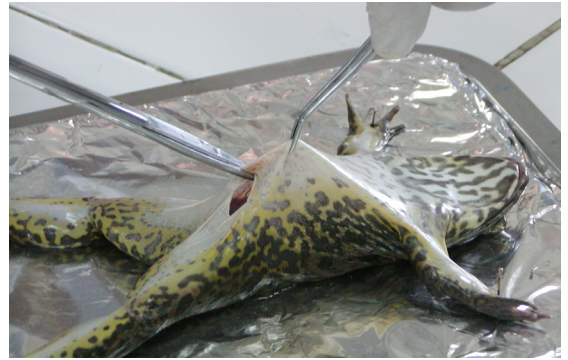
Hình 4.3. Các thao tác trên 2 cung động mạch



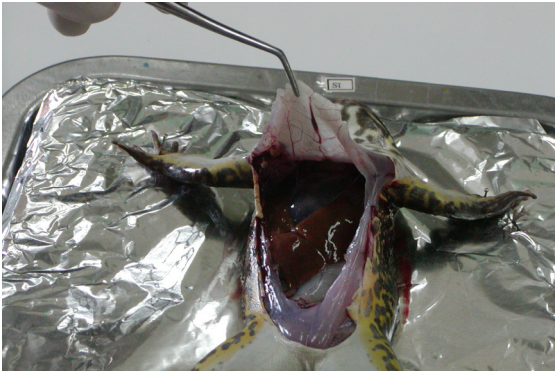
Hình 4.4. Lật ngược tim và thao tác trên xoang tĩnh mạch



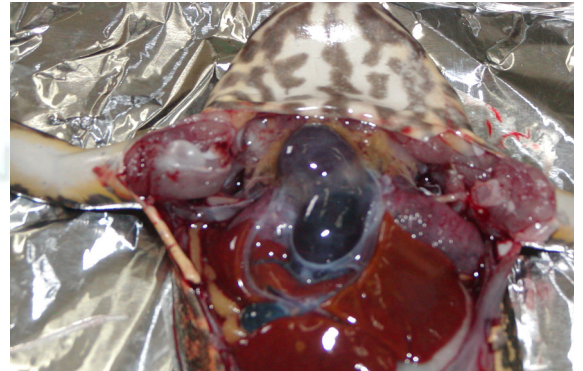
Ghim ếch lên khay giải phẫu



Giải phẫu lồng ngực

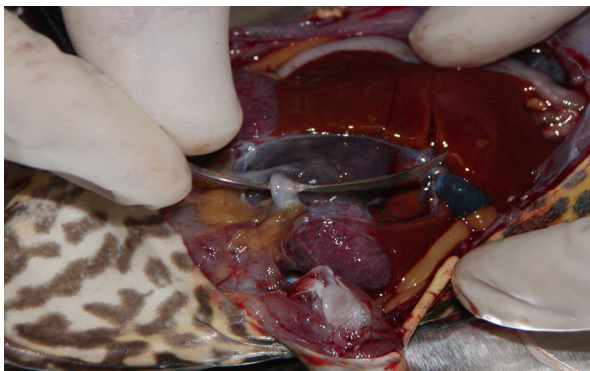


Thực hiện các đường cắt, bộc lộ lồng ngực

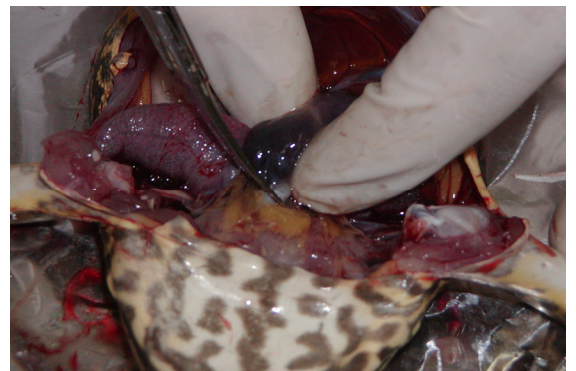


Cắt mang bao tim bộc lộ tim ra ngoài

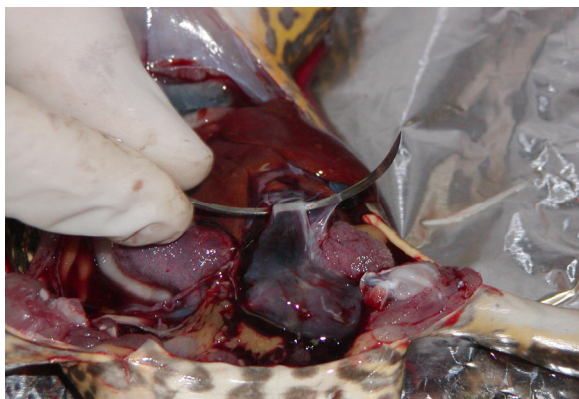
Hình 4.5. Các bước tiến hành giải phẫu lồng ngực



Luồn chỉ dưới cung động mạch phải



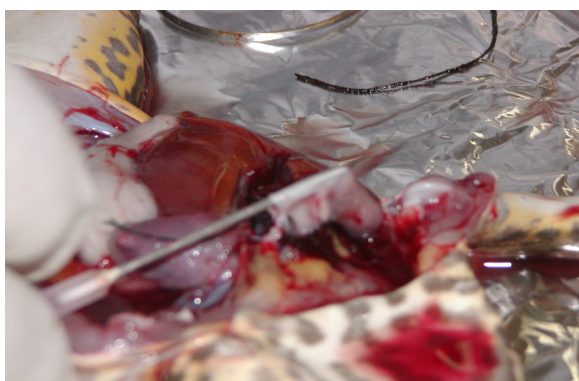
Cắt hình chữ V ở cung động mạch trái



Luồn chỉ dưới xoang tĩnh mạch



Rửa tim bằng dung dịch Ringer



Đưa kim vào cung động mạch trái



Thông tim qua van nhĩ thất

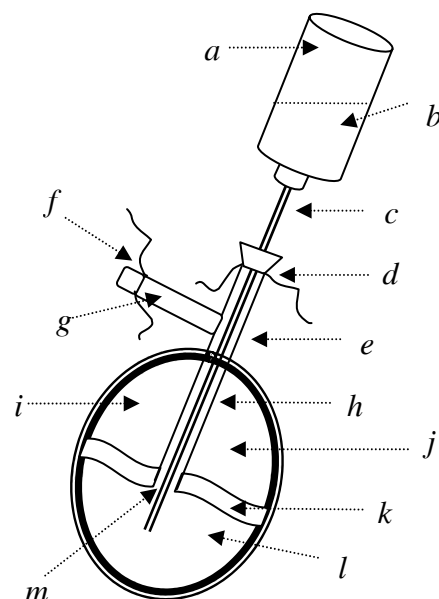
Hình 4.6. Thao tác luồn ống thông tim và cô lập tim khỏi cơ thể



Hình 4.7. Chế phẩm tim rời hoàn chỉnh

Hình 4.8. Sơ đồ của ống thông trong tim.

(a: Ống chích 10cc; b: Ringer; c: Ống thông tim; d: Nút thắt 3 hoặc kẹp; e: Động mạch chủ trái; f: Nút thắt 1; g: Động mạch chủ phải; h: Vách liên nhĩ; i: Tâm nhĩ phải; j: Tâm nhĩ trái; k: Vách nhĩ thất; l: Tâm thất; m: Van nhĩ thất.

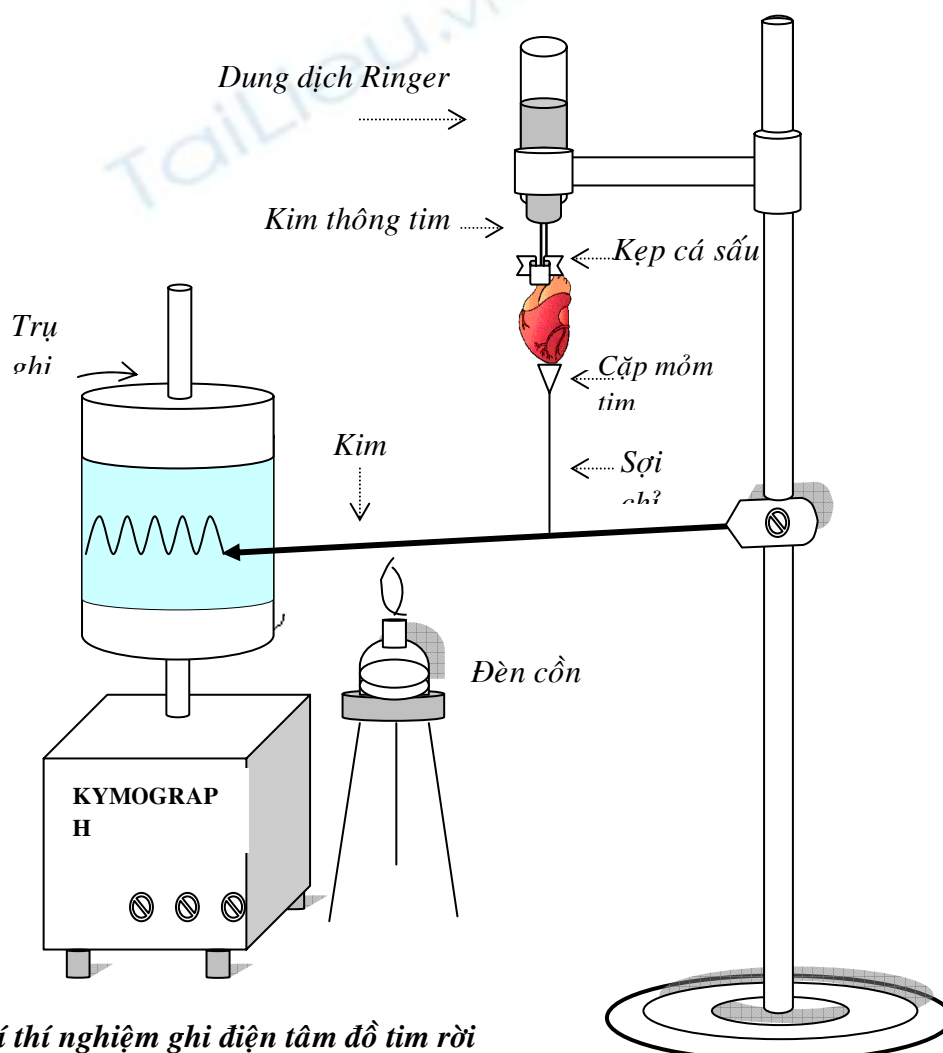


3. Thí nghiệm

Tim rời sau khi được cô lập co bóp làm cho mực nước trong ống thông tim chuyển động lên xuống (do các nút cột hở, có thể dung dịch nhỏ giọt ra ngoài nhiều, do vậy trong quá trình thí nghiệm cần theo dõi mực dung dịch trong ống chứa).

- Cố định tim rời lên giá ghi, ống thông tim lúc nào cũng chứa dung dịch Ringer ở mức độ 2/3 thể tích ống (5-6ml).

- Cặp kẹp mỏm tim vào cơ chóp dưới của tim sao cho không gây lủng thành cơ tim, kẹp mỏm tim được nối với kim ghi ở phía trước hệ thống đòn bẩy. Hoạt động co bóp của quả tim sẽ làm cho kim ghi di chuyển lên xuống. Kim ghi được đốt nóng bằng đèn cồn sẽ ghi lên giấy cảm nhiệt đồ thị hoạt động của tim rời.



Hình 4.9. Bố trí thí nghiệm ghi điện tâm đồ tim rời

- Ghi đồ thị hoạt động bình thường của tim trong 10 phút (với dung dịch Ringer).

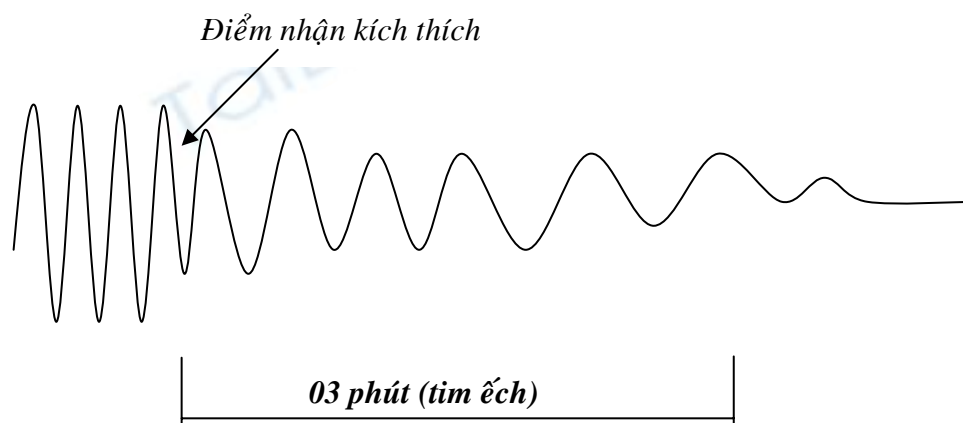
- Nhỏ một đến ba giọt dung dịch adrenalin vào giữa ống thông tim (chứa dung dịch Ringer). Quan sát hoạt động của tim rời dưới ảnh hưởng của adrenaline.

- Dùng pipette hút hết dung dịch trong ống thông tim, thay dung dịch Ringer mới, ghi đồ thị tim hoạt động lại sau đó nhỏ 3 - 5 giọt dung dịch CaCl_2 vào ống thông tim, quan sát sự co bóp của tim trên đồ thị.

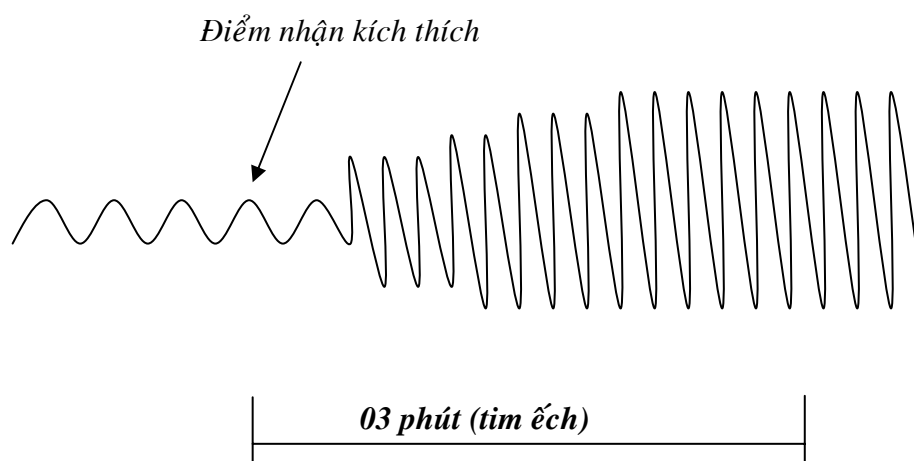
- Tiến hành thí nghiệm tương tự với 2 chất còn lại (KCl và acetylcholin)

- *Chú ý: Thí nghiệm với dung dịch adrenalin trước, dung dịch acetylcholin sau.*

- *Khi thử với một chất mới, phải thay dung dịch cũ (đổ bỏ dung dịch cũ) bằng dung dịch Ringer mới để cho đến khi tim hoạt động trở lại bình thường*



Hình 4.10. Tác dụng của Acetylcholin lên tim rời



Hình 4.11. Tác dụng của Adrenalin lên tim rời