

EVALUATION OF THE MYOCARDIAL CONTRACTILITY BY TRANSTHORACIC IMPEDANCE RHEOPLETHYSMOGRAPHY

М. И. Гуревич, Л. Б. Долман, А. В. Дмитриева

Modification of the noninvasive method is suggested to evaluate the cardiac contractility by transthoracic impedance rheoplethysmography, electro- and phonocardiography. The possibility to use this method for evaluating contractility is confirmed in experiments on dogs. It is shown that indices of rheoplethysmographic myocardial contractility significantly depend on different inotropic effects and is practically independent of the pre- and afterload differences. While comparing changes in invasive and noninvasive indices a very high correlation between them is revealed.

А. А. Богомолец Институт физиологии,
Академия наук Украины, Киев

1. Гуревич М. И., Соловьев А. И., Литовченко Л. П., Долман Л. Б. Импедансная реоплетизмография. — Киев: Наук. думка, 1982. — 175 с.
2. Душанин С. А., Копчак С. К., Трескунова Т. В. и др. Нейнвазивное определение растяжимости и изометрических индексов сократимости миокарда: Метод. рекомендации. — Киев, 1983. — 28 с.
3. Карпман В. Л. Фазовый анализ сердечной деятельности. — М.: Медицина, 1965. — 274 с.
4. Мойбенко А. А., Орлова Н. Н. Индексы сократимости миокарда // Физиол. журн. — 1978. — 24, № 6. — С. 839—848.
5. Мухарлямов Н. М., Дорофеева З. З., Пушкарь Ю. Т. Пределы и возможности некоторых нейнвазивных методов исследования в кардиологии // Терапевт. арх. — 1977. — № 6. — С. 6—11.
6. Палеев Н. Р., Каевицер И. М. Определение максимальной скорости повышения давления, индекса и резерва сократимости миокарда в комплексе гемодинамических исследований при гипертонической болезни // Кардиология. — 1975. — 15, № 5. — С. 77—83.
7. Kubicek W. G., Patterson R. R., Witsoe D. A. Impedance cardiography as a noninvasive method of monitoring cardiac function and other parameters of cardiovascular system // Annals N. Y. Acad. Sci. International conf. on Bioelectrical Impedance. — New York, 1970. — 170. — P. 724—732.
8. Siegel J., Fabien M. The quantification of myocardial contractility by impedance plethysmography // Fed. Proc. — 1968. — 27. — P. 445.
9. Veragut N. P., Krayenbuehl H. P. Estimation and quantification of myocardial contractility in the closed chest dog // Cardiologia. — 1965. — 47, N 1. — P. 96—112.

Ин-т физиологии им. А. А. Богомольца
АН УССР, Киев

Поступила 25.05.87

УДК 612.357.3:612.015.348

Механизмы нарушения желчеотделения при иммунной патологии плазматических мембран гепатоцитов

Н. В. Макогон

Наличие аутоиммунного компонента в патогенезе целого ряда заболеваний печени не вызывает сомнений [4]. В числе аутоантител к различным органеллам клетки печени обнаруживаются и антитела к плазматическим мембранам гепатоцитов. Так, в сыворотке крови больных первичным билиарным циррозом эти антитела встречаются в 100 % случаев, при хроническом активном гепатите — в 73 % [8]. Высока частота встречаемости аутоантител к специфическому липопротеину мембран печени: при персистирующем хроническом гепатите — в 56 % случаев, при остром вирусном гепатите — в 42 % [9].

Важным представляется изучение роли этих антител в нарушении функций печени и развитии заболевания, так как именно антигены кле-

точных мембран являются на гепатоцит. В литературе вопросу. Так, Butler [6] на плазматических мембран чеческого активного гепатит ческими антигенами не пр Физиологические аспекты тически не изучены.

Целью работы было ния при иммунной патологии на основе анализа изменений введения противомембран

Методика

Опыты проведены на 72 крысах к плазматическим мембранам г антимембранной гепатоцитотокс ным антигенам печени являлас кой сыворотки (γ-АГЦС). АМ зией везикул плазматических м bard и соавт. [7], и гомогенато в реакции связывания comple и выделяли γ-глобулиновую ф аммонием. В контрольных опы кроличьей сыворотки (γ-НКС).

Сбор желчи проводили (30 мг/кг) крысах через вста После операции животных оста тока, после чего определяли 4 мг белка на 100 г вводили в нутным интервалом фракциях лестерина [3], а также концент лизатора фирмы «Radelkis» (В еции Na⁺ и K⁺ отбирали из пед ения препаратов и через 5 и ров желчеотделения рассчитыв кислот, холестерина, ионов нат циент желчи.

Результаты обработаны с ления критерия Стьюдента, опр ний линейной регрессии методом

Результаты и их обсужден

Серологический анализ АМГЦС содержала значи мембранам (титр в реакци в 20—32 раза меньше кол ядрам не выявлены. Эт с антигенами плазматичес 1 : 80—1 : 100; тестикул — 1 : 50. АГЦС содержала а цитов, однако титр их бы реагирующих с гомогенато АГЦС может оказывать л на плазматические мембра не взаимодействует с внут

Гамма-глобулиновые с достоверное снижение об исходному значению во вс

точных мембран являются первой мишенью при аутоиммунной атаке на гепатоцит. В литературе имеются лишь единичные работы по этому вопросу. Так, Butler [6] показал, что иммунизация кроликов антигенами плазматических мембран гепатоцитов вызывала у них развитие хронического активного гепатита, в то время как иммунизация цитоплазматическими антигенами не приводила к аутоиммунной патологии печени. Физиологические аспекты действия противомембранных антител практически не изучены.

Целью работы было изучение механизма нарушения желчеотделения при иммунной патологии плазматических мембран гепатоцитов крыс на основе анализа изменений основных параметров желчетока после введения противомембранных гетероантител.

Методика

Опыты проведены на 72 крысах линии Вистар массой 200—330 г. В качестве антител к плазматическим мембранам гепатоцитов использовали гамма-глобулиновую фракцию антимембранной гепатоцитотоксической сыворотки (γ -АМГЦС), антителами к суммарным антигенам печени являлась гамма-глобулиновая фракция антигепатоцитотоксической сыворотки (γ -АГЦС). АМГЦС и АГЦС получали иммунизацией кроликов суспензией везикул плазматических мембран гепатоцитов крыс, выделенных по методу Hubbard и соавт. [7], и гомогенатом печени крыс соответственно. Титр антител определяли в реакции связывания комплемента. Иммунные сыворотки от 2—3 кроликов смешивали и выделяли γ -глобулиновую фракцию с помощью метода высаливания сернокислым аммонием. В контрольных опытах использовали γ -глобулиновую фракцию нормальной кроличьей сыворотки (γ -НКС).

Сбор желчи проводили в остром опыте на наркотизированных нембуталом (30 мг/кг) крысах через вставленную в желчный проток полиэтиленовую канюлю. После операции животных оставляли на 30 мин для стабилизации параметров желчетока, после чего определяли их исходное значение. Исследуемые препараты в дозе 4 мг белка на 100 г вводили в воротную вену печени крысы. В собранных с 10—30-минутным интервалом фракциях желчи определяли концентрацию желчных кислот и холестерина [3], а также концентрацию Na^+ и K^+ с помощью биологического микроанализатора фирмы «Radelkis» (Венгрия). Пробы крови для определения в них концентрации Na^+ и K^+ отбирали из печеночной вены в гепаринизированные капилляры до введения препаратов и через 5 и 15 мин после введения. В качестве основных параметров желчеотделения рассчитывали объемную скорость желчетока, секрецию желчных кислот, холестерина, ионов натрия и калия, а также холатохолестеринный коэффициент желчи.

Результаты обработаны статистически с применением разностного метода вычисления критерия Стьюдента, определением коэффициентов корреляции, а также уравнений линейной регрессии методом наименьших квадратов [5].

Результаты и их обсуждение

Серологический анализ полученных сывороток показал следующее. АМГЦС содержала значительное количество антител к плазматическим мембранам (титр в реакции связывания комплемента 1 : 200—1 : 320) и в 20—32 раза меньшее количество антител к митохондриям. Антитела к ядрам не выявлены. Эта сыворотка давала перекрестные реакции с антигенами плазматических мембран других органов: почек — в титре 1 : 80—1 : 100, тестикул — 1 : 50—1 : 80, селезенки и сердца — 1 : 20—1 : 50. АГЦС содержала антитела к плазматическим мембранам гепатоцитов, однако титр их был невелик (1 : 10), тогда как титр антител, реагирующих с гомогенатом печени, был 1 : 200—1 : 400. Следовательно, АГЦС может оказывать лишь незначительное специфическое действие на плазматические мембраны; АМГЦС специфична к ним и практически не взаимодействует с внутриклеточными органеллами.

Гамма-глобулиновые фракции обеих иммунных сывороток вызвали достоверное снижение объемной скорости желчетока по отношению к исходному значению во все сроки исследования (рис. 1), оказывая мак-

симальное действие в течение первых 10 мин после введения γ -АМГПС — от $45,4 \pm 2,2$ до $25,5 \text{ мкл} \cdot \text{мин}^{-1} \cdot \text{кг}^{-1} \pm 2,9 \text{ мкл} \cdot \text{мин}^{-1} \cdot \text{кг}^{-1}$, $P < 0,001$; γ -АГПС — от $42,8 \pm 4,1$ до $25,2 \text{ мкл} \cdot \text{мин}^{-1} \cdot \text{кг}^{-1} \pm 3,1 \text{ мкл} \cdot \text{мин}^{-1} \cdot \text{кг}^{-1}$, $P < 0,01$). При введении γ -АМГПС уменьшение желчетока в течение 60 мин было более выраженным, чем при действии γ -АГПС. γ -НКС достоверно снижала скорость желчетока, начиная лишь с 30-й минуты.

γ -АМГПС уменьшала секрецию желчных кислот на 42 % ($P < 0,01$) в течение первых 10 мин исследования, γ -АГПС — на 36 % ($P < 0,01$), γ -НКС — на 18 % ($P > 0,1$) (рис. 2). Уже начиная с 20-й минуты секре-

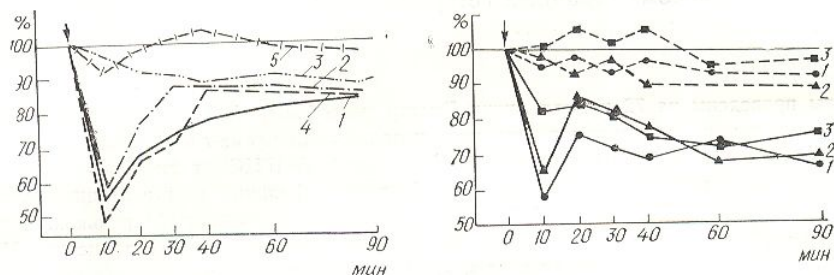


Рис. 1. Изменение объемной скорости желчетока (% исходного) у крыс после введения препаратов:

1 — γ -АМГПС, 2 — γ -АГПС, 3 — γ -НКС, 4 — фенкарот + γ -АМГПС, 5 — фенкарот + γ -АГПС. Здесь и на рис. 2 стрелкой показан момент введения препаратов.

Рис. 2. Изменение секреции желчных кислот (% исходного) и холатохолестеринового коэффициента (сплошная линия и пунктир соответственно) после введения препаратов: 1 — γ -АМГПС, 2 — γ -АГПС, 3 — γ -НКС.

ция желчных кислот в экспериментах с γ -АГПС не отличалась от контрольных значений, тогда как в опытах с γ -АМГПС она была на 11 % ниже ($P < 0,05$).

Экскреция холестерина уменьшалась параллельно изменениям секреции желчных кислот. Под влиянием γ -АМГПС это снижение, максимально выраженное в первые 10 мин действия антител (от $29,7 \pm 3,7$ до $19,2 \text{ мкг} \cdot \text{мин}^{-1} \cdot \text{кг}^{-1} \pm 3,0 \text{ мкг} \cdot \text{мин}^{-1} \cdot \text{кг}^{-1}$, $P < 0,001$), оставалось достоверным во все последующие сроки исследования. γ -АГПС также снижала секрецию холестерина от $27,1 \pm 3,0$ до $17,0 \text{ мкг} \cdot \text{мин}^{-1} \cdot \text{кг}^{-1} \pm \pm 2,7 \text{ мкг} \cdot \text{мин}^{-1} \cdot \text{кг}^{-1}$ ($P < 0,01$) за 10 мин. В дальнейшем (20—40 мин) ее действие было менее выраженным. Под влиянием γ -НКС этот показатель достоверно снижался только к концу исследования (60—90 мин). Холатохолестериновый коэффициент отражает интенсивность синтеза желчных кислот из холестерина в гепатоцитах. Достоверного снижения его значения не выявлено (см. рис. 2), следовательно, снижение секреции желчных кислот при действии антител не связано с подавлением их синтеза.

Из данных литературы известно, что введение экзогенного гистамина в кровотоки сопровождается уменьшением желчеобразования [2], вещество 48/80, высвобождающее гистамин из тучных клеток, действует сходным образом [1]. Для того чтобы дифференцировать изменения скорости желчетока и секреции желчных кислот, связанные с нарушением процессов, происходящих на плазматических мембранах гепатоцитов под влиянием антител, от изменений, вызванных гистамином, выделяющимся из тучных клеток, мы провели исследование с предварительным введением блокатора H_1 -рецепторов гистамина — фенкарота. Введение фенкарота ($0,5 \text{ мг}/100 \text{ г}$) в воротную вену за 10 мин до применения антител предотвращало снижение параметров желчетока при введении γ -АГПС ($P > 0,5$), тогда как введение γ -АМГПС в этих условиях уменьшало желчеток так же, как и без введения фенкарота (см. рис. 1). Таким образом, антитела к суммарным антигенам печени оказывают неспецифическое действие на желчеток, связанное, по-

видимому, с выделением наличи-ем в их пуле антител точным элементам печени от γ -АГПС антитела к п-ют на желчеток, изменяя

Установлено наличие желчных кислот и объемной секреции 0,83 ($P < 0,01$) ($P < 0,01$) и 0,43 ($P < 0,01$) зависимости скорости желчетока от секреции желчных кислот — период максимального эффекта антител $y = 13,0 + 0,121x$ при γ -АМГПС; $y = 17,2 - \text{АГПС}$ и $y = 19,8 + 0,10x$. Коэффициент a в этих уравнениях отражает неза-

Рис. 3. Изменение концентрации (II) в желчи и экскреции K^+ (% исходного, в течение 10 мин) препаратов:

1 — γ -АМГПС, 2 — γ -АГПС, 3 — γ -НКС.

желчных кислот ток же секреции, достоверно ниже ($P < 0,01$) и γ -НКС ($P < 0,01$) ных кислот на 1 мкг соотношения b) на 0,121 м под влиянием γ -АГПС. Поскольку сходное действие этих антител на желчеток и секрецию желчных кислот, скорее всего, обусловлено общим механизмом: большей мере влияют на проницаемость мембраны антител от желчных кислот.

Для изучения независимости концентрации Na^+ и K^+ препараты увеличивали концентрацию Na^+ и K^+ в крови и желчи при про-ляли их концентрацию в после введения препаратов. Различий не обна-

Таким образом, увеличение секреции желчных кислот в кровяной плазме и глобулиновой фракции K^+ , и нормальной кро-и этого показателя.

Концентрация Na^+ в желчи всех препаратов. М желчетока выявлена прямая зависимость корреляции $r = 0,94$, $P < 0,01$, для γ -НКС регрессии зависимости скорости желчетока от скорости секреции желчных кислот ($y = 4,2 + 5,5x$) γ -АГПС существует об-свидетельствует об изме-жидкой части желчи под-

видимому, с выделением гистамина. Этот эффект может объясняться наличием в их пуле антител не только к паренхиме, но и к другим клеточным элементам печени, в частности к тучным клеткам. В отличие от γ -АГЦС антитела к плазматическим мембранам гепатоцитов влияют на желчеток, изменяя процессы, связанные с функцией мембраны.

Установлено наличие прямой коррелятивной связи между секрецией желчных кислот и объемной скоростью желчетока с коэффициентом корреляции 0,83 ($P < 0,01$) при введении γ -АМГЦС, 0,84 — γ -АГЦС ($P < 0,01$) и 0,43 ($P < 0,1$) — γ -НКС. Уравнение линейной регрессии ($y = a + bx$) зависимости скорости желчетока от секреции желчных кислот за 30 мин — период максимально выраженного эффекта антител — имело вид $y = 13,0 + 0,121x$ при действии γ -АМГЦС; $y = 17,2 + 0,064x$ — γ -АГЦС и $y = 19,8 + 0,103x$ — γ -НКС. Коэффициент a в этих уравнениях, который отражает независимый от

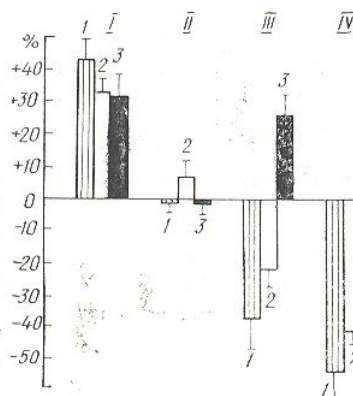


Рис. 3. Изменение концентрации K^+ (I), Na^+ (II) в желчи и экскреции K^+ (III), Na^+ (IV), % исходного, в течение 10 мин после введения препаратов: 1 — γ -АМГЦС, 2 — γ -АГЦС, 3 — γ -НКС.

желчных кислот ток желчи при теоретическом нулевом значении их секреции, достоверно ниже при введении γ -АМГЦС, чем γ -АГЦС ($P < 0,01$) и γ -НКС ($P < 0,02$). В то же время изменению секреции желчных кислот на 1 мкг соответствует изменение скорости желчетока (коэффициент b) на 0,121 мкл под влиянием γ -АМГЦС и на 0,064 мкл — под влиянием γ -АГЦС. Полученные результаты свидетельствуют о том, что сходное действие этих препаратов на желчеток опосредуется различными механизмами: антитела к суммарным антигенам печени в большей мере влияют на зависимый от желчных кислот желчеток, а противомембранные антитела преимущественно уменьшают независимую от желчных кислот фракцию желчи.

Для изучения независимого от желчных кислот желчетока определяли концентрацию Na^+ и K^+ в желчи и их экскрецию (рис. 3). Все препараты увеличивали концентрацию K^+ в желчи, но несколько более выраженными эти изменения были при действии γ -АМГЦС. Принимая во внимание возможность уравнивания концентраций ионов Na и K в крови и желчи при прохождении желчи по билиарному дереву, определяли их концентрацию в крови, оттекающей от печени, через 5 и 15 мин после введения препаратов. Ни при одном из видов воздействий существенных различий не обнаружено.

Таким образом, увеличение концентрации K^+ в желчи не связано с ее увеличением в крови. Выявлено разнонаправленное действие гамма-глобулиновых фракций иммунных сывороток, снижающих экскрецию K^+ , и нормальной кроличьей сыворотки, которая вызывает увеличение этого показателя.

Концентрация Na^+ в желчи практически не изменялась при введении всех препаратов. Между изменениями экскреции Na^+ и скорости желчетока выявлена прямая связь с высокой степенью корреляции (коэффициент корреляции для γ -АМГЦС — 0,98, $P < 0,001$; для γ -АГЦС — 0,94, $P < 0,01$, для γ -НКС — 0,97, $P < 0,01$). Уравнения линейной регрессии зависимости скорости желчетока от экскреции Na^+ при действии γ -АГЦС ($y = 4,2 + 5,5x$) и γ -НКС ($y = 4,8 + 5,7x$) сходны, тогда как γ -АМГЦС существенно снижает коэффициент a ($y = 1,2 + 6,3x$), что свидетельствует об изменении Na^+ -зависимого механизма секреции жидкой части желчи под влиянием противомембранных антител.

Полученные результаты показывают, что иммунное повреждение плазматических мембран гепатоцитов приводит к нарушению желчеотделения, выражающемуся в снижении скорости желчетока, секреции желчных кислот, экскреции холестерина, а также Na^+ и K^+ с желчью. Механизм действия противомембранных антител не связан с влиянием гистамина, как в случае применения антител к суммарным антигенам печени. Взаимодействие антител с антигенами плазматических мембран гепатоцитов приводит к нарушению транспорта желчных кислот и неорганических ионов через мембраны, причем в большей мере страдает независимый от желчных кислот желчеток.

MECHANISMS OF BILE SECRETION DISTURBANCE WITH IMMUNE PATHOLOGY OF PLASMA MEMBRANES IN HEPATOCYTES

N. V. Makogon

Immune injury of plasma membranes in the rat hepatocytes induced by antimembrane antibodies causes bile secretion disturbances: a decrease of the bile flow rate as well as a fall of bile acids secretion, cholesterol and Na^+ , K^+ excretion with bile. Unlike the case of antibodies applied to total liver antigens a mechanism of the antimembrane antibodies action on the bile flow is independent of the histamine effect. Interaction of antibodies with antigens of plasma hepatocyte membranes disturbs transport of bile acids and inorganic ions through membranes, bile-acid-independent bile flow suffering to a greater extent.

A. A. Bogomoletz Institute of Physiology,
Academy of Sciences of the Ukrainian SSR, Kiev

1. Алексеева И. Н. Механизмы нарушения и восстановления функций печени противопеченочными антителами: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук.— Киев, 1981.—21 с.
2. Венгерт И. К. Влияние гистамина на желчеотделительную функцию печени при острой лучевой болезни // Вопросы экспериментальной и клинической гепатологии.— Тернополь, 1976.— С. 14—15.
3. Громашевская Л. Л., Мирошниченко В. П., Касаткина М. Г. Определение общего содержания желчных кислот и холестерина на ФЭК // Методические рекомендации по определению желчных кислот, холестерина, холато-холестеринового коэффициента желчи.— Киев: Изд-во МЗ УССР, 1982.—24 с.
4. Система иммунитета при заболеваниях внутренних органов.— Киев: Здоров'я, 1985.—280 с.
5. Тейлор Дж. Введение в теорию ошибок.— М.: Мир, 1985.—134 с.
6. Butler R. C. Studies on experimental chronic active hepatitis in the rabbit. I. Induction of the disease by immunisation with muscle as well as liver proteins // Brit. J. Exp. Pathol.—1984.—65, N 4.— P. 499—508.
7. Hubbard A. L., Wall D. A., Ma A. Isolation of rat hepatocyte plasma membranes // J. Cell Biology.—1983.—96, N 1.— P. 217—229.
8. Lee W. M., Martin Kulie L., Shelton Linda L., Galbraith R. M. Hepatic membrane antibodies: Studies of prevalence and specificity // Clin. and Exp. Immunol.—1985.—62, N 3.— P. 715—723.
9. Manns M., Buschenfelde K. H., Meyerzum H., Hess G. Autoantibodies against liver-specific membrane lipoprotein in acute and chronic liver diseases: studies on organ-, species-, and disease-specificity // Gut.—1980.—21, N 11.— P. 955—961.

Ин-т физиологии им. А. А. Богомольца
АН УССР, Киев

Поступила 29.08.87

УДК 612.34:616.37

Роль кальция в экстружии ацинарными клетками

М. Я. Гринькив, М. Ю. Клевенц

Холинэргический механизм деятельности ацинарных и вторичным посредником в внутриклеточном уровне стимуляции выделения ф-повышение концентрации относительно соотношения а также участия в экстружии [13, 15, 18, 25] входа Ca^{2+} из внеклеточн. Перечисленные вопросы в данной статье.

Методика

Исследования проведены на белых крыс, получаемой с пом-ности экстружии ферментов от-чество CaCl_2 в растворе Кр (100 ммоль/л) готовили добав-ной 100 ммоль/л NaCl та- (26,3 ммоль/л) содержал соот-лов MnCl_2 (10^{-4} моль/л) и ве-створе NaCl и вносили по 0,1-растворили в этаноле, а затем-этанола составляла не более 0-количество спирта. В качестве-вали карбахалин (КХ) в конц-выделение в инкубационную ср-тов — и липазы. Экстружию фе-ду приростом ферментативной-рованных ацинусов и суммарн-лизата [22]. Аналогично оцен-по методу Смита и Рое в мод-Бонди в модификации Рожков-те — по методу Лоури [17].-тистически с определением коэф-

Результаты

Зависимость экстружии от
В первой серии опытов КХ на экстружию белка, концентрации экстрацеллюлярной концентрации CaCl_2 1,28 нормально функционирующую [27]. Каждая следу-дыдущей. Концентрация, означает, что в инкубации устранения Ca^{2+} во внеклет-ЭГТА (10^{-4} моль/л). Пок-рузии белка, амилазы и-от концентрации внеклет- (см. рис. 1). При увеличе-