

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РСФСР
СВЕРДЛОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ

На правах рукописи

Н. А. БРОДЯГИН

**О ВЛИЯНИИ ГИАЛУРОНИДАЗЫ
И ЕЕ НЕСПЕЦИФИЧЕСКИХ ИНГИБИТОРОВ
НА ЖЕЛЧЕОБРАЗОВАТЕЛЬНУЮ
ФУНКЦИЮ ПЕЧЕНИ**

(14.766 — нормальная физиология)

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

г. Свердловск — 1969

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РСФСР
СВЕРДЛОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ

На правах рукописи

Н. А. БРОДЯГИН

О ВЛИЯНИИ ГИАЛУРОНИДАЗЫ
И ЕЕ НЕСПЕЦИФИЧЕСКИХ ИНГИБИТОРОВ
НА ЖЕЛЧЕОБРАЗОВАТЕЛЬНУЮ
ФУНКЦИЮ ПЕЧЕНИ

(14.766 — нормальная физиология)

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

г. Свердловск. — 1969

Работа выполнена на кафедре нормальной физиологии Тюменского государственного медицинского института (ректор — доцент Е. А. Жуков).

Научный руководитель — доктор медицинских наук, профессор Г. Е. Сабуров.

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор Р. С. Орлов

кандидат медицинских наук, доцент Л. А. Подсосов.

Отзыв дан Свердловским НИИ гигиены труда и профпатологии Минздрава РСФСР.

Автореферат разослан *«17» января* 1970 г.

Защита диссертации состоится *«17»* 1970 года на заседании медико-биологического Ученого совета Свердловского государственного медицинского института (Свердловск, ул. Репина, 3).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке медицинского института (адрес: Свердловск, ул. Ермакова, 7).

Ученый секретарь Совета
доцент А. П. Боярский

Хотя эта жидкость (желчь — Н. Б.) давно известна, она еще очень мало изучена и именно, пожалуй, потому, что слишком давно известна. Тогда были слишком несовершенные способы исследований, а теперь ею не интересуются, все берутся за новые, неисследованные вещи.

И. П. Павлов, Лекции по физиологии, 1912—1913.

Изучение желчеобразования различными методами позволило ряду авторов (Хебер, Люис, Хейвуд, Кук, Брауэр, Спербер) признать наличие трех процессов, участвующих в формировании желчи: активной секреции печеночными клетками специфических субстанций желчи (билирубин, желчные кислоты, холестерин), транс- и интерцеллюлярной фильтрации из крови в желчь воды и низкомолекулярных веществ плазмы (калий, натрий, глюкоза, хлор), а также реабсорбции воды и ряда компонентов желчи при ее прохождении по системе желчевыносящих протоков.

Исследованиями Б. Е. Есипенко, В. В. Романенко, Чендорвича выявлено участие печени в осморегулирующих процессах организма. Желчеотделение, по их мнению, способствует удалению из организма излишних количеств воды и солей.

В деятельности всех водовыделительных органов большое значение придается системе гиалуроновая кислота-гиалуронидаза. В частности, эта система, согласно исследованиям А. Г. Гинецинского, имеет непосредственное отношение к процессу реабсорбции осмотически свободной воды в дистальных частях нефрона. Фишер высказал предположение, что всасыва-

ние воды из желчного пузыря происходит по аналогии с реабсорбцией в печеночных каналах. Участие системы гиалуроновая кислота-гиалуронидаза в регуляции всасывания воды из желчного пузыря показано Г. Б. Мхитаровой в опытах на изолированных желчных пузырях.

Следует отметить, что печеночные тканевые экстракты, по данным Л. Г. Ивановой, имеют более высокую гиалуронидазную активность по сравнению с экстрактами других внутренних органов. В последние годы появились также сведения о содержании гиалуронидазы в лизосомах печеночных клеток (Эрейсон, Дэйвидсон).

Учитывая, что печень посредством желчеотделения участвует в процессах водовыделения и что в осуществлении этой функции определенное значение придается во всех осморегулирующих органах, системе гиалуроновая кислота—гиалуронидаза, нами поставлена задача изучить участие этой системы в механизмах желчеобразования.

В предварительной серии опытов была изучена гиалуронидазная активность желчи различных видов животных. Затем в хронических опытах на собаках и в острых опытах на крысах исследовалось влияние фермента гиалуронидазы и его неспецифических ингибиторов — гепарина, липольфена и аскорбиновой кислоты на желчеобразовательную функцию печени.

Для определения содержания гиалуронидазы в желчи мы использовали вискозиметрический метод. Оказалось, что пузырная желчь пяти различных видов животных — лягушек, кур, собак, свиней, быков, а также печеночная желчь крыс содержит значительное количество гиалуронидазы. В доступной литературе мы не обнаружили сведений о содержании в желчи гиалуронидазы. Наши эксперименты показали, что фермент гиалуронидаза содержится в желчи земноводных, птиц и млекопитающих, что свидетельствует о широком распространении этого энзима в желчи различных животных. Наличие гиалуронидазы в желчи крыс, у которых не имеется желчного пузыря, доказывает, что фермент проникает в желчь на уровне внутрипеченочных желчных ходов. Сам факт, что гиалуронидаза содержится в желчи многих видов животных, свидетельствует, по нашему мнению, в пользу предположения об участии системы гиалуроновая кислота—гиалуронидаза в интимном механизме холереза. Установив присутствие в желчи гиалуронидазы, мы приступили к изучению влияния на желчеобразование неспецифических ингибиторов гиалуронидазы—

гепарина, пипольфена и аскорбиновой кислоты. Общим свойством всех этих веществ является способность угнетать действие гиалуронидазы.

В первой серии хронических опытов на собаках с фистулой желчного пузыря по Шванну исследовали влияние гепарина (1000 ед/кг веса), пипольфена (5 мг/кг веса) и аскорбиновой кислоты (18—36 мг/кг веса) на спонтанное желчеотделение. Ингибиторы, как правило, вводили внутривенно после контрольного часа опыта и затем желчь собирали в течение четырех часов. Желчеобразование учитывалось в мл в часовых порциях, в общих порциях желчи, полученных за пять часов, исследовали гиалуронидазную активность вискозиметрическим методом, содержание плотного остатка, желчных кислот по Шире-Куни, билирубина по Ван ден Бергу и холестерина по В. А. Энгельгардту и Л. Г. Смирновой.

Изучение желчеотделения в контрольные дни показало незначительные изменения количества образующейся желчи на протяжении всех часов эксперимента по сравнению с первым часом. Как правило, желчеобразование снижалось к концу опыта. Изучение гиалуронидазной активности желчи у собаки «Буська» показало зависимость между уровнем холереза и гиалуронидазной активностью. При небольшом уровне секреции желчи гиалуронидазная активность была выше по сравнению с высоким холерезом. Так, при холерезе 0,086 мл/мин. активность была равна 48,2 ус. ед., при 0,092 мл/мин.—40,0 ед., при 0,123 мл/мин.—18 ед. Выявленная взаимозависимость между способностью желчи деполимеризовать комплексы гиалуроновой кислоты и размером холереза, как показали опыты с разбавлением желчи дистиллированной водой, обусловлена различной интенсивностью выделения фермента в желчевыносящие пути. При низком желчеобразовании гиалуронидазная активность желчи остается относительно высокой, даже если ее разбавить дистиллированной водой. Уменьшение гиалуронидазной активности желчи при возрастании холереза происходит за счет снижения выделения гиалуронидазы в просвет желчевыносящих путей.

Внутривенное введение неспецифических ингибиторов гиалуронидазы собакам с фистулой желчного пузыря, как правило, приводило к усилению спонтанного желчеотделения.

У собаки «Буська» в первый час после введения гепарина желчеотделение усилилось на 45% ($P < 0,01$) по сравнению с исходным часом, а у собаки «Лисенок» на 18%. За пять часов опыта количество образующейся желчи увеличилось у собаки

«Буська» после инъекции гепарина на 11,2% ($P < 0,01$) по сравнению с контрольными днями, а у собаки «Лисенок» на 11,5% ($P < 0,01$). Параллельно увеличению количества образующейся желчи происходило снижение содержания в желчи плотных веществ, холатов, холестерина и билирубина.

В ответ на введение пипольфена желчеобразование в первый час у собаки «Вольф» снизилось на 65% ($P < 0,05$), у собаки «Лисенок» на 28%, у собаки «Буська» на 17% ($P < 0,05$). Желчеотделение у собаки «Лисенок» за пять часов опыта после введения пипольфена увеличилось по сравнению с контрольными днями на 6,9% ($P < 0,05$), у собаки «Вольф» — на 34,8% ($P < 0,05$). Содержание плотных веществ желчи в общих порциях уменьшилось по сравнению с контрольными днями у собаки «Лисенок» на 17,0% ($P < 0,01$) и у собаки «Вольф» на 20% ($P < 0,05$). Выделение с желчью желчных кислот, билирубина, а также холестерина после введения пипольфена незначительно снижалось по сравнению с контрольными днями.

Введение низкомолекулярного ингибитора гиалуронидазы — аскорбиновой кислоты вызывало усиление желчеотделения в течение первого и второго часов опыта у всех собак. Так, у собаки «Черный» введение аскорбината натрия вызвало увеличение количества образующейся желчи в первый час опыта на 87% и во второй час — на 89% ($P < 0,05$). У собаки «Ральф» наблюдалось соответственно увеличение желчеотделения на 67 и на 80% ($P < 0,05$) по отношению к исходному часу; у собаки «Лисенок» на 25,0 и на 65,0% ($P < 0,05$), а у собаки «Вольф» на 15,0 и на 54,0% ($P < 0,05$). Количество образующейся желчи за пять часов опыта увеличилось, по сравнению с контрольными днями, у собаки «Черный» на 19,4% ($P < 0,05$), у собаки «Ральф» — на 33,1% ($P < 0,05$).

Содержание плотного остатка в общих порциях после введения аскорбиновой кислоты уменьшилось у собаки «Черный» на 18,2%, у собаки «Ральф» — на 25% ($P < 0,05$). У собак «Вольф» и «Лисенок» плотный остаток в общих порциях желчи увеличился незначительно по сравнению с контрольными днями.

Выделение желчных кислот с желчью после введения аскорбиновой кислоты уменьшилось у собаки «Ральф» на 18,4% и у собаки «Черный» на 40,7% ($P < 0,01$), у собак «Вольф» и «Лисенок» наблюдалось незначительное увеличение в выделении с желчью холатов.

Выделение билирубина с желчью у собаки «Черный» увеличилось на 31,3% ($P < 0,05$), у собаки «Вольф» — на 32,9% ($P < 0,01$) и у собаки «Ральф» — на 42,6% ($P < 0,05$). Выделение холестерина с желчью после инъекции аскорбиновой кислоты уменьшилось у собаки «Лисенок» на 42% ($P < 0,05$) и у собаки «Черный» — на 40,5% ($P < 0,05$). У собаки «Ральф» содержание в желчи холестерина увеличилось на 12% и у собаки «Вольф» — на 32,6% ($P < 0,05$).

Таким образом, введение аскорбиновой кислоты усиливает спонтанное желчеотделение в течение первого и второго часов опыта. Действие этого ингибитора, в отличие от пипольфена и гепарина, более сильное и продолжительное. Выделение с желчью желчных кислот, билирубина и холестерина после введения аскорбиновой кислоты подвергается значительным колебаниям как в сторону снижения, так и увеличения. При этом билирубиновыделительная функция печени, как правило, усиливается. Выделение желчных кислот с желчью и холестерина после инъекции аскорбиновой кислоты имеет тенденцию к снижению.

Гиалуронидазная активность желчи после введения всех ингибиторов гиалуронидазы — гепарина, пипольфена и аскорбиновой кислоты — изучена у собаки «Буська». При этом выявлена следующая закономерность: гиалуронидазная активность порций желчи, собранных после введения каждого ингибитора, оказывалась сниженной. Так, при желчеотделении 0,07—0,08 мл/мин. гиалуронидазная активность порций желчи контрольных дней была равна 48,2—42,3 ед., активность порций желчи, собранных после введения гепарина, при таком же уровне желчеотделения, равнялась 15,0—5,0 ед. При холерезе 0,095—0,115 мл/мин. гиалуронидазная активность порций желчи в контрольных днях была равна 38,2—33,6 ед., в то время как после введения пипольфена она была равна 4,0—5,0 ед. При желчеотделении 0,11—0,15 мл/мин. ферментативная активность порций желчи в контрольные дни колебалась от 33,6 до 9,0 ед., в дни введения аскорбиновой кислоты гиалуронидазная активность соответственно была в пределах 7,8—6,2 ед.

Таким образом, введение каждого ингибитора гиалуронидазы вызывало снижение гиалуронидазной активности желчи по сравнению с контрольными днями. Снижение гиалуронидазной активности желчи после инъекций аскорбиновой кислоты и пипольфена проявляется в большей степени, чем после инъекции гепарина. Действие всех ингибиторов гиалуронидазы связано, по-видимому, с уменьшением выделения фермента

в желчевыносящие пути. Следует отметить, что зависимость гиалуронидазной активности от размера холереза в дни введения ингибиторов также сохранялась.

В дальнейших экспериментах было изучено влияние неспецифических ингибиторов гиалуронидазы на «пищевое» желчеотделение. У собаки «Верный» в контрольных опытах после скармливания мяса определялась гиалуронидазная активность желчи. При пищевой секреции желчи, как и при спонтанной, существует зависимость между размером холереза и способностью желчи деполимеризовать комплексы гиалуроновой кислоты. Так, при уровне желчеотделения 0,12 мл/мин. гиалуронидазная активность желчи была равна 17,4 ед., при 0,14 мл/мин.—8,3 ед., при 0,17 мл/мин.—4,8 ед., при 0,19 мл/мин.—3,5 ед. Следовательно, возрастание холереза происходит параллельно снижению гиалуронидазной активности желчи.

Введение гепарина (1000 ед/кг веса) после кормления вызывало характерные изменения пищевой секреции. При кормлении молоком и введении гепарина у собаки «Лотос» достижение максимума секреции желчи наступало во второй час. В этот период секреция желчи на 32,29% превысила исходный уровень. Количество желчи, образующейся за пять часов, у собаки «Лотос» было выше контрольного периода на 6,89%. Содержание в желчи билирубина, плотного остатка и холатов при этом снижалось.

При кормлении мясом и введении гепарина желчеотделение у собаки «Верный» усиливалось в первый час на 11,39%, а у собаки «Лотос» — на 32% ($P < 0,05$) по сравнению с исходным уровнем. Достижение максимума секреции желчи в этих опытах происходило в первый час, в то время как в контрольные дни пик секреции наблюдался во второй час опытов. Количество плотных веществ желчи, а также содержание в ней желчных кислот снижалось от первого к последнему часу эксперимента. Корреляционная зависимость между количеством образующейся желчи, процентом плотного остатка и содержанием в ней холатов в часы максимального желчеотделения в опытах с пищевой секрецией и введением гепарина становилась, в отличие от контрольных дней, обратной криволинейной.

Анализ опытов показал, что гепарин оказывает выраженное влияние на пищевое желчеотделение — усиливает отделение желчи в течение эксперимента, при этом содержание плотных веществ в ней уменьшается. В часы, соответствующие максимальному подъему желчеотделения, выделение желчных

кислот, как правило, уменьшается. В общих порциях желчи за пять часов опыта содержание холатов, билирубина и плотного остатка снижалось.

Введение другого ингибитора гиалуронидазы — пипольфена также оказывало влияние на пищевое желчеотделение. Кормление молоком и введение пипольфена у собаки «Лотос» вызывало значительное увеличение желчеотделения в течение всех часов эксперимента: в первый час — на 54,8% ($P < 0,1$), а во второй — на 60,3% ($P < 0,05$) по отношению к исходному уровню. Содержание плотного остатка, а также выделение с желчью холатов при этом значительно уменьшалось. Следует также отметить, что между количеством образующейся желчи и содержанием в ней холатов и плотного остатка устанавливается обратная криволинейная зависимость, в отличие от прямой криволинейной в контрольных опытах. Аналогичные изменения желчеотделения отмечались у собаки «Верный».

Количество желчи, образующейся за пять часов опыта, не подвергалось существенным изменениям по сравнению с контрольными днями. У всех собак после кормления молоком и введения пипольфена повысилось выделение с желчью билирубина — у собаки «Верный» на 13,8%⁰, у собаки «Лотос» — на 66,9% ($P < 0,05$) и у собаки «Амур» — на 99,7%⁰ ($P < 0,01$). Выделение холатов в пятичасовых порциях желчи у собаки «Лотос» практически не изменилось, а у собаки «Верный» снизилось на 21,6%⁰ ($P < 0,05$).

При кормлении мясом и введении пипольфена количество образующейся желчи увеличилось у собаки «Лотос» на 60% в первый час опыта по отношению к исходному часу; у собаки «Пальма» на 29%⁰. Выделение с желчью холатов и содержание плотного остатка у этих животных непрерывно снижалось по отношению к контрольному часу на протяжении всего эксперимента. Корреляционную зависимость этих показателей по отношению к количеству образующейся желчи можно охарактеризовать как обратную криволинейную. Количество желчи, образующейся за пять часов опыта, при кормлении мясом и введении пипольфена, увеличилось у собаки «Лотос» на 12,9%⁰ ($P < 0,05$), а у собаки «Пальма» — на 73%⁰ ($P < 0,05$) по отношению к контрольным дням. Содержание билирубина в общих порциях желчи повысилось у собаки «Пальма» на 58,2%⁰ ($P < 0,05$) и практически не изменилось у собаки «Лотос».

Выделение холатов уменьшилось на 46,5%⁰ ($P < 0,05$) у собаки «Лотос», плотный остаток в общих порциях желчи сни-

зился при этом на 22,1% ($P < 0,05$) по отношению к контрольным дням. У собаки «Пальма» выделение с желчью холатов повысилось на 17%, содержание плотных веществ уменьшилось при этом на 14,8% ($P < 0,01$).

Действие пипольфена на пищевое желчеотделение развивается через 15 минут после введения этого ингибитора. Подобное действие после введения гепарина развивается через 30 минут, что можно связать с более крупным размером молекул гепарина в сравнении с пипольфеном. Следует отметить, что пипольфен как ингибитор гиалуронидазы оказывает выраженное усиливающее влияние на желчеотделительную функцию печени. В основном, это действие сходно с действием гепарина — происходит увеличение жидкой фазы желчи как в течение всех часов эксперимента, так и в общих порциях желчи со снижением содержания плотного остатка и, как правило, уменьшением выделения холатов.

В последующих экспериментах изучено влияние аскорбиновой кислоты на пищевое желчеобразование. Кормление молоком и введение аскорбиновой кислоты вызвало усиление желчеобразования у всех подопытных животных. Так, у собаки «Амур» в первый час количество образующейся желчи увеличилось на 98%, во второй час — на 150%; у собаки «Лотос» в первый час — на 49,5% ($P < 0,05$) и во второй — на 64,5% ($P < 0,05$); у собаки «Верный», соответственно, на 133% ($P < 0,05$) и 162% ($P < 0,01$). Процент плотного остатка желчи повышался в первый час у всех животных и затем снижался до исходного уровня. Содержание холатов непрерывно уменьшалось на протяжении всех часов эксперимента. Количество желчи, образующейся за пять часов, незначительно снижалось у всех собак. Абсолютное содержание холатов и билирубина, в общих порциях у собаки «Амур» и «Лотос» имело тенденцию к снижению в сравнении с контрольным периодом.

При использовании в качестве пищевого раздражителя мяса и введении аскорбиновой кислоты у собаки «Пальма» желчеотделение усиливалось на 85% в первый час и на 91% ($P < 0,01$) во второй по отношению к исходному уровню. У собаки «Лотос» и «Верный» после внутримышечной инъекции аскорбиновой кислоты желчеотделение снижалось в первый час и повышалось во второй соответственно — на 104 и на 24% ($P < 0,05$). Корреляционная зависимость между количеством образующейся желчи и содержанием в ней холатов, а также плотного остатка становилась обратной криволинейной,

Количество желчи, образующейся за пять часов повышалось у собаки «Пальма» на 78,9% ($P < 0,05$) и незначительно увеличивалось у собак «Верный» и «Лотос». Процент плотного остатка в общих порциях желчи значительно снижался: у собаки «Пальма» — на 26,8% и у собаки «Лотос» — на 11,8%. Содержание холатов при этом у собаки «Лотос» снижалось на 31% и билирубиновыделение на 46,5% по сравнению с контрольными днями. У собаки «Пальма» секреция холатов повышалась на 22% ($P < 0,05$) и у собаки «Верный» — на 93% ($P < 0,01$). Концентрация билирубина общих порций желчи у собаки «Пальма» повышалась на 78,9% ($P < 0,05$) и у собаки «Верный» — на 7,4%.

Таким образом, проведенные опыты свидетельствуют о выраженном влиянии аскорбиновой кислоты на пищевое желчеобразование. Количество образующейся желчи в течение всех часов эксперимента значительно увеличивается. Особенность действия этого ингибитора проявляется в том, что усиление желчеотделения наблюдается не только в первый, но и во второй часы эксперимента. При этом максимум секреции желчи приходится на второй час, в то время как в контрольные дни наибольшая секреция была в первый час после дачи пищевого раздражителя.

Секреция холатов и изменение содержания в желчи плотного остатка свидетельствуют о неодинаковом характере ответной реакции печени на введение аскорбиновой кислоты. Билирубиновыделительная функция печени, после введения аскорбиновой кислоты, также изменяется как в сторону снижения, так и усиления. Учитывая, что действие этого ингибитора развивается на фоне пищевого раздражения, изменяющего характер секреции желчи, можно предполагать корректирующее влияние аскорбиновой кислоты на желчеобразование. Если вводить этот ингибитор на высоком фоне секреции желчи, то происходит снижение желчеобразования и, наоборот, введение аскорбиновой кислоты при незначительном холерезе резко усиливает желчеотделение. Подобная закономерность наблюдалась в опытах Ю. Н. Успенского, который также отмечает корректирующее действие аскорбиновой кислоты на желчеобразование.

Исследование гиалуронидазной активности желчи у собаки «Верный» после кормления мясом и введения различных ингибиторов гиалуронидазы показало, что зависимость гиалуронидазной активности от величины желчеотделения сохранялась. Однако, активность желчи в порциях опытных и конт-

рольных дней, собранных при одинаковом размере холереза, значительно отличалась по своим величинам. При желчеотделении 0,117—0,120 мл/мин. в контрольные дни величина гиалуронидазной активности желчи была равна 17,4 ед., в дни введения гепарина—6,0 ед., в дни введения пипольфена—8,2 ед., при той же интенсивности желчеотделения. При желчеотделении 0,146—0,150 мл/мин активность желчи в контрольные дни была равна 7,4—6,9 ед.; при том же уровне холереза в дни введения аскорбиновой кислоты была равна 1,9 ед., а в дни введения пипольфена—2,7 ед. Следовательно, все ингибиторы гиалуронидазы при пищевом желчеотделении, так же как и при секретиции натошак, снижают абсолютное содержание в желчи фермента гиалуронидазы. Более выраженные изменения, по сравнению с пипольфеном и гепарином, отмечаются после введения аскорбиновой кислоты.

В литературе нет данных по изучению влияния гепарина и пипольфена на желчеобразовательную функцию печени. Влияние аскорбиновой кислоты на спонтанное (натошак) желчеотделение исследовала А. В. Губарь, которая в опытах на собаках с фистулой желчного пузыря по Шиффу выявила угнетение желчеобразовательной функции печени при подкожных инъекциях малых доз витамина С. Напротив, З. М. Волынский в опытах на 1 собаке с фистулой желчного пузыря по Шиффу наблюдал усиление желчеотделения в дни введения аскорбиновой кислоты, Ю. Н. Успенский также считает, что аскорбиновая кислота оказывает стимулирующее влияние на желчеотделение.

Наши экспериментальные данные с изучением влияния аскорбиновой кислоты на желчеотделение в условиях спонтанной и пищевой секретиции так же показали ее стимулирующее влияние на желчеобразование. Структурно-неоднородные ингибиторы — гепарин и пипольфен способны усиливать желчеотделение. При этом все ингибиторы, как правило, в незначительной степени влияют на формирование специфических субстанций желчи — билирубина, холестерина и желчных кислот.

Увеличение желчеотделения после введения всех ингибиторов сопровождается снижением плотного остатка и незначительными колебаниями в содержании секретируемых субстанций желчи — билирубина и холатов. Кук считает, что вода поступает в желчь путем фильтрации и в дальнейшем при прохождении желчи по протокам подвергается реабсорбции.

С позиций теории Кука можно следующим образом пред-

ставить механизм действия ингибиторов гиалуронидазы на увеличение жидкой фазы желчи. Во-первых, возможно, что ингибиторы приводят к усилению фильтрационных процессов на уровне внутридольковых желчных капилляров; во-вторых, они, очевидно, снижают реабсорбцию воды на уровне дистальных частей желчевыносящих путей, имеющих собственную эпителиальную стенку. По-видимому, действие ингибиторов реализуется через посредство системы гиалуроновая кислота гиалуронидаза, так как во всех экспериментах мы наблюдали отчетливое снижение гиалуронидазной активности желчи. Ингибиторы гиалуронидазы угнетают секрецию эндогенной гиалуронидазы в просвет желчевыносящих путей и тем самым снижают процессы реабсорбции воды, что проявляется в увеличении жидкой фазы желчи.

Если развиваемое нами представление о механизме действия ингибиторов гиалуронидазы соответствует действительности, то следует ожидать, что сам фермент гиалуронидаза должен повышать реабсорбцию воды и некоторых компонентов желчи, т. е. оказывать противоположное ингибиторам действие.

Этот вопрос мы выяснили в острых опытах на крысах, в которых исследовали влияние гиалуронидазы и ее неспецифических ингибиторов — гепарина, липольфена и аскорбиновой кислоты на желчеобразовательную функцию печени.

Изучение желчеотделения в контрольной серии опытов, с введением физиологического раствора хлористого натрия, показало незначительные колебания желчеотделения. В течение пяти часов эксперимента секреция холатов при этом повышалась и достигала максимума в третий час опытов. Содержание в желчи калия и натрия существенным образом не изменялось в течение всех часов эксперимента.

В серии опытов с введением фермента гиалуронидазы количество образующейся желчи снижалось в первый час после инъекции препарата на 20,4%, в сравнении с контрольным часом наблюдения, и лишь в конце четвертого часа холерез приближался к исходному уровню. Выделение с желчью холатов и калия уменьшалось на протяжении всех часов эксперимента. Так, в третий час после инъекции гиалуронидазы выделение холатов было на 42,1% ниже исходного и оставалось на этом уровне в четвертый час. Выделение калия с желчью снизилось на 19,2% ($P < 0.01$) в первый час после введения гиалуронидазы и сохранялось на этом уровне до конца эксперимента.

Введение гепарина, аскорбиновой кислоты и пипольфена вызвало аналогичные изменения желчеобразования: секреция желчи возрастала и достигала максимума в различные часы опытов в зависимости от вида ингибитора. После инъекции аскорбиновой кислоты желчеотделение превысило исходный уровень в третий час опыта на 36,9% ($P < 0,01$), а после введения пипольфена — на 52,2% ($P < 0,02$) — в пятый час. Менее выраженное усиление желчеотделения было после инъекции гепарина — на 7% ($P < 0,05$) во второй час и на 20,5% — в третий час. После достижения максимума, холерез снижался в этих опытах до исходного уровня в течение последующих часов эксперимента, при этом выделение холатов с желчью на протяжении всех часов эксперимента угнеталось. Выделение калия возрастало по сравнению с контрольным часом опыта на 42,1% ($P < 0,02$) в четвертый час после инъекции пипольфена, на 39,4% ($P < 0,01$) — во второй час после введения гепарина, на 26,5% ($P < 0,05$) — во второй час после инъекции аскорбиновой кислоты. Содержание натрия в желчи незначительно уменьшалось в течение всего опыта. Данные исследования показали высокую гиалуронидазную активность желчи, получаемой в опытах с введением гиалуронидазы, и значительно меньшую — после инъекции физиологического раствора хлористого натрия и ингибиторов гиалуронидазы. Этот факт свидетельствует о возможности проникновения гиалуронидазы в просвет желчевыносящих путей и влиянии ее на ферментативную активность желчи.

Как видно из опытов, гиалуронидаза угнетала образование желчи и уменьшала содержание в ней ионов калия. Гепарин, пипольфен и аскорбиновая кислота, будучи различными по своей структуре веществами, все обладали способностью усиливать холерез и повышать выделение калия. Подобное противоположное действие фермента и его ингибиторов показывает роль системы гиалуроновая кислота — гиалуронидаза в процессе желчеотделения: она регулирует проницаемость желчевыносящих путей и тем самым изменяет интенсивность процессов реабсорбции составных частей желчи.

Действие гиалуронидазы и ее ингибиторов, как мы предположили, реализуется через систему гиалуроновая кислота — гиалуронидаза. Эту гипотезу необходимо было проверить на морфологическом субстрате. В данном случае им является один из представителей группы кислых мукополисахаридов — гиалуроновая кислота. С этой целью было проведено гистохимическое исследование печени крыс после введения гиалуро-

идазы и ее неспецифических ингибиторов. Одновременно было изучено содержание в гепатоцитах РНП и гликогена, которые отражают функциональное состояние печеночных клеток (Форсгрэн).

Гистохимические данные показали, что действие гепарина, липольфена и аскорбиновой кислоты связано с обменом полисахаридов печеночной ткани. Введение всех ингибиторов после кратковременного повышения содержания гликогена приводило к его резкому снижению в гепатоцитах. Между содержанием гликогена в печеночных клетках и РНП в ходе опыта устанавливались реципрокные отношения. В межклеточном веществе происходило накопление мукополисахаридов типа гиалуроновой кислоты, что на наш взгляд, служит причиной снижения процессов реабсорбции составных частей желчи. Введение гиалуронидазы приводило к уменьшению содержания метакроматических субстанций в интерцеллюлярных пространствах и в стенке желчных канальцев — структур, участвующих в механизме реабсорбции. Следует отметить, что параллельное изучение желчеотделения в физиологическом эксперименте показало уменьшение количества выделяющейся желчи после введения гиалуронидазы. Проведенные гистохимические исследования подтвердили гипотезу о влиянии гиалуронидазы и ее ингибиторов на мукополисахариды межклеточного вещества протоков и интерцеллюлярных пространств. Морфодинамические сдвиги в клеточных элементах печени и межклеточном пространстве соответствует развивающимся физиологическим эффектам при воздействии гиалуронидазы и ее ингибиторов.

На основании проведенных экспериментов мы пришли к следующим выводам:

1. Желчь различных животных содержит фермент гиалуронидазу, принимающий участие в механизмах формирования желчи.

2. Гиалуронидазная активность желчи не является постоянной величиной. Изменение гиалуронидазной активности желчи происходит сопряженно с интенсивностью желчеотделения.

3. Неспецифические ингибиторы гиалуронидазы (гепарин, липольфен и аскорбиновая кислота) — как правило, усиливают спонтанное и пищевое желчеотделение преимущественно за счет жидкой фазы желчи.

4. Формирование секретируемых субстанций желчи (холата, билирубин, холестерин) после введения ингибиторов гиа-

лурунидазы тормозится. Содержание фильтруемых компонентов желчи (калия, натрия) имеет тенденцию к увеличению.

5. Неспецифические ингибиторы реализуют свое влияние на желчеотделение посредством угнетения выделения в желчь эндогенной гиалуронидазы.

6. Препараты тестикулярной гиалуронидазы вызывают снижение количества выделяющейся желчи с максимумом действия в третий час после введения. Содержание калия в желчи после введения гиалуронидазы уменьшается. Гиалуронидазная активность желчи после введения тестикулярной гиалуронидазы значительно повышается.

7. Введение неспецифических ингибиторов гиалуронидазы увеличивает содержание метакроматических субстанций в межклеточном пространстве эпителия желчевыносящих путей и печеночной паренхиме и оказывает воздействие на синтетическую активность гепатоцитов.

8. После введения гиалуронидазы наблюдалось уменьшение интенсивности метакромазии в межклеточном пространстве эпителия желчных протоков и в межклеточном пространстве гепатоцитов.

9. Система гиалуриновая кислота—гиалуронидаза принимает участие в интимных механизмах желчеобразования, регулируя процессы реабсорбции составных частей желчи при ее прохождении по системе желчевыносящих путей.



Список работ, опубликованных по теме диссертации:

1. О влиянии некоторых неспецифических ингибиторов гиалуронидазы на спонтанное желчеобразование. Бюлл. эксп. биол. и мед., 1969, № 2, 21—23 (в соавт. с Г. Е. Сабуровым).
2. Влияние гепарина, пипольфена и аскорбиновой кислоты на желчеотделение. Физиол. ж. СССР им. Сеченова, приложение, 1970.
3. О влиянии гиалуронидазы и ее ингибиторов на желчеобразовательную функцию печени. Физиол. ж. СССР им. Сеченова № 3, 1970 (в соавт. с Г. Е. Сабуровым).
4. К вопросу о механизмах желчеобразования. Материалы VI-й Уральской конф. физиол. биохим. и фармакол. Тюмень, сентябрь, 1969, стр. 19—21.
5. О влиянии неспецифических ингибиторов гиалуронидазы на желчеобразовательную функцию печени. Матер. 32 и 33 научных сессий СГМИ, Свердловск, 1970 (в соавт. с С. А. Туралиным).

Материалы диссертаций доложены на следующих конференциях

1. Вторая научно-техническая конференция молодых ученых и специалистов Тюмени. Тюмень, апрель, 1967.
2. Научная конференция, посвященная пятилетию Тюменского государственного медицинского института. Тюмень, октябрь, 1968.
3. VI-я Уральская конференция физиологов, биохимиков и фармакологов. Тюмень, сентябрь, 1969.

