

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РСФСР

ТЮМЕНСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ

Кафедра нормальной физиологии

Н.А. Бродягин

О ВЛИЯНИИ ГИАЛУРОНИДАЗЫ И ЕЁ
НЕСПЕЦИФИЧЕСКИХ ИНГИБИТОРОВ
НА ЖЕЛЧЕОБРАЗОВАТЕЛЬНУЮ ФУНКЦИЮ
ПЕЧЕНИ

Диссертация на соискание
ученой степени кандидата
медицинских наук

Научный руководитель -
профессор Г.Е. Сабуров

Тюмень - 1969

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение	1.
Глава 1. ЖЕЛЧЕОТДЕЛИТЕЛЬНАЯ ФУНКЦИЯ ПЕЧЕНИ . . .	6
1. Современные представления о структуре печени	6
2. Интимные механизмы образования желчи	13
Глава II. СИСТЕМА ГИАЛУРОНОВАЯ КИСЛОТА - ГИАЛУРО- НИДАЗА И ЕЕ БИОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ . . .	29
1. Физическая и химическая структура гиалуроновой кислоты, её локализация в тканях и органах животного организма	29
2. Гиалуронидаза - специфический фермент, расщепляющий гиалуроновую кислоту. Ингибиторы гиалуронидазы	37
3. Физиологическое значение системы гиалуроновая кислота- гиалуронидаза. .	44
Глава III. МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ	48
1. Способы оперирования подопытных животных и проведения хронических опытов	49
2. Методика проведения острых опытов . .	51
3. Методика биохимических анализов желчи	53
4. Методика гистохимических исследований	58
5. Методика статистической обработки данных опытов	59
Глава IV. О ГИАЛУРОНИДАЗНОЙ АКТИВНОСТИ ЖЕЛЧИ ВЛИЯНИЕ НЕСПЕЦИФИЧЕСКИХ ИНГИБИТОРОВ ГИАЛУРОНИДАЗЫ НА СПОНТАННОЕ) ТОЩАКОВОЕ) ЖЕЛЧЕОТДЕЛЕНИЕ В ХРОНИЧЕСКИХ ОПЫТАХ . . .	61

Глава У. ВЛИЯНИЕ НЕСПЕЦИФИЧЕСКИХ ИНГИБИТОРОВ ГИАЛУРОНИДАЗЫ НА ПИЩЕВОЕ ЖЕЛЧЕОБРАЗОВАНИЕ	83
Глава У1. ВЛИЯНИЕ ГИАЛУРОНИДАЗЫ И ЕЁ НЕСПЕЦИФИЧЕСКИХ ИНГИБИТОРОВ НА ЖЕЛЧЕОБРАЗОВАНИЕ В УСЛОВИЯХ ОСТРЫХ ОПЫТОВ	116
Глава УП. ГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ПЕЧЕНИ ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ ГИАЛУРОНИДАЗЫ И ЕЁ НЕСПЕЦИФИЧЕСКИХ ИНГИБИТОРОВ	130
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	140
УКАЗАТЕЛЬ ЛИТЕРАТУРЫ	146
ПРИЛОЖЕНИЕ	1-ХП.

ВВЕДЕНИЕ

Проблема физиологии и патологии пищеварения, впервые систематично и наиболее полно изученная И.П.Павловым и его учениками (И.П.Разенков, В.В.Савич, К.М.Выков, Г.В.Фольбогт и др.), попрежнему привлекает большое внимание ученых. Несмотря на это, некоторые вопросы физиологии пищеварительных процессов до сих пор остаются мало изученными. Это касается, в частности, итильных механизмов, лежащих в основе секреторной деятельности основных пищеварительных желез. По образной характеристике И.П.Павлова, эти процессы составляют "нижний этаж" физиологии. Этот "нижний этаж" — физиология клетки, — —этаж огромной важности, ... там глубина жизни ... так относительно всей клеточной физиологии, которая и составляет дно, фундамент жизни.^{к/} Мы не можем успешно вмешиваться в работу того или иного организма, должным образом управлять состоянием организма человека, если не знаем условий деятельности его клеток".^{жж/}

к/ И.П.Павлов: "Лекции по физиологии". Изд. АМНСССР, М., 1953.

жж/ К.М.Выков: "Кора головного мозга и внутренние органы". Изд. Медгиз, М.— Л. 1947.

Экспериментальное изучение механизмов секреции желчи было начато Шванном (*Swann*), который предложил методику наложения хронической фистулы желчного пузыря с одновременной перевязкой желчного протока. Дерптские физиологи Биддер и Шмидт (*Bidder u. Schmidt*), применяя методику Шванна, изучили влияние пищеварительного процесса на желчеобразование. Французский физиолог К.Бернар (*K. Bernard*) и русский биохимик М.В.Ненцкий впервые установили роль желчи в активации действия панкреатического сока на жир. Крупнейшие немецкие физиологи Гейденгайн, Пфлюгер и Мунк (*Heidenhein, Pflüger, Munk*) начали анализ роли вегетативных нервов в регуляции желчеобразования.

Основоположник современной физиологии пищеварения академик И.П.Павлов впервые разработал метод экспериментального изучения процесса желчевыделения, что позволило его ученикам (Г.Г.Вржко, Н.Н.Клодницкий) изучить работу желчевыделительного аппарата печени при приеме различных сортов пищи. Дальнейшее развитие многих вопросов физиологии печени осуществили выдающиеся советские физиологи В.В.Савич, И.П.Разенков, Л.А.Орбели, К.М. Быков, М.А.Усиевич, Г.В.Фольборт и др. Они разработали новые методы изолированного и комплексного изучения желчеобразования и желчевыведения, с помощью которых вскрыли некоторые стороны механизмов образования желчи и эвакуации её в кишку, роль желчи в кишечном пищеварении; а также участие её в обменных процессах в клетках и тканях целостного организма.

В настоящее время проблемы физиологии и патологии печени интенсивно исследуются в ряде отечественных лабораторий (А.Н.Бакурадзе, И.А.Булыгин, И.Т.Курцин, Е.Ф.Ларин, А.В.Рикль, Е.К.Приходькова, Н.Н.Пронина, С.С.Полтырев, Г.Е.Сабуров, Н.П.Сиакун, Я.П.Скляров, А.В.Соловьев и др.). Всесторонне изучается роль периферической нервной системы и высших отделов центральной нервной системы, а также гуморальных механизмов в регуляции секреции желчи и желчевыведения. Значительные успехи достигнуты в изучении биоэнергетики желчеобразования (А.С.Саратиков), участия печени в регуляции энтерогепатического кругооборота фосфорных соединений желчи (К.С.Замычкина, Д.Э.Гродзенский).

Механизмы желчеобразования, их нервная и гуморальная регуляция интенсивно исследуются многими зарубежными учеными (Brauer, Bizard, Chendorovitch, Cook, Caroli, Diamond, Erlinger, Paris, Plessier, Sperber, Svatos, Vanlerenberghe, Vocas, Wheeler et al.)

Существующие представления трактуют желчеобразование как чрезвычайно сложный процесс, включающий активную секрецию отдельных ингредиентов желчи печеночными клетками (билирубин, желчные кислоты, кислые красители), - транс - и интерцеллюлярную фильтрацию некоторых компонентов из крови в желчь (вода, ионы калия, и натрия, глюкоза, хлориды), а также реабсорбцию воды и ряда других веществ из желчных капилляров, протоков и желчного пузыря. (Brauer, Cook, Bizard, Paris, Sperber).

Физиология водовыделительных органов, к числу которых в последнее время относится и печень, включила в круг своих вопросов ферментно-тканевую систему "гиалуронидаза - гиалуроновая кислота". Установлено, что система гиалуроновая кислота - гиалуронидаза имеет большое значение в реабсорбции осмотически свободной воды в дистальных частях нефрона, являясь своеобразным инструментом для реализации действия антидиуретического гормона на почку (А.Г. Гинецинский). Фишер высказал предположение, что реабсорбация воды из желчного пузыря, возможно, идет аналогично тому, как это происходит в почечных канальцах. Г.Б. Мхитарова в опытах на изолированных желчных пузырях показала, что регуляция всасывания жидкости из желчного пузыря действительно осуществляется с участием системы гиалуроновая кислота - гиалуронидаза.

Учитывая, что печень обладает водовыделительной функцией, а также тот факт, что в реализации этой функции определенное значение придается системе гиалуронидаза - гиалуроновая кислота во всех осморегулирующих органах, мы поставили задачу выявить участие этой системы в интимных механизмах желчеобразования.

Нами проведены многочисленные эксперименты по изучению гиалуронидазной активности желчи, на основании которых можно утверждать, что в желчи содержится фермент гиалуронидаза.

В хронических опытах на собаках мы исследовали влияние неспецифических ингибиторов гиалуронидазы -

- гепарина, пипольфена и аскорбиновой кислоты на спонтанное и пищевое желчеобразование.

В острых опытах на крысах изучено влияние на желчеобразование фермента гиалуронидазы и её ингибиторов. Гистохимическими методами исследовано функциональное состояние гепатоцитов и межклеточной соединительной ткани в различные сроки после введения гиалуронидазы, гепарина, пипольфена и аскорбиновой кислоты.

На основании своих экспериментов мы можем утверждать, что система гиалуроновая кислота - гиалуронидаза принимает участие в интимном механизме желчеобразования.

Глава 1

ЖЕЛЧОТДЕЛИТЕЛЬНАЯ ФУНКЦИЯ ПЕЧЕНИ

1. Современные представления о структуре печени

Морфологической единицей печени со времени Мальпиги считается печеночная долька. Ее диаметр равен 0,5 - 2,0 мм, общее количество долек печени достигает у человека 500 000. В центре дольки расположена *v. centralis*, соединяющаяся посредством синусоидов с разветвлениями *v. portae* и *a. hepaticae*. Вокруг центральной вены и сосудов дольки в виде трабекул (тяги Романа) располагаются печеночные паренхиматозные клетки. Многочисленные звездчатые клетки Купфера обращены с одной стороны в просвет венозного синусоида и с другой - в так называемое перисинусоидальное пространство Диссе. Соседние дольки разделены междольковыми пространствами Киррмана, включающими разветвления воротной вены, печеночной артерии, желчного протока, а также нервы и лимфатические сосуды (H. Spriniger, 1937; А. Филлер, 1961).

Кровоснабжение печени, осуществляемое из воротной вены и печеночной артерии, имеет свои особенности. Печеночная артерия, прежде чем войти в капилляры печеночных островков, проходит сеть капилляров, питающих стroma печени (В.А. Бец, 1863). По представлениям Н.О. Ковалевского (1876) *a. hepatica* образует два русла; основное из них находится на

стенках и в стенках желчных протоков, создавая обильную сеть капилляров. Подобное отношение сосудов к желчным протокам, по мнению Н.О.Ковалевского, ставит содержимое этих протоков под влияние артериального давления и указывает на возможность фильтрации из под эпителиальных капилляров в полость желчных протоков, а следовательно, на возможность участия последних не только в проведении, но и в образовании желчи. Менее значительная часть артериального русла сопровождает разветвления воротной вены и истончается до капиллярных размеров на уровне перехода ветвей воротной вены в капиллярную сеть долек, следовательно, на периферии последних впадает в эту сеть.

В настоящее время установлено поступление артериальной крови в печеночную дольку не только по сосудам, сопровождающим воротную вену, но и по артериям, сопровождающим печеночные вены вплоть до центральных вен дольки (М.С. Арбузова, 1960, 1964).

Исследования Такеуши с соавт. (*Y. Takeuchi a. oth.*, 1966) показали, что основная роль в регуляции печеночного кровотока принадлежит артериальной системе, значительно меньшая — портальной системе.

Важной особенностью внутрипеченочного кровоснабжения является наличие в сосудах печени системы сфинктеров, расположенных вокруг артерио — портальных анастомозов, которые регулируют движение крови

через печень. Регуляция этих сфинктеров осуществляется посредством продуктов метаболизма (аденозин, калий), освобождающихся из печеночных клеток (*Mc Cuske, 1966*).

Брауэр (*R. Brauer, 1961*) придает предпочтение поиску методов показа различных кровотоков в печени под действием на нее физической силы, нежели попытке открыть и исследовать возможные способы контроля вазомоторов внутри печени.

Микроструктура печеночной ткани исследуется в настоящее время утонченными методами флуоресцентной и электронной микроскопии. Полученный фактический материал предопределил пересмотр укоренившихся взглядов на структуру печеночной долики.

Исследования Илиаса (*H. Elias a. A. Sokol, 1953*) показали, что типичная структура печени является результатом не ригидного анатомического строения, а возникает под влиянием функциональных, гемодинамических факторов: для нормальной структуры печеночных долек давление крови в воротной вене должно быть выше, чем в печеночной вене. Илиас экспериментально доказал, что структура долек меняется уже через 3 минуты после перевязки воротной вены и печеночной артерии. После перевязки печеночной вены структура печени меняется уже через 2 минуты. Через 30 секунд после восстановления нормальной циркуляции структура долек отражает уже первоначальную картину.

(цит. по А. Фишер, 1961).

Эпителиальные печеночные клетки составляют основную массу печеночной ткани - 60 % всех клеточных элементов печени; 33 % принадлежит Купферовским клеткам печени и приблизительно 2 % занимают клеточные элементы желчных ходов, кровеносных сосудов и соединительной ткани. (*H. Popper, F. Schaffner* , 1961).

Печеночные клетки имеют полигональную форму, на их поверхности находятся многочисленные выросты - микроворсинки, которые точно входят в соответствующие впадины смежной клетки. Такое строение гепатоцитов значительно увеличивает площадь соприкосновения смежных клеток и возможности межклеточного обмена. Клеточные поверхности, обращенные к синусоидам, также обладают выростами, которые увеличивают возможность обмена между кровью и содержимым клетки (*D. Farwett* , 1954; *R. Wood*, 1963; *L. Colcl*, 1963; *J. Jal*, 1967).

Согласно представлениям Илиаса (1949a, b; 1954, 1955), печеночные клетки располагаются не трабекулярно, а в виде пластинок, состоящих из одного слоя клеток и имеющих анастомозирующий между собой " печеночный лабиринт ". В лабиринте находятся синусоиды. Таким образом, соединенные синусоиды отделяются пластинками, состоящими только из одного слоя печеночных клеток, которые соприкасаются с циркулирующей кровью с двух сторон (на 20 % своей поверхности) и благодаря этому циркуляторные предпосылки для обмена веществ весьма благоприятны. (*H. Elias, A. Sokol*, 1953; *H. Elias, T. Cohen* , 1955).

Между печеночными клетками и клетками синусоидов находятся периваскулярные пространства Диссе. Первые указания о их существовании встречаются у Рейхарт и Будге (*Reichert* , 1854; *Budge* , 1859). Подробное исследование, доказывающее наличие периваскулярных пространств, впервые провел М.Джилавари (*Mc Jilawary* , 1864). В дальнейшем этот вопрос изучал Диссе (*J. Disse* , 1890) и ничего принципиально нового не внес, тем не менее, в последствии стали называть эти пространства именем Диссе (цит. по В.Карупу, 1957).

В литературе встречаются противоположные точки зрения на существование и функциональное значение пространства Диссе. Имеются убедительные доказательства существования этих пространств (*M. Kniseli* , *E. Blocha.oth* , 1948; *H. Elias* , 1953; И.Русняк и соавт. 1957). Другие авторы отрицают существование пространства Диссе, считая их гистологическими артефактами (В.Я.Карупу, 1957; А.А. Сущко, 1962; *F. Lee* , 1925; *H. Braunsteiner* , *K. Fellingner a.oth* , 1953). Благодаря исследованиям Д.А.Жданова (1952) и других авторов в настоящее время общепризнанным является взгляд о существовании лимфатических капилляров лишь в перипортальном пространстве и об отсутствии их внутри дольки. Пространства между печеночными клетками и клетками синусоидов представляют собой лишь интерстициальную цель, содержащую решет-

чатые волокна и аморфное вещество со значительной поверхностью, на которой осуществляется транспортировка интерстициальной жидкости и растворенных в ней веществ.

Начальный отдел желчевыведительной системы представлен первичными желчными ходами, которые контактируют с печеночными клетками, капиллярами сосудистой системы и сосудистыми пространствами Дриссе. Сливаясь между собой, первичные желчные ходы образуют желчные капилляры. Согласно представлениям Илиаса (*H. Elias*, 1949, *б*), желчные каналы имеют собственную стенку субмикроскопической толщины, которая отделяется при механических методах обработки. Стенка желчного капилляра может быть выявлена фосфорвольфрамовым гематоксилином, окраской по Маллори (*F. Mallory*, 1938) или серебрением (*S. La Manna*, 1937).

Мортоном (*T. Morton*, 1939) описана ацидофильная выстилка или цеточная кайма желчного капилляра.

Однако большинство авторов отрицает существование собственной стенки у желчного канальца. Так, если считать существование печеночной клетки независимым от стенки желчного канальца, то остается неясным факт исчезновения желчного капилляра при гибели печеночной клетки или при её повреждении. Окончательное подтверждение этот взгляд получил при электронномикроскопических исследованиях Пеледа (*J. Palade*, 1952) и Руйза (*C. Rowiller*, 1954, 1956).

Таким образом, желчные капилляры не имеют собственной стенки и ограничены оболочкой печеночных клеток. Эта оболочка образует протоплазматические выросты в просвет желчного капилляра, которые, повидимому, есть не что иное, как описанная Мортонем (*T. Morton* , 1939) щеточная кайма. Переплетаясь между собой, эти выросты, по мнению Эшваза и Сэндэса (*C. Ashworth, & Sanders* , 1960), значительно увеличивают площадь обмена между печеночными клетками и содержимым желчного капилляра.

Прежняя теория, предусматривающая разобщение желчных канальцев и кровеносных синусоидов за счет слоя печеночных клеток, в настоящее время претерпела существенное изменение. На основании тщательных исследований Илияс и Куин (*H. Elias, T. Cohen* , 1955) пришли к выводу, что желчные канальцы имеют сообщения со стенками перисинусоидальных пространств Диссе. Изучение микроструктуры печени с помощью электронной и флуоресцентной микроскопии позволило обнаружить сообщение желчного капилляра с просветом синусоида. Эндотелиальная стенка синусоида имеет поры, посредством которых осуществляется связь кровяного синусоида и периваскулярного пространства. При этом речь идет о межклеточных порах и порах на поверхности клеток. (*J. Pavel, A. Teitel-Bernard* , 1948; *V. Edlund, V. Hanson* , 1953; *C. Rowiller* , 1954, 1956; *D. Fawcett* , 1954; *F. Wasserman* , 1958; *C. Ashworth a. oth.* , 1960; *L. Gosse* , 1960, 1961, 1962, 1963; *R. Wood* , 1962).

Сообщение кровяного синусоида с желчным канальцем, по представлениям Кук и соавт. (*D. Cook, C. Lawler, a. oth.*, 1952) является анатомической предпосылкой возможности проникновения воды и некоторых веществ из крови, находящейся в синусоидах, прямо в просвет желчных ходов, минуя при этом печеночные клетки.

Однако проведенные недавно исследования Штейнера и соавт. (*J. Steiner, A. Jezequel, M. Phillips, a. oth.*, 1965) не подтвердили существование сообщений между желчным капилляром и просветом синусоида.

Слияние желчных капилляров в своеобразные ампулы или цистерны происходит в междольковом пространстве, составляя начальную часть внедолькового желчного пути. Собственная стенка у желчных ходов появляется именно на уровне внедольковых желчных путей. По принятым представлениям, желчевыносящие протоки, общая протяженность которых достигает 12 км (*W. Andrews, 1955*) почти не оказывает влияния на состав протекающей желчи, если не считать незначительное добавление слизи (*H. Popper, F. Schaffner, 1961*).

2. Интимные механизмы образования желчи

Механизм процесса желчеотделения является чрезвычайно сложным и до сих пор остается неизученным. Брауэр (*A. Brauer, 1959*) относит желчь к специфическим секретам - таким как молоко и слюна, образующимся за счет активной секреции. С другой стороны, он

считает, что в формировании желчи, так же как и мочи, определенная роль принадлежит процессам реабсорбации.

Существующие в настоящее время представления о механизмах желчеобразования могут быть объединены в секреторную и фильтрационно-реабсорбационную теории. По мнению Брауэра, они не противоречат, а дополняют друг друга. В печеночных капиллярах имеются своеобразные условия для процессов гидростатической фильтрации. Во-первых, стенка капилляра обладает повышенной проницаемостью, и во-вторых, по данным Старлинга (*E. Starling*, 1894), в синусоидах кровяное давление значительно ниже, чем в других капиллярах организма.

Повышение проницаемости, при котором через капиллярную стенку проходит значительное количество белка, приводит к тому, что эффективное коллоидно-осмотическое давление в синусоидах печени значительно снижается.

Мейерс и Тейлор (*J. Myers a. W. Taylor*, 1951) определяли капиллярное давление в печеночной вене путем катетеризации и нашли его равным 4,8 мм рт. ст.

И.Русняк, М.Фёльди, Д.Сабо (1957) считают, что давление крови в воротной вене равно 10 см вод. ст., в печеночной - 4 см вод. ст. Среднее капиллярное давление, по их мнению, равно 6-7 см.вод. ст.

Такие же величины кровяного давления в капиллярах синусоидов были получены в опытах Наката и соавт. (*K. Nakata, J. Leong, R. Brauer, 1961*).

И. Русняк и соавт. (1957) на основании своих опытов пришли к выводу, что фильтрационное давление в капиллярах печени очень низкое. В почке эта величина равняется 36 см вод.ст., в периферических капиллярах - 15 см., а среднее эффективное фильтрационное давление в печени находится между 0,75 и 3 см вод.ст.

Наличие прямых контактов между желчными капиллярами и кровяными синусоидами (*J. Pavel, A. Teitel-Bernard, 1948; H. Elias, 1949; V. Edlund, V. Hanson, 1958; C. Rowiller, 1954*) доказывает возможность перехода некоторых веществ из крови синусоидов в желчь, минуя гепатоциты и клетки Купфера.

В пользу существования фильтрации в механизме холереза свидетельствуют данные о выделении некоторых веществ в желчь без какой-либо их концентрации. Хёбер и Мур (*A. Höber, 1939; A. Höber, E. Moore, 1939*) префузировали печень лягушки раствором Рингера, содержащим эриоцианин (кислый краситель) и углеводов (ксилоза, лактоза, инулин), не включающиеся в обменные процессы организма. Оказалось, что кислый краситель появляется в желчи в концентрации в 10 раз большей, чем в плазме, в то время как повышения концентрации перечисленных углеводов не наступало.

Хёбер приходит к заключению, что печень в отношении ксилозы, лактозы и инулина является как бы пассивным фильтром, в то время как эриоцианин активно секретируется и концентрируется печенью.

Среди веществ, которые фильтруются через печень, инулин обладает самой большой молекулой с молекулярным весом 5 100. Крахмал, молекула которого является еще больше, не проходит через печень даже при перфузии под весьма большим давлением. Следовательно, печеночный фильтр обладает молекулярными порами, диаметр которых ограничен, но все же достаточен для того, чтобы пропустить молекулы, не превосходящие молекулярный вес инулина. Это предположение подтвердил Хэйвуд (*C. Haywood, 1946*) опытами на одном виде рыб (*"toadfish"*), почки которой, не имеющие клубочков, не экскретируют инулин. После внутримышечного введения инулина он у этих рыб выделяется с желчью в значительно меньшей концентрации, чем его концентрация в крови :

$$\frac{\text{инулин в желчи}}{\text{инулин в плазме}} = 0,56 .$$

У собак с временным желчным свищем при нагрузке инулином это отношение равнялось 0,47. Значения отношения между инулином в желчи и инулином в сыворотке крови ниже единицы, полученные при обоих экспериментальных вариантах, могут быть объяснены тем, что инулин, фильтрующийся определенным путем, растворя-

ется водой, которая переходит в желчь другим путем; кроме того, инулин частично задерживается в организме. При обоих этих возможностях диаметр пор в печеночном фильтре приближается к размерам молекул инулина.

Кроме инулина, имеются также другие вещества, которые проникают через печеночный барьер, не подвергаясь концентрации. Льюис (*A. Lewis*, 1948) относит к ним глюкозу, креатинин, ионы калия, натрия, кальция, хлориды и другие. Для всех этих веществ отношения между их концентрацией в желчи и в сыворотке крови являются меньшими, чем у инулина, или же соответствуют следующим величинам: (см.табл.№ 1)

Таблица № 1

Показатели отношений желчной и плазменной концентраций фильтруемых веществ (по Льюису, 1948)

Внутривенно введенное вещество	Концентрация в желчи, в Ммол/л	Концентрация в плазме, в Ммол/л	Концентрация в желчи концентрация в плазме.
Глюкоза	34	25	1,36
Креатинин	2,94	1,39	2,1
Хлориды	63	135	0,48

Создается впечатление, что порог выделения этих веществ желчью при определенной концентрации их в плазме является пропорциональным количеству крови, проходящей через печень.

Кук и соавт. (*D. Cook, W. Hambourger a. oth., 1951; D. Cook, C. Lawler, L. Calvin, D. Green, 1952*) исследовали желчный клиренс различных веществ, поступающих в кровеносное русло. Под желчным клиренсом понимается объем плазмы, в котором содержится количество исследуемого вещества, выделяемое в желчь в течение 1 минуты. Низким желчным клиренсом характеризовались инулин, глюкоза, креатинин, калий, натрий, хлориды. Хёбер, Хэйвуд и Кук пришли к одному и тому же выводу: вода, электролиты и кристаллоиды выделяются в желчь путем фильтрации или диффузии. Существование механизма фильтрации или диффузии доказывается тем фактом, что желчь почти изотонична с кровью (*H. Wheeler a. O. Ramos, 1960*), а также одинаковым составом желчи и плазмы, исключая протеины плазмы (*D. Cook a. oth., 1952*). Возможно, что путь, по которому следует вода и фильтрующиеся вещества может быть двойным: чрезклеточным и межклеточным.

Чендорович (*J. Chendogovitch, 1966*) исследовал возможность прохождения больших молекул из крови в желчь - молекул поливинилпироллидина (молекулярный вес 15-17 тыс., с максимумом до 40-50 тыс), меченных γ -131. Отношение желчь/кровь для поливинилпироллидина было найденным как 1/100 или 1/300, что доказывает его малую проходимость в желчь из кровеносного русла. Автор делает вывод, что

печеночный фильтр не позволяет прохождению из крови в желчь веществам с молекулярным весом больше 15 тыс.

Проблема фильтрации до сих пор не получила окончательного разрешения. Интерпретация электронно-микроскопических исследований, которые показали, что структурное отделение желчи от плазмы не обязательно должно совершаться однорядным слоем печеночных клеток, в последнее время пересматривается.

(J. Hampton, 1958; J. Steiner, A. Jezequel и др., 1965).

Механизмом фильтрации или диффузии невозможно объяснить, почему некоторые вещества выделяются в желчь в большей концентрации, чем они имеются в плазме. В опытах Хёбера, Мура кислый краситель эриоцианин появлялся в желчи в концентрации в 10 раз большей, чем в плазме. В группу веществ, подвергающихся концентрации в желчи, Люис отнес билирубин, красители, антибиотики и другие вещества. Это вещества с очень высоким клиренсом и высоким показателем отношения желчь/плазма. (см. табл. № 2).

Таблица № 2

Показатели отношений желчной и плазменной концентраций секретрируемых веществ (по Люису, 1948).

Внутривенно вводимое вещество	Концентрация в желчи, в Ммол/л	Концентрация в плазме, в Ммол/л	Отношение желчь/плазма
Билирубин	7,05	0,03	235
Бромсульфалеин (БСТ)	18,64	0,20	93,2
Парааминогиппуровая кислота	12,3	0,9	13,6
Пенициллин	0.46	0.05	9,0

Нук и соавт. (*D. Cook a. oth.*, 1952) также отнесли билирубин, ВСФ, парааминогиптуровую кислоту и пенициллин к группе веществ, имеющих высокий клиренс. Желчный клиренс представителей этой группы зависит от их плазматической концентрации. С увеличением последней величина клиренса уменьшается. Нук считал, что вещества с высоким клиренсом выделяются в желчь путем активной секреции.

Армстронг (*P. Armstrong*, 1947) исследовал выделение красок печенью на эмбрионах саламандры и показал, что на тех стадиях развития эмбрионов, когда еще нет желчных канальцев, функция гепатоцитов в ответ на введение диффундирующих красок ограничивается их поглощением, и, по мере дифференциации клеточных структур печени и появления желчных канальцев, печеночные клетки приобретают способность выделять накопившуюся в протоплазме краску в просвет желчных канальцев.

Ганзон (*J. Hanson*, 1952) подтвердил исследования Армстронга в опытах на крысах с флуоресцирующей краской уранин. Выделение краски печенью происходило в два этапа - поглощение уранина печеночными клетками и выделение его в желчные канальцы. Интенсивность процессов экскреции печенью уранина резко уменьшалась при гипоксии и гипотермии. Ганзон приходит к заключению, что выделение красок печенью является активным секреторным процессом, который обеспечивается печеночными эпителиальными клетками.

С критикой сторонников фильтрационной теории желчеобразования выступили Брауэр и соавт. (*R. Brauer a.oth.*, 1954). В опытах на изолированной печени крысы он наблюдал, что желчная секреция продолжается даже в том случае, если давление в общем желчном протоке значительно выше перфузионного. Таким образом, если бы механизм образования желчи ограничивался только одной фильтрацией в этих опытах можно было бы ожидать остановки желчной секреции. Эта разность в противодействующих силах кажется еще больше, если принять во внимание онкотическое давление белков плазмы. Брауэр также показал, что желчь выделяется из протоков под гораздо большим давлением, по сравнению с тем давлением, которое имеется в синусоидах.

По исследованиям Поппера и соавт. (*H. Popper a.oth.*, 1955) даже полная деваскуляризация печени не оказывала влияния на количество образующейся желчи. В экспериментах Брауэра (*R. Brauer*, 1965) наложение лигатуры на печеночную артерию существенным образом не изменяло максимальное секреторное давление желчи. Эти факты, по мнению Брауэра, свидетельствуют об отсутствии влияния гемодинамических факторов на желчеобразование и указывают на незначительную роль фактора гидростатической фильтрации в холерезе.

Брауэр (*R. Brauer*, 1959) является сторонником теории происхождения всех основных компонентов

желчи только за счет секреции. Он делит все составные части желчи на три группы по степени концентрации при прохождении их из крови в желчь. (см. табл. 3)

Таблица № 3

Показатели отношений желчной и плазменной концентраций различных веществ ¹ по Брауэру, 1959).

Группы	Основные представители	Отношение желчь/кровь
А	Натрий, калий, хлориды, глюкоза	около 1,0
В	Таурохолаты, гликохолаты, дегидрохолаты, билирубин, БСФ, флуоресцеин, бенгальрот	от 10 до 1 000
С	Креатинин, фосфаты и др.	менее 1,0

Вещества групп А и В захватывают водную фазу и 95 % плотного остатка желчи. Концентрация в желчи веществ группы А почти не отличается от их плазменной концентрации, вещества группы В выделяются в желчь в более высокой концентрации, чем содержатся в плазме.

Брауэр допускает существование независимых механизмов секреции для выделения веществ группы А и В.

По его теории образование желчи начинается с активной секреции воды и веществ группы В, осуществляемой паренхиматозными клетками печени. В результате в желчных канальцах появляется первичная желчь.

Последняя, проходя по желчным ходам, в определенных местах вступает в контакт с плазмой крови. В результате устанавливается равновесие с ионами натрия, калия и хлора.

Противоположного мнения придерживается Эндрюс (*W. Andrews*, 1955). В перфузионных опытах с печенью собак он установил, что бромсульфалеин исчезает из кровообращения после инъекции в печеночную артерию быстрее, чем после инъекции в воротную вену. Так как желчные пути богаты снабжены артериальной кровью, Эндрюс делает вывод, что образование желчи и выделение краски происходит через эпителий желчных протоков.. Основная роль в механизме желчеобразования, по мнению Эндрюса, принадлежит эпителию желчных путей, а не паренхиматозным клеткам печени. Экспериментальная проверка в опытах Брауэра с соавт. (*R. Brauer a. oth.*, 1957) и Чэпмана с соавт. (*N. Chapman a. oth.*, 1960) при перфузии изолированной печени быка плазмой крови с добавлением к ней БСФ не подтвердила этого положения, высказанного Эндрюсом.

Спербер (*J. Sperber*, 1959), Уилер (*H. Wheeler*, 1963) ведущее значение в механизме холереза придают осмотическому действию органических анионов, в частности солей желчных кислот. Желчеобразование, по их мнению, начинается с активной секреции в желчные капилляры желчных кислот. Последние в силу

осмотического действия вызывают поступление в желчные каналцы воды и находящихся в ней ионов натрия, калия, хлора. Осмотическая фильтрация, по Сперберу, осуществляется через поры в стенках желчных канальцев.

Чендорович и соавт. (*J. Chendorovitch* *and* *others*, 1963; *J. Chendorovitch*, 1966), при изучении секреции желчи методом кратковременной остановки её вытекания, установили, что проницаемость желчных путей для различных ингредиентов желчи неодинакова в проксимальных и дистальных частях билиарного дерева. Они выделяют зону желчных канальцев, проницаемую для билирубина, желчных кислот и БСЖ; затем проксимальную зону, гораздо более обширную, захватывающую внутридольковые капилляры и часть внедольковых желчных путей, проницаемую для анионов и катионов; наконец, зону отдаленную или дистальную, включающую внедольковые каналы, проницаемую для катионов и непроницаемую для анионов. Чендорович уточнил представления Брауэра о механизме секреции желчи, как активном секреторном процессе и воссоздал топографическую картину функциональной активности билиарного дерева в отношении различных составных частей желчи.

Доказательством того, что желчеобразование является активным секреторным процессом, являются опыты, показавшие снижение желчеотделения после

действия метаболитических ядов, наркотиков, гипотермии или аноксии. С.Я. Рапопорт и Е.А. Герчикова (1936) в опытах с перфузией изолированной печени показали, что секреция желчи резко уменьшается или даже полностью прекращается при асфиксии. Брауэр и соавт. (*R. Brauer a. o. b.*, 1954) наблюдали снижение секреции желчи и прекращение её выработки при температуре 25° С. Согласно данным Чельгрена (*K. Kjellgren*, 1955), охлаждение тела или только печени уменьшает желчеотделение. По Брукау и Пенроду (*R. Brockau a. Penrod*, 1949), гипотермия замедляет выделение печенью бромсульфалеина.

А.С. Саратиков и А.С. Лапик (1953) , Ванлерен-терге (*J. Vanlezenberghe*, 1959) в опытах на изолированной печени крыс показали, что цитотоксическая аноксия, вызванная цианидами, значительно снижает желчную секрецию.

А.С.Саратиков (1962) в опытах на крысах, кроликах и морских свинках наблюдал уменьшение объема выделяемой желчи и содержания в ней билирубина под влиянием фтористого натрия и монооксидосусной кислоты. Подавление гликолиза в печени тормозило процессы желчеобразования и выделения БСФ. Автор делает вывод, что основным источником энергии для холереза является тканевое дыхание и окислительное фосфорилирование.

Значительный интерес представляют морфологические изменения в печени, связанные с процессом

секреции желчи. Бизар и Пари (*Y. Bizard, J. Paris, 1957*) выявили расширение желчных ходов под влиянием холеретиков. Это является , по их мнению, результатом усиленного притока желчи.

Форсгрэн (*S. Forsgren, 1929, 1930*) различает две стадии в деятельности печени: стадию ассимиляции и стадию секреции. В первой стадии клетки печени богаты гликогеном (до 13 %) и бедны составными частями желчи; желчные каналы сужены и пусты. В секреторной стадии клетки обогащаются элементами желчи и в то же время теряют гликоген (до 1 %); желчные каналы расширены и наполнены секретом. Ночью преобладает образование гликогена, секреция желчи снижена. Днем, напротив, берет перевес секреторный процесс. Этот функциональный ритм, по-видимому, не зависит от приема пищи.

Кондо (*S. Kondo, 1960*) в опытах на белых крысах изучал функциональную морфологию секреторных гранул аппарата Гольджи клеток печени. Аппарат Гольджи гипертрофировался в период усиления желчной секреции и уменьшался при её снижении.

Окита и соавт. (*H. Okita et al, 1961*) с помощью электроннофазово-контрастной микроскопии наблюдали различное число ворсинок у гепатоцитов в зависимости от фазы желчной секреции. С возрастанием секреции желчи увеличивалось количество ворсинок и наблюдались изменения в аппарате Гольджи. Таким

образом, морфологические исследования завершают цепь доказательств в пользу секреторной природы механизма желчеобразования.

Значение процессов реабсорбции в механизме желчеобразования изучено совершенно недостаточно. Вопрос о реабсорбции воды, хлоридов и других веществ слизистой оболочкой желчного пузыря исследован подробно, но отношения к механизму образования желчи в печени не имеет.

Павель и Тейтель-Бернар (*J. Pavl a. Teitel-Bernard, 1948*) считают, что желчеобразование складывается из двух процессов - фильтрации и последующей реабсорбции из желчных протоков воды и некоторых кристаллоидов.

Уилер и Рамос (*H. Wheeler a. O. Ramos, 1960*) наблюдали выделение высоко концентрированной желчи из общего желчного протока у холецистэктомизированных собак. Авторы объяснили это способностью желчного протока к резорбции воды.

Шанкер и Хогбен (*L. Shanker a. C. Hogben, 1961*) обнаружили, что у крысы маннитол всегда более концентрирован в желчи, чем в крови. Маннитол проникает в желчные протоки путем диффузии, поэтому более высокую его концентрацию в желчи следует считать обусловленной процессами реабсорбции воды в желчевыносящих протоках.

Подобная же закономерность выявлена для инулина в опытах Хэйвуда (*C. Haywood*, 1946) на "load-fix" и в экспериментах Кук и соавт. (*D. Cook et al.*, 1952) А.С.Саратиков (1961) не придает существенного значения процессу реабсорбции в механизме холереза, так как в опытах на изолированной печени со стабилизированным кровотоком охлаждение печени или добавление к перфузату эфира приводило к резкому снижению желчеобразования, а не к его усилению, что должно было бы иметь место при эффективной реабсорбции.

Шаффер (*F. Schaffer*, 1965), на основании морфологических исследований стенок желчных протоков в печени человека при обструкции желчевыносящих путей, высказал предположение о роли механизмов реабсорбции в условиях холестаза.

Чендорович (*J. Chendorovitch*, 1968) при анализе желчеобразования методом "stop-flow" установил, что в мелких желчных канальцах происходит реабсорбция воды, при этом первичная желчь изоосмотична крови. В желчных протоках осуществляются процессы секреции воды, натрия и значительного количества калия. Билирубин не всасывается обратно ни в мелких желчных канальцах, ни в желчных протоках и продолжает секретироваться в мелких желчных канальцах при остановке вытекания желчи.

Эрлингер (*S. Erlinger*, 1968) считает, что процессы реабсорбции в физиологических условиях имеют

меньшее значение, чем при различных патологических состояниях желчевыносящей системы (холецистэктомии, обструкции желчных путей и т.д.).

Таковы современные представления об интимных механизмах желчеобразования.

Глава II

СИСТЕМА ГИАЛУРОНОВАЯ КИСЛОТА- ГИАЛУРОНИДАЗА И ЕЁ БИОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

1. Физическая и химическая структура гиалуроновой кислоты, её локализация в тканях и органах животного организма.

Шванн (*Swann*, 1939) в своей работе "О клеточном строении животных организмов" впервые ввел понятие об основном веществе соединительной ткани (цит. по В.П. Шехонину, 1949).

М.Г. Нестеровский (1872) и С.Н. Колачевский (1872), используя метод золочения тканевых срезов, обнаружили внутри печеночных долек человека и животных особую сеть волокон и приняли её за нервное сплетение. Фактически это было основное аргофильное вещество соединительной ткани (К.Г. Шумакова- Турбина, 1910; К.П. Балицкий, 1950).

Купфер (*C. Kupfer*, 1876, 1890) продолжали исследования М.Г. Нестеровского и С.Н. Колачевского и указал на решетчатое расположение волокон соединительной ткани.

С.М. Лукьянов (1894) подробно исследовал структуру основного вещества и указал на необходимость тщатель-

ного его изучения.

Состав основного аргирофильного вещества, долго остававшийся неизвестным, был расшифрован в последние десятилетия. Кажущееся оптически гомогенным основное вещество соединительной ткани состоит из мукопротеинов и мукополисахаридов, то есть высокомолекулярных соединений, построенных из гексозаминов, гексуроновых кислот и различных гексоз. В животном организме они сосредоточены главным образом в различных видах соединительной ткани, но особенно их много содержится в основном веществе межтканевой и межклеточной субстанции. Особую группу составляют мукопротеины - вещества, построенные из мукополисахаридного и белкового компонентов (С.М. Бычков, 1950).

Мукополисахариды делятся на кислые, включающие в свой состав гексуроновые кислоты (гиалуроновая кислота, гепарин, хондроитинсерная кислота и др.), и нейтральные, содержащие гексозамин и различные гексозы, но не имеющие в своем составе гексуроновых кислот, (гликоген, хитин и т.д.). Мукополисахариды содержатся не только в основном веществе, но и в составе различных экскретов и секретов животного организма (К. Meyer a. J. Palmer, 1934; К. Meyer, 1939).

Ряд авторов (R. Jeanloz, 1960; S. Balazs, R. Jeanloz, 1965) внесли предложение, согласно которому все полисахариды, содержащиеся в своем составе аминоксахара, следует называть гликозаминогликанами. В зависимости от природы аминоксахара они могут быть гликозамино-

гликанами и галактозаминогликанами. Наличие остатка гексуроновых кислот в полисахаридной цепи биополимера определяется общим термином гликозаминогликуронаны.

Белковые вещества и пептиды, содержащие углеводы, называются гликопротеинами и гликопептидами.

Важнейшим представителем мукополисахаридов основного вещества является гиалуроновая кислота, выделенная впервые Мейером и Пальмером (*K. Meyer & L. Palmer, 1934*) из камерной влаги бычьего глаза.. Эти же исследователи дали ему название гиалуроновая кислота (*hyaloz* - греч. стекло) и установили, что в его состав входят в эквимолекулярных соотношениях α - глюкозамин, глюкуроновая кислота и β - ацетилглюкозамин.

Топпер и Липтон (*Y. Topper, M. Lipton, 1953*) считают, что синтез гиалуроновой кислоты в организме осуществляется из глюкозамина, предшественником которого является глюкоза.

Мосбах и Кинг (*S. Mosbach, C. King, 1950*) подробно исследовали роль глюкуроновой кислоты в синтезе гиалуроновой кислоты.

Гроссфильд (*H. Grossfield, 1957, 1958*), Хадберг и Моритц (*H. Hadberg, G. Moritz, 1958*) осуществили биосинтез гиалуроновой кислоты в тканевых культурах фибробластов и синовиальных мембран.

До недавнего времени считалось, что гиалуроновая кислота, выделенная из различных источников, представляет собой совершенно идентичное вещество. На основании изучения препаратов данной кислоты, выделенных из стекло-

видного тела глаза и пупочного канатика человека, осуществило утверждение об обязательном эквимолекулярном соотношении остатков *N*-ацетилглюкозамина и глюкуроновой кислоты в молекуле гиалуроновой кислоты (С.М. Бычков, 1948).

Однако исследования Престон и соавт. (*B. Preston et al.*, 1965) показали ряд физических и химических особенностей у препаратов различного происхождения. Так, оказалось, что не во всех случаях остатки *N*-ацетилглюкозамина и глюкуроновой кислоты содержатся в молекуле гиалуроновой кислоты в эквимолекулярном соотношении, во многих случаях указанное соотношение больше единицы и неодинаково у препаратов, полученных из различных органов и у различных видов животных.

Сэндсон и соавт. (*J. Sanderson et al.*, 1962) выявили в молекуле гиалуроновой кислоты по концам её полисахаридных цепей ковалентно связанные белковый или полипептидный компонент. Количество ковалентно связанного белкового (полипептидного) компонента невелико и зависит от органа и вида, а также физиологического состояния организма. На основании этих данных С.М. Бычков (1968) делает вывод, что существует группа гиалуроновых кислот, отдельные представители которой в определенных, нешироких пределах различаются между собой по ряду физических и химических показателей.

При растворении гиалуроновой кислоты образуется вязкий коллоидный раствор. Так, 0,1%-ный раствор её

в 0,9 % растворе *NaCl* при 20° С имеет вязкость в 12 раз большую по сравнению с вязкостью воды. Высокоочищенные препараты гиалуроната калия находятся в растворе в полидисперсном состоянии, его частицы соединяются в длинные нити, чем и объясняется высокая вязкость растворов. Длина частиц гиалуроната калия по вискозиметрическим исследованиям составляет от 4 700 до 10^5 Å. Соответственно этому молекулярный вес таких частиц составляет 200 000 - 500 000 (Л.Г. Смирнова, 1957).

Престон и соавт. (*B. Preston et al.*, 1965) установили, что молекулы этой кислоты в растворе не обладают гибкостью беспорядочно закрученных клубков при удлинении и сокращении их, как это считалось ранее. Допускается предположение, согласно которому молекулы полимера в растворе представляют собой пространственно разветвленную структуру с частыми поперечными звеньями, образующими ячейки между главными ветвями. Такая структура должна обладать внутренним осмотическим давлением, обусловленным гибкими внутренними ветвями, способными сохранять ячейки полностью растяжимыми.

Ценные данные были получены при изучении физических свойств растворов гиалуроновой кислоты, содержащих высокомолекулярные вещества. Лорент (*T. Laurent*, 1963) показал, что смешанный раствор гиалуроновой кислоты и сывороточного альбумина имеет осмотическое давление больше, чем сумма осмотических давлений отдельных растворов гиалуроновой кислоты и альбумина при тех же концентрациях. В основе этого механизма лежат простран-

ственные факторы, в частности, расположение молекул гиалуроновой кислоты в виде трехмерной сетки, из которой исключаются чуждые макромолекулы (в данном случае альбумин), тем самым концентрация этих чуждых макромолекул увеличивается, создавая избыточное осмотическое давление.

Способность гиалуроновой кислоты образовывать в водных растворах систему замкнутой трехмерной сетки из отдельных молекулярных цепей имеет определенное значение. Лорент и соавт. (*T. Laurent et al., 1963*) установили, что такая пространственная структура оказывает сопротивление прохождению через неё индивидуальных микромолекул уже при концентрации гиалуроновой кислоты. $0,10^{-3} - 1,10^{-3}$ г/мл. Таким образом, этот биополимер, хотя и не образует гели, но во многих отношениях ведет себя, как гель, и действует в отношении других макромолекул как молекулярное сито, обладающее способностью задерживать движение других макромолекул.

По мнению Лорент (*T. Laurent et al., 1964*) гиалуроновые кислоты считаются наиболее эффективными биополимерами по способности задерживать миграцию других макромолекул.

Вязкость растворов гиалуроновой кислоты непостоянна и значительно снижается при действии ультрафиолетовых и рентгеновых лучей, а также ультразвука (В.Н.Кисилев, 1954, В.П. Шехонин, 1949). Электролиты обратимо понижают вязкость гиалуроновой кислоты пропорционально степени их

концентрации (М.Ш.Могилевский, 1948; Л.Г. Смирнова 1957). Под влиянием специфической муциназы бактериального или тканевого происхождения - гиалуронидазы- гиалуроновая кислота лишается свойственной ей способности образовывать сгусток муцина в кислой среде и теряет присущую ей вязкость (деполимеризация), после чего распадается с образованием редуцирующих веществ (гидролиз) (K.Meyer et al., 1941).

Гиалуроновая кислота химическими и биологическими методами была обнаружена во многих тканях организма. Она заполняет межклеточные пространства тканей, стенок кровеносных и лимфатических капилляров, являясь компонентом так называемого основного аргирофильного вещества (А.И. Смирнова-Замкова, 1946; В.Н. Могильницкий, 1949; В.П.Шехонин, 1949). Гиалуроновая кислота найдена в стекловидной ткани глаза (K.Meyer a. G.Palmer, 1934), в синовиальной жидкости суставов (K.Meyer, E.Smyth, N.Dawson, 1939), в роговице и коже, где она находится в виде сернокислого эфира (K.Meyer a. E.Chaffee, 1941), а также в вартоновой студени пупочного канатика.

Гиалуроновая кислота была также обнаружена в фолликулярной жидкости и в оболочках яйца млекопитающего (D.McClean a. J.Rowlands, 1942). Чейн и Дюти (E.Chain, E.Duthie, 1940) описали скопление гиалуроновой кислоты в коже при миксидеме и нарастание её концентрации в синовиальном секрете при воспалении коленного сустава. Считается, что гиалуроновая кислота способствует удержанию воды в интерстициальных пространствах, амортизации

толчков в суставах, участвует в регенерации (З.Н. Запрудская, 1953) в течении ряда ферментативных процессов. Заполняя межклеточные пространства кожи и подкожной соединительной ткани, стенок сосудов, оболочек яйца и т.д., гиалуроновая кислота, повидимому, несет барьерные функции и играет большую роль в тканевой проницаемости (Е.А.Гейман, 1947; М.С.Игнатова, 1957).

2. Гиалуронидаза - специфический фермент,
расщепляющий гиалуроновую кислоту.

Ингибиторы гиалуронидазы

История изучения муциназы, специфически гидролизующей гиалуроновую кислоту и отсюда получившей название гиалуронидазы, тесно связана с более ранними исследованиями по так называемым факторам распространения, или факторам диффузии - "*spreading-factor*" (F. Dyran-Reynals, 1928), или "*diffusing-factor*" (D. Mc Clean, 1936). Так были названы вещества, которые не только сами быстро распространяются в толще кожи, но при совместном с некоторыми индикаторами (красками, тушью, а также с микробами и токсинами) внутрикожном введении значительно усиливают всасывание последних, что проявляется увеличением окрашенного участка кожи по сравнению с контрольным местом введения одной только краски (феномен Дюран-Рейнальса).

Факторы распространения были найдены в экстрактах семенников и сперматозоидов. (F. Dyran-Reynals, 1928; 1938; A. Claude, F. Dyran-Reynals, 1934) в инвазивных бактериях (D. Mc Clean, 1936; 1948), в яде змей, пауков и пчел (F. Dyran-Reynals, 1936; G. Favilli, 1940).

Чейн и Дюти (*C. Chain a. E. Duthie, 1940*) обнаружили в экстрактах семенников в значительных концентрациях фермент муциназу, специфически разлагающий гиалуроновую кислоту стекловидной влаги глаза, синовиальной жидкости, вартоновой студени. Фермент этот оказался аналогичным описанной Мейером и др. (*K. Meyer a. oth., 1937*) гиалуронидазе бактерий пневмококка, гемолитического стрептококка, стафилококка и анаэробов. (*K. Meyer, E. Schaffner, J. Hobby, M. Dawson, 1940*). Чейн и Дюти фактически идентифицировали "фактор распространения" Дюран-Рейнальса и фермент гиалуронидазу, открытую в лаборатории Мейера. Таким образом, после нескольких лет изолированных поисков идентифицирование "фактора распространения" с энзимом гиалуронидазой послужило стимулом для возникновения представления о существовании единой энзиматической системы гиалуронидаза - гиалуроновая кислота, функции которой лежит в основе многих биологических и патологических явлений. Чейн и Дюти показали также, что "фактор распространения" представляет собой соединение различных ферментов и веществ, обладающих неодинаковыми свойствами. Гиалуронидаза является лишь одним из представителей "фактора диффузии".

Понижение вязкости гиалуроновой кислоты под влиянием гиалуронидазы впервые описали Мединавейция и Квибелл (*J. Madinaveitia a. T. Quibell, 1940*). Манн и Лютвик-Манн (*T. Mann a. C. Lutwak-Mann, 1944*) приводят подобную схему деградации комплексов гиалуроновой кислоты под воздействием гиалуронидазы. Они выделили три этапа разложения субстра-

та гиалуроновой кислоты; в первой фазе происходит потеря способности свертывания уксусной кислоты, во второй фазе падение вязкости гиалуроновой кислоты вследствие дезагрегации мицелл гиалуроната, на третьем этапе появляются свободные редуцирующие вещества - ацетилглюкозамин и глюкуроновая кислота, распадающиеся на аммиак и другие продукты окисления.

Мак Клин и Хейл (Mc.Clean and C. Hale, 1941) показали, что степень концентрации энзима не идет параллельно с его влиянием на вязкость субстрата гиалуроновой кислоты. Как энзим гиалуронидаза действует специфично только на гиалуроновую кислоту.

Действие гиалуронидазы на субстрат гиалуроновой кислоты может уменьшаться или даже полностью тормозиться целым рядом веществ и факторов - так называемых неспецифических ингибиторов гиалуронидазы.

М.И.Алавердин (1961) среди неспецифических ингибиторов гиалуронидазы различает следующие:

1. Сывороточные ингибиторы;
2. Влияние лучистой энергии;
3. Энзимные ингибиторы;
4. Механический фактор;
5. Термические факторы;
6. Бактериологические препараты;
7. Прочие ингибиторы.

Л.А. Зильбер (1958) к неспецифическим ингибиторам гиалуронидазы относит желчнокислые соли, хондроитинсерную кислоту, стеролы, гемин, протопорфирин, ионы раз-

личных металлов.

Ряд веществ, являющихся продуктами метаболизма в организме, угнетает действие гиалуронидазы. Установлено, что адренокортикотропный гормон и некоторые гормоны коркового слоя надпочечников тормозят активность гиалуронидазы (С. Нутан а. А. Chamberg, 1943; J. Opsahl, 1949; J. Seifter et al., 1949). Понижение активности гиалуронидазы вызывают салицилаты, производные антипирина, гепарин, эстрогены, дигиталис (S. Greif u. F. Wenig, 1953; R. Lotmar, 1960).

Мак Клин (D. McClean, 1942) впервые показал, что гиалуронидазное действие тормозится другими мукополисахаридами - гепарином, хондроитинсерной кислотой, муцином желудка и др.

По мнению Русиньяк, Фельди, Сабо (1957) механизм торможения гиалуронидазы гепарином является, возможно, компетитивным, или - что еще более вероятно - механизм торможения основывается на том, что энзим связывается с гепарином, структура которого в значительной степени похожа на структуру субстрата гиалуроновой кислоты, так, что гепарин тормозит энзимное действие на гиалуроновую кислоту.

Эти воззрения по-существу совпадают с предположением Мак Клина и нашли свое подтверждение в дальнейших исследованиях (В.П. Казначеев, 1958; В.П. Казначеев, В.П. Лозовой, 1958; L. Hadidian et al., 1957).

Активными ингибиторами гиалуронидазы являются витамин Р и аскорбиновая кислота. Особенно ярко это

действие выражено при их совместном применении. Бейлер и Мартин (*J. Beiler a. G. Martin, 1947*), установив *in vitro* повышение ингибиторного действия витамина С при его комбинировании с препаратами, обладающими Р--витаминной активностью, предполагают, что степень активации может служить критерием принадлежности соединения к группе витамина Р. Заметное торможение действия гиалуронидазы на гиалуроновую кислоту при введении аскорбиновой кислоты получили в экспериментах Репперт и соавт. (*G. Reppert a. oth., 1951*).

Некоторые авторы отрицают ингибирующий эффект на гиалуронидазу аскорбиновой кислоты без присутствия биофлавоноидов (Н.Н. Березовская, 1937). Баев А.А. (1930) считает, что аскорбиновая кислота и биофлаваноиды сами по себе не обладают свойствами ингибиторов гиалуронидазы, что доказывается опытами *in vitro* с очищенными препаратами субстрата и фермента. Автор не исключает, однако, тормозящего действия аскорбиновой кислоты и биофлаваноидов на гиалуронидазу в животном организме за счет вторичных или побочных реакций. Подобных взглядов придерживаются Гульд и Васснер (*B. Gould, J. Wassner, 1957*). Учитывая универсальность и многообразие функций, присущих аскорбиновой кислоте, можно представить, что в одних случаях она нормализует проницаемость за счет подавления активности гиалуронидазы. Это проявляется при повышении проницаемости барьеров, вызванной факторами, активизирующими фермент. В других случаях это происходит путем регуляции синтеза межклеточного или основного вещества

капиллярной стенки. И, наконец, при повреждении клеток энтоделия аскорбиновая кислота может оказать на их функцию нормализующее влияние (Е.А.Губарев, 1966).

К веществам, оказывающим тормозящее влияние на гиалуронидазу, относят антигистаминные препараты. Считается, что гистамин повышает её активность как *in vitro*, так и *in vivo*, усиливая эффект распространения и в большей степени нарушая проницаемость гистогематических барьеров (Д.Е. Рывкина, 1952; J. Solyer, 1948; S. Kelentzi, 1955; и др.). Ингибирующее же действие на гиалуронидазу различных представителей группы противогистаминных средств (анерган, фенерган или пипольфен и др.) убедительно демонстрируют результаты экспериментов Майера и Кюлля (R. Mayer a. F. Kull, 1947), Эльстера и соавт. (S. Elster a. oth., 1949), Шмагеля (O. Smahel, 1960) и других исследователей.

Однако отдельные авторы (M. Coltorti et al., 1951; O. Braun-Falco u. G. Weber, 1952; J. P. Duesberg, 1952) высказывают сомнение относительно антигиалуронидазной активности синтетических антагонистов гистамина. Эти противоречия в некоторой степени могут быть объяснены тем, что, во-первых, в большинстве случаев изучались антигистаминные препараты или различной химической структуры, или аналогичные, но взятые в разных дозировках. Во-вторых, применялось большое количество методов, из которых не все исследования могут считаться адекватными (Е.А.Губарев, 1964).

Признавая торможение гиалуронидазной активности при введении антигистаминных средств, Мейер и др. (*R. Meier a. oth.*, 1951) несколько иначе рассматривают механизм этого действия. Они считают, что оно происходит за счет гормонов передней доли гипофиза и коркового слоя надпочечников. Для доказательства этого предположения была поставлена большая серия опытов на здоровых крысах и после удаления надпочечников. Авторы наблюдали малую эффективность фенергана у крыс с удаленными надпочечниками. На этом основании они предполагают сложный механизм превентивного действия антигистаминных препаратов, включающий в себя необходимость активации гормональной деятельности надпочечных желез, под влиянием этих препаратов.

Многочисленные же эксперименты Гальперна и соавт. (*B. Halpern a. oth.*, 1946), поставленные в аналогичных условиях, подчеркивают отсутствие различий в активности некоторых препаратов у здоровых и адреналэктомированных животных. Правда, в большинстве случаев они использовали фенерган, который по данным Байоза и соавт. (*E. Biozzi a. oth.*, 1950) обладает и неспецифическим действием на проницаемость капилляров.

Мойнан и Вотзен (*E. Moynahan a. D. Watson*, 1949) предполагают, что действие антигистаминных препаратов направлено не на гиалуронидазу, а на освобождаемый ею гистамин, предотвращая тем самым повышение проницаемости гистогематических барьеров.

3. Физиологическое значение системы гиалуронидаза - гиалуроновая кислота

Интерес к изучению системы гиалуроновая кислота-гиалуронидаза определяется её отношением к важнейшим биологическим явлениям, какими являются оплодотворение, проницаемость и целый ряд других физиологических процессов.

М.Клини и Роуландс (*Mc Clean, J. Rowlands, 1952*) впервые показали, что гиалуронидаза, содержащаяся в семенной жидкости, вызывает быструю дезагрегацию и рассеивание фолликулярных клеток, образующих вокруг зрелой яйцеклетки "*zona radiata*", которая препятствует проникновению в неё сперматозоидов. Интересно, что у амфибий, рептилий и птиц, у которых яйца вообще не окружены фолликулярными клетками, тестикулярные экстракты не содержат гиалуронидазы.

Значение мукополисахаридов основного вещества и, в частности гиалуроновой кислоты, для явлений межклеточной проницаемости, отчетливо обнаружено в опытах Дея (*W. Day, 1957*). Он установил, что количество жидкости, проходящее через тонкую фасциальную перепонку может увеличиваться в 10-20 раз при добавлении к жидкости гиалуронидазы или при обработке её фасции. Действие гиалуронидазы уничтожается прибавлением к жидкости крахмала. Если проницаемость перепонки была нормализована крахмалом, то повторное воздействие гиалуронидазой не оказывает влияния на фильтрацию. Усиление фильтрации в этом случае наступало после обработки перепонки иалином.

Дей делает важный вывод: межфибрилярное и межклеточное вещество энтоделиальных и эпителиальных мембран можно рассматривать как ситевидную структуру, водонепроницаемость которой обеспечивается высокополимерными молекулами гиалуроновой кислоты. Под воздействием гиалуронидазы, влияющей на состояние полисахаридного компонента, происходит утрата герметичности. Чем сильнее дезагрегационный и деполимеризационный эффекты, тем глубже изменения проницаемости. Учитывая значение гиалуроновой кислоты в регуляции процессов проницаемости, вполне естественно предположить, что повышение активности гиалуронидазы может вызвать резкое нарушение проницаемости капилляров. Поэтому состоянию системы гиалуронидаза - гиалуроновая кислота уделяется большое внимание при анализе механизмов проницаемости гистогематических барьеров (Б.Н. Могильницкий, В.П. Шехонин, 1949; Г.Е. Фрадкин, 1956; М.Р. Зубкова И.С. Диденко, 1961; Е.А. Губарев, 1964, 1966).

Опыты Х.С. Каштоянца (1948, 1951) и Д.Е. Рывкиной (1952) показали участие системы гиалуроновая кислота - гиалуронидаза в процессе передачи возбуждения с вагосимпатического нервного ствола на сердце у лягушки.

Обнаружение гиалуроновой кислоты в жидкости глаза и роговицы (*K. Meyer a. J. Palmer*, 1934), а гиалуронидазы - в ресничном теле и радужной оболочке, породило гипотезу о значении этой энзимной системы в регуляции

водного обмена внутриглазной жидкости (К. Meyer a. обр., 1941; К. Meyer, 1947), которая не потеряла своего значения по настоящее время (А. Пири и Р. Ван Гейнинген, 1968).

На основании ряда работ (А. Г. Гинецинский, Л. Н. Иванова, 1958; А. Г. Гинецинский, В. Ф. Васильева, 1961, 1963; А. Г. Гинецинский, В. Ф. Васильева, Ю. В. Наточин, 1961; А. Г. Гинецинский, 1964) сформулирована гипотеза о гиалуронидазном механизме действия антидиуретического гормона вазопрессина. Согласно этой гипотезе, клетки эпителия дистальных канальцев под влиянием вазопрессина выделяют фермент гиалуронидазу. Деполимеризуя гиалуроновую кислоту, входящую в состав межклеточного цемента стенки нефрона, этот энзим делает её проницаемой для воды, которая и реабсорбируется, повинудясь осмотическому градиенту. Таким образом, система гиалуроновая кислота- гиалуронидаза принимает участие в водовыделительной функции почки.

Исследованиями Проиной Н. Н., И. Х. Гасбановой, Г. В. Мхитаровой (1962), Г. В. Мхитаровой (1963) также установлено, что антидиуретический гормон вазопрессин регулирует процессы реабсорбции в желчном пузыре через систему гиалуроновая кислота- гиалуронидаза.

Этот далеко не полный перечень отечественных и зарубежных работ свидетельствует о несомненной важной роли системы гиалуронидаза - гиалуроновая кислота во многих физиологических процессах животного организма.

Между тем в доступной литературе отсутствуют сведения о значении системы гиалуронидаза - гиалуроновая кислота в механизме образования желчи, хотя следует отметить, что недавно гиалуронидаза была открыта в лизосомах печени (*N. N. Aronson, & A. Davidson, 1965*).

Мы поставили своей задачей в сериях разнообразных опытов, как хронических, так и острых, найти доказательства предположений об участии системы гиалуронидаза - гиалуроновая кислота в интимном механизме желчеобразования.

Глава III

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Для подтверждения гипотезы об участии системы гиалуроновая кислота — гиалуронидаза в интимном механизме желчеобразования прежде всего мы поставили задачу — определить, имеется ли в желчи фермент гиалуронидаза, иначе — обладает ли желчь гиалуронидазной активностью.

Соответственно поставленной задаче провели серию опытов, в которых желчь, полученную у шести различных видов животных, подвергли исследованию на гиалуронидазную активность вискозиметрическим методом. Всего поставили 60 экспериментов.

Затем мы предприняли хронические и острые опыты на собаках и крысах с изучением влияния гиалуронидазы и её ингибиторов — гепарина, пипольфена и аскорбиновой кислоты на спонтанное и пищевое желчеобразование. В исследуемой желчи определяли содержание плотного остатка, билирубина, холестерина, желчных кислот, калия и натрия, а также гиалуронидазную активность. В острых опытах на крысах гистохимическими методами изучили влияние гиалуронидазы и её ингибиторов на динамику содержания в печени РНП, гликогена и кислых мукополисахаридов. Соответственно этому проведены следующие серии опытов:

1. Влияние гепарина, пипольфена и аскорбиновой кислоты на спонтанное желчеотделение в хронических опытах на 5 собаках — 250 опытов.

2. Влияние гепарина, пипольфена и аскорбиновой кислоты на пищевое желчеотделение в хронических опытах на 5 собаках - 270 опытов.
 3. Влияние гиалуронидазы, гепарина, пипольфена и аскорбиновой кислоты на желчеотделение в острых опытах на 30 крысах.
 4. Влияние гиалуронидазы, гепарина, пипольфена и аскорбиновой кислоты на динамику содержания РНП, гликогена и кислых мукополисахаридов печени в острых опытах - на 60 крысах.
1. Способы оперирования подопытных животных и проведения хронических экспериментов.

Изучение желчеобразовательной функции печени проводилось на собаках с фистулой желчного пузыря по Шванну (1841). Для опытов подбирались крупные собаки, весом 14-20 кг. Под общим эфирным наркозом производили верхнюю срединную лапоротомию. Желчный пузырь выводили в рану и на область его дна накладывался круговой кисетный серозно-мышечный шов. Желчный пузырь пунктировали и и шприцом отсасывали содержащуюся в нем желчь, обычно 25-30 мл. После этого рассекали пузырь в пределах кисетного шва и в отверстие вставляли фистульную трубку (весом 5-6 г) из нержавеющей стали. Внутрипузырный конец фистулы фиксировали круговым кисетным швом. В области печеночно- дуоденальной связи отыскивали общий желчный проток и у места его впадения в двенадцатиперстную кишку пересекали между двумя лигатурами. Рана послой-

но ушивалась, фистульная трубка выводилась через верхний угол раны под мечевидным отростком.

В послеоперационном периоде животных содержали на щадящем пищевом рационе. Швы снимали на 7-8 сутки после операции. К концу второй недели животных ставили в станок и постепенно приучали к лабораторной службе. Опыты начинали не раньше, чем через три недели после операции.

Животных в процессе экспериментов содержали на смешанном пищевом рационе с одноразовым кормлением в сутки. В пищу добавляли желчь, собранную у собак за время экспериментов, рыбий жир и периодически поливитамины. Питательный режим не ограничивали. Следует отметить, что на протяжении всего периода наблюдений (2-3) месяца животные были в относительно хорошем состоянии.

Опыты проводили натошак в одно и то же время (в 9 часов утра) в специальной комнате. Продолжительность каждого опыта 6 часов в серии с изучением влияния ингибиторов на спонтанное желчеотделение и 5 часов - в серии с пищевым желчеобразованием. Предварительно в контрольные дни изучали фоновую секрецию желчи, а затем в опытные дни парентерально вводили препараты ингибиторов гиалуронидазы. Как неспецифические ингибиторы гиалуронидазы в опытах использовали гепарин "Рихтер" (500-1 000 ед/кг веса внутривенно), пипольфен (гидрохлорид $\mathcal{N}$ -(2-диметиламино-1-пропил) - фенотиазин) (2,5 - 5 мг/кг веса внутривенно или внутримышечно), аскорбиновую кислоту (18-36 мг/веса внутривенно) или внутримышечно в виде натриевой соли 0,25-0,5 М раствора с $pH=6,75$ или официального 5 %

раствора аскорбината натрия.

В опытах по изучению влияния ингибиторов на пищевое желчеобразование после первого часа скармливали пищевые раздражители: молоко (400 мл) или мясо (100 г) и также вводили ингибиторы гиалуронидазы. В дальнейшем желчеобразование учитывали в одночасовых порциях в течение 4 или 5 часов. В части опытов изучение желчеобразования проводили с пятнадцатиминутными промежутками. Содержание желчных кислот определяли в общих порциях желчи, полученной за 5 часов, в часовых порциях желчи и в части опытов - в пятнадцатиминутных порциях. Плотный остаток исследовали в часовых порциях желчи. Содержание билирубина, холестерина и гиалуронидазную активность определяли в пятичасовых порциях желчи.

2. Методика проведения острых опытов

Для изучения влияния гиалуронидазы и её неспецифических ингибиторов - гепарина, нипольфена и аскорбиновой кислоты на желчеобразовательную функцию печени в качестве объекта для острых опытов мы выбрали беспородных белых крыс; как известно (*J. Vanlerenberghe a. oth., 1960*), желчеобразование у крыс отличается сравнительным постоянством и большинство работ отечественных и зарубежных авторов по изучению желчеотделения в острых опытах выполнено на крысах или на морских свинках. Для опытов подбирали половозрелых крыс - самцов (весом 150-200 г). Экспериментам предшествовало 16-часовое голодание животных. Крысы наркотизировались внутрибрюшинным введением 40%

раствора уретана из расчета 2 г/кг веса. Во время опыта, во избежание переохлаждения, крыс помещали на подогреваемый до 36°C стол.

Срединным разрезом вскрывали брюшную полость и в рану выводили печеночно-дуоденальную связку, в которой отыскивали общий желчный проток у места его впадения в кишку. Проток отсепаровывали от окружающей клетчатки на участке 7-10 мм, брали (под бинокулярной лупой) на лигатуры, пересекали и в проксимальном направлении вводили тонкий полиэтиленовый катетер (0,13-0,15 мм), который фиксировали лигатурой в протоке. Сразу же после введения катетер начинает заполняться желчью. Осуществляли тщательный гемостаз поврежденной части печеночно-дуоденальной связки. Брюшную полость закрывали наглухо. Вся процедура занимала в среднем 5-8 минут. Желчь собирали в серологические пробирки и её количество определяли путем взвешивания на аналитических весах с точностью до 0,1 мг. По истечении первого контрольного часа крысам внутрибрюшинно вводили препараты гиалуронидазы или её ингибиторов. В опытах использовали гиалуронидазу "Реаналь" (25 000 ЕД/кг веса), гепарин "Рихтер" (1 000 ЕД/кг веса), пипольфен (5 мг/кг), аскорбинат натрия (54 мг/кг веса). Все препараты вводили в 0,5 мл физиологического раствора поваренной соли. Животным контрольной серии вводили только физиологический раствор *NaCl*. Продолжительность каждого опыта 5 часов. В часовых порциях желчи определяли содержание желчных кислот (г/л), калия и натрия (мэкв/л). В общем количестве желчи, полученной за все часы опыта,

исследовали гиалуронидазную активность с помощью вискозиметрического метода.

3. Методика биохимических анализов желчи

Содержание желчных кислот определяли с помощью пробы Шире и Куни, основанной на реакции Петенкоффера (Ю.А. Петровский, 1947). Только в отличие от классической методики, после обработки пробы доведение жидкости до метки 10 в мерных пробирках проводили 96 % спиртом, так как при этом окраска раствора оказывалась более стабильной (Г.Е. Сабуров, 1965). Полученный раствор, окрашенный в зелено-голубой цвет, колориметрировали в электрофотоколориметре ФЭК-М против стандартного раствора гликохолевокислого натрия, обработанного также, как и опытная проба.

Содержание билирубина и холестерина в желчи определяли также колориметрическим способом, описанным в Руководстве по клиническим лабораторным исследованиям В.Е.Предтеченского (Е.А. Кост, Л.Г. Смирнова, 1964). Реакцию определения билирубина проводили по способу Ван ден Берга и холестерина - В.А. Энгельгардта и Л.Г. Смирновой.

Плотный остаток желчи определяли весовым методом с точностью до 0,1 мг. Высушивание образцов до постоянного веса проводили в сушильном шкафу при $T = 105^{\circ} \text{C}$.

Концентрацию в желчи ионов калия и натрия определяли методом пламенной фотометрии (А.Г. Руммель, А. Важенова, 1967) на пламенном фотометре ФПЛ-1.

При работе с пламенным фотометром всю посуду подвергали тщательной обработке и использовали бидистиллированную воду как для мытья посуды, так и для приготовления стандартов и других растворов.

Для определения гиалуронидазной активности желчи использовали вискозиметрический метод, который часто применяется для количественного определения гиалуронидазы в различных экстрактах тканей и биологических жидкостях (Ю.В. Наточин, 1959 ; *J. Medina Veitia, R. Quibell, 1940; S. Dalgaard Mikkelson et al, 1948; W. Daubenmerkel, 1957; P. Kundsén et al, 1961*). Вискозиметрический метод, хотя и трудоёмок, но довольно точный. (*W. Daubenmerkel* , 1956). По данным Чейн и Доти (*S. Chain a. S. Duthie, 1940*) ошибка вискозиметрического метода равна + 10 %.

Гиалуроновую кислоту для опытов мы получали из пупочных канатиков новорожденных, руководствуясь при этом указаниями Мак Клина и Хейла (*S. Mc Clean a. S. Hale, 1941*). Светлые человеческие пупочные канатики тщательно расщипывали и удаляли из них все сосуды и места, импрегнированные кровью. Затем их помещали в двойной объём ацетона при $T + 4^{\circ} C$ на 48-72 часа. Извлеченные из ацетона канатики высушивали на воздухе. Высушенные канатики сохраняются значительное время и по мере необходимости из них можно экстрагировать гиалуроновую кислоту.

Экстракция гиалуроновой кислоты осуществлялась в дистиллированной воде при $T = + 65, + 70^{\circ} C$ в течение 16-18 часов. Раствор гиалуроната отфильтровывали и центрифуговали, а затем его вязкость доводили по отношению к

воде до 2,5-3,0, пользуясь при этом вискозиметрами Освальда с диаметром капилляра 0,6 мм. Если вязкость гиалуроновой кислоты была 7, а требуемая равна 3, то гиалуроновую кислоту разводили в отношении 7 : 3 (2,3 раза), т.е. на 1 мл исходной гиалуроновой кислоты добавляли 1,3 мл дистиллированной воды, после чего определяли рабочую дозу разведенной гиалуроновой кислоты. Стандартизированный раствор гиалуроновой кислоты нагревали до кипения для инактивации ферментных белков, в стерильных условиях расфасовывали в ампулы по 8 мл и в таком виде сохраняли при $T = + 4^{\circ} \text{C}$.

Как известно (*J. Madinaveitia, 1939*), наибольшая активность гиалуронидазы проявляется при $T = +37^{\circ} \text{C}$ и при pH от 4,0 до 10,0. Поэтому перед работой раствор гиалуроновой кислоты забуферивали с помощью ацетатного буфера, имеющего $\text{pH} = 6,0$. Приготовление 0,1 М ацетатного буфера с $\text{pH} = 6,0$ производили по следующему рецепту : к 3 мл 0,5 М уксусной ледяной кислоты добавляли 97 мл 0,5 уксусной кислого натрия, а затем 4,384 г хлористого натрия, дважды перекристаллизованного. Общий объем смеси ^{доводили} до метки 500 в мерной колбе. После приготовления буферного раствора его pH измеряли электрометрическим способом на pH-метре и периодически контролировали в процессе работы. Определение гиалуронидазной активности желчи производили в вискозиметрах типа Освальда в специальной ванне ультра-термостате с подогревом до $T = + 38^{\circ} \text{C}$.

Определение гиалуронидазной активности производилось следующим образом. Два вискозиметра - контрольный и опытный с диаметрами капилляра 0,6 мм, с приблизительно одинаковым временем протекания дистиллированной воды (85-90 сек), помещали в водяную баню при $T = +38^{\circ} \text{C}$ и тщательно прогревали в течение 20 минут. Анализ начинался с установления так называемого "нуля" вискозиметра, т.е. времени протекания смеси, состоящей из буферного раствора, исследуемой желчи и дистиллированной воды. С этой целью в опытный вискозиметр наливали 3,5 мл дистиллированной воды, 1 мл ацетатного буфера $\text{pH} = 6,0$ и 0,5 мл. желчи, разведенной в два раза дистиллированной водой. В контрольный вискозиметр помещали все те же компоненты, только желчь брали инаktivированную прогреванием при $T = +60^{\circ} \text{C}$ в течение 20 минут, "Нуль" вискозиметра - это время протекания смеси воды, буферного раствора и исследуемой желчи в вискозиметре. Для каждого вискозиметра обычно "нуль" измеряется однократно и при расчетах этой величиной пользуются как постоянной (Ю.В. Наточин, 1959).

После тщательного промывания вискозиметров дистиллированной водой, спиртом и эфиром их помещали в ультра-термостат, прогревали. В воронки обоих вискозиметров помещали те же количества буферного раствора, по 3,5 мл гиалуроновой кислоты и по 0,5 мл желчи, разведенной в два раза дистиллированной водой. В контрольный вискозиметр помещали также инаktivированную желчь. Таким об-

разом, для одного анализа на гиалуронидазную активность обычно требуется 0,5 мл желчи, которую разводили в два раза дистиллированной водой. Смеси тщательно и быстро перемешивали и в течение 20 минут периодически измеряли их вязкость в обоих вискозиметрах. Величина падения вязкости, сравниваемая с данными контрольной пробы, характеризовала гиалуронидазную активность исследуемой желчи.

Ферментативную активность учитывали в условных единицах.

Одна условная единица соответствовала активности препарата, вызывающего в течение 20 минут снижение вязкости исходного раствора гиалуроновой кислоты на 1 %.

Для иллюстрации приводим пример определения гиалуронидазной активности желчи в одном из опытов (см. табл. 3)

Таблица № 3

Показатели	Опытный вискозиметр	Контрольный вискозиметр
"Нуль" вискозиметра (T_0)	87,2 сек.	98,1 сек.
Время протекания смеси в начале исследования (T_1)	122,8 сек.	136,6 сек.
Время протекания смеси через 20 минут (T_2)	119,0 сек.	136,0 сек.
Исходная вязкость гиалуроновой кислоты ($T_1 - T_0$)	$122,8 - 87,2 = 35,6$ сек.	$136,6 - 98,1 = 38,5$ сек.
Падение вязкости за 20 мин. ($T_1 - T_2$)	$122,8 - 119,0 = 3,8$ сек.	$136,6 - 136,0 = 0,6$ сек.
% падения вязкости	$\frac{3,8 \times 100}{35,6} = 10,7 \%$	$\frac{0,6 \times 100}{38,5} = 1,5 \%$

Следовательно, гиалуронидазная активность данной пробы желчи равна $10,7 - 1,5 = 9,2$ условных единицы (ЕД) и вычисляется по формуле :
$$A = \frac{T_1 - T_2}{T_1 - T_0} \times 100 .$$

Вискозиметрический метод, как показали наши исследования, довольно прост и дает хорошо воспроизводимые результаты.

4. Методика гистохимических исследований

В пяти сериях опытов на беспородных половозрелых крысах-самцах изучили динамику содержания РНП, гликогена, кислых мукополисахаридов печени после введения гиалуронидазы и её неспецифических ингибиторов. Препараты вводили внутривентрально в 0,5 мл физиологического раствора из расчета: гиалуронидазу "Реаналь" 25 000 ЕД/кг веса, гепарин "Рихтер" - 1 000 ЕД/кг, пипольфен - 50 мг/кг, аскорбинат натрия - 54 мг/кг. Крысам контрольной серии вводили физиологический раствор *насел.* Опыты проводили в одно и то же время суток, предварительно животные голодали 16 часов.

После инъекции препаратов животных забивали гильотинированием через 15, 30, 60 мин, 2, 4, 5 часов от начала опыта. Кусочки печени размером 0,3 см³ из всех долей фиксировали в жидкостях Карнуа, Пейсаховича (1957), 10 %-ном нейтральном формалине, а также в 4%-ном растворе основного уксуснокислого свинца на 8%-ном растворе формалина при температуре + 4 ° С и заливали в парафин. Срезы обрабатывали для выявления гликогена периодической кислотой- Шифф-реактивом по Мак Манусу (J. F. Mc Manus, 1948) Кислые муко-

полисахариды обнаруживали толуидиновым синим при $pH = 2,8 - 4,6$, диализованным железом по Хейлу в модификации Мюллера (*H. Møller*, 1964) РНП выявляли по Брауну (*A. E. G. Braune*, 1962) . Контроли проведены с кристаллической диастазой (" Марк " активность 2 800 ЕД) и лиофилизованной рибонуклеазой. Гистохимические данные интерпретированы на основании дифференциального анализа мукополисахаридов (В.В.Виноградов, В.В. Фукс, 1960, 1961; (*D. Münch*, 1965; *C. Velican*, 1966)

5. Методика статистической обработки данных опытов

Цифровой материал, полученный в хронических и острых опытах, подвергали статистической обработке методом дисперсионного анализа и методом оценки различия средних, в случае связанных между собой данных (Л.С. Каминский, 1964). Средний квадрат отклонений (σ^2) от средней величины (M) вариационного ряда обозначается в литературе термином дисперсия изучаемого признака. При дисперсионном анализе сумму квадратов отклонений делят на соответствующее число степеней свободы и получают сравнимые между собой меры колеблемости - дисперсии. Сумма квадратов отклонений вычисляется на основе отклонений от соответствующей средней арифметической, характеризующей общий уровень и групповые (частные) уровни.

Дисперсионный анализ состоит в оценке отношения дисперсии, вычисленной для колебаний групповых средних

от общей средней по выборочным данным (межгрупповая дисперсия), и их возможной случайной дисперсии (внутригрупповая случайная дисперсия). Для оценки результатов полученного отношения существуют специальные таблицы, позволяющие определить существенность различий постоянных и случайных колебаний в зависимости от числа степеней свободы. Под этим термином понимается количество элементов варьирования могущих принимать произвольные значения, не изменяющие общего уровня (или уровней), около которых это варьирование происходит.

Обычно отдельному расчету и оценке подвергалось общее количество желчи, выделенное животными за 5 или 6 часов опыта; количество желчи, выделенное в течение каждого часа опыта; количество желчных кислот (в граммах выделенных животными за все часы и за каждый час опыта; количество билирубина и холестерина (в миллиграммах), выделенных за все часы опыта.

При использовании метода оценки различия средних, в случае связанных между собой данных, вычисляли разность между средними величинами, затем среднюю всех разностей средних величин, сумму квадратов отклонений от неё, среднее квадратическое отклонение и среднюю ошибку разности, наконец, тест t . Вероятности P по распределению Стьюдента (t) находили в специальных таблицах. Если величина t была больше табличного отклонения при $P = 0,05$, то различия между сравниваемыми средними арифметическими величинами считали статистически достоверными.

" Но там (в желчи - Н.Б.) имеются еще вещества ферментные, про которые никак нельзя сказать, что они предназначены к удалению. Какое же значение имеют эти ферменты ? Это еще неизвестно "

(И.П.Павлов, Лекции по физиологии, 1912-1913, стр. 133-134, М., 1952).

Глава 1У

О НАЛИЧИИ В ЖЕЛЧИ ФЕРМЕНТА ГИАЛУРОНИДАЗЫ. ВЛИЯНИЕ НЕСПЕЦИФИЧЕСКИХ ИНГИБИТОРОВ ГИАЛУ- РОНИДАЗЫ НА СПОНТАННОЕ (ТОЩАКОВОЕ) ЖЕЛ- ЧЕОБРАЗОВАНИЕ В ХРОНИЧЕСКИХ ОПЫТАХ

В доступной нам литературе мы не нашли сведений о содержании гиалуронидазы в желчи и поставили задачу выяснить имеется ли в желчи этот энзим, а также выявить различие гиалуронидазной активности желчи у различных животных.

Для исследования гиалуронидазной активности использовали пузырную желчь пяти видов животных - лягушек, кур, собак, свиней, быков. У крыс нет желчного пузыря, поэтому в опытах использовали печеночную желчь, полученную путем катетеризации общего желчного протока. Представители этих видов животных имеют различные экологические условия, отличаются по характеру питания и по уровню обменных процессов. Для каждого вида выполнено не менее десяти опытов.

У крыс выявлены колебания гиалуронидазной активности желчи от 2,8 до 56,8 условных единиц (ед.). Средняя величина в этой серии опытов равнялась 28,2 ед. (рис.1). Активность фермента лягушек колебалась в разных опытах от 9,6 до 49,2 ед. средней величина в этой серии опытов была равна 26,9 ед. (для одного опыта брали желчь от 40 лягушек).

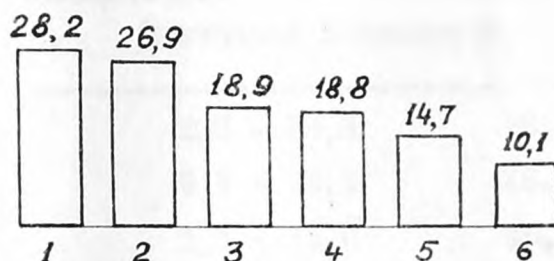


Рис. 1 Гиалуронидазная активность желчи различных видов животных (в усл.ед.)

1.- крыса; 2- лягушка; 3- курица;
4 - собака; 5- бык; 6- свинья .

Ферментативная активность пузырной желчи собак составила от 8,4 до 35,2 ед., а средняя величина была равна 18,8 ед. Гиалуронидазная активность желчи кур в среднем составляла 18,9 ед, а колебания были в пределах 1,6- 51,6 ед.

Анализ бычьей желчи выявил колебания гиалуронидазной активности от 0,4 до 21,2 ед, а средняя величина была равна 14,7 ед. По своей активности бычья желчь была близка к свиной желчи. Колебания гиалуронидазной активности свиной желчи составляли 5,6 - 23,2 ед, а средняя величина была равна 10,1 ед. Сводные данные этих опытов представлены в табл.4.

Таблица 4.

Гиалуронидазная активность желчи у различных видов животных (в условных единицах).

№ пп	Вид животного	Колебания активности	М ± м
1.	Крыса	2,8 - 56,8	28,2 ± 5,84
2	Лягушка	9,6 - 49,2	26,9 ± 4,71
3	Курица	1,6 - 51,6	18,9 ± 8,87
4	Собака	8,4 - 35,2	18,8 ± 4,19
5	Бык	0,4 - 21,2	14,7 ± 3,29
6	Свинья	5,6 - 23,2	10,1 ± 2,09

Среднеквадратические ошибки средних арифметических величин вариационных рядов вычислены по таблицам Р.В. Стрелкова (1966).

Проведенные исследования показали, что фермент гиалуронидаза содержится в желчи земноводных, птиц и млекопитающих, что свидетельствует о широком распространении этого энзима в желчи различных представителей животного мира. Сам факт, что гиалуронидаза является неиз-

белым компонентом желчи многих животных, позволяет предположить, на наш взгляд, его участие в механизме желчеобразования.

Г.Б. Мжитарова (1967) предполагает участие системы гиалуроновая кислота - гиалуронидаза в процессах реабсорбции в желчном пузыре. На основании своих экспериментов мы установили, что гиалуронидаза содержится в желчи не только у животных, имеющих желчный пузырь. Присутствие этого фермента в желчи крыс, не имеющих желчного пузыря, доказывает печеночное происхождение гиалуронидазы. Поэтому в противоположность Г.Б. Мжитаровой, которая рассматривает систему гиалуроновая кислота- гиалуронидаза исключительно в связи с процессами реабсорбции в желчном пузыре, мы считаем, что эта система заслуживает внимания при рассмотрении интимных механизмов желчеобразования.

Предположение о роли гиалуронидазы в физиологическом механизме холереза послужило для нас поводом изучить влияние гиалуронидазы и её неспецифических ингибиторов - гепарина, пипольфена и аскорбиновой кислоты - на желчеобразовательную функцию печени.

ВЛИЯНИЕ НЕСПЕЦИФИЧЕСКИХ ИНГИБИТОРОВ ГИАЛУРОНИДАЗЫ НА СПОНТАННОЕ (ТОЩАКОВОЕ) ЖЕЛЧЕОБРАЗОВАНИЕ В ХРОНИЧЕСКИХ ОПЫТАХ

В контрольные дни наблюдения у собак "Вольф" и "Ральф" спонтанное желчеотделение варьировало от первого к пятому часу эксперимента. Так, у собаки " Вольф" желче-

образование снизилось на 4 % во второй час опыта по сравнению с первым часом. В третий и четвертый часы секреция желчи незначительно увеличивалась, а в пятый час возвращалась к исходному уровню. (Рис. 2).



Рис.2. Тошачное желчеотделение у различных собак в течение 5 часов эксперимента. По абсциссе — часы опыта; по ординате — желчеотделение в % к исходному часу наблюдения (средние величины всех контрольных опытов у каждого животного).

На рис.2 приведены графики, отражающие динамику спонтанного желчеобразования в контрольные дни у различных собак в течение пяти часов опыта. Количество выделившейся желчи (в мл) за первый час опыта условно принято за 100 %.

У собаки " Ральф" желчеотделение повышалось на 13 % во второй час опыта и на 5 % в третий и четвертый часы; в пятый час эксперимента секреция желчи была ниже исходного уровня (рис.2).

У собак " Лисенок" и "Буська" и "Черный" в контрольных опытах спонтанное желчеобразование снижалось на протяжении всех часов опыта и никогда не превышало исходного уровня (рис.2). Минимальную секрецию желчи у большинства собак мы наблюдали в пятый час эксперимента.

У собаки " Буська" в контрольный период наблюдения изучена гиалуронидазная активность общих (пятичасовых) порций желчи. Мы обнаружили высокую гиалуронидазную активность желчи при небольшом уровне секреции, в то время как с увеличением холереза ферментативная активность желчи постепенно уменьшалась. Так, при желчеотделении 0,086 мл/мин гиалуронидазная активность была равна 48,2 ед, при 0,092 мл/мин - 40,0 ед, при 0,123 мл/мин - 18,8 ед, при 0,158 мл/мин - 9,0 ед.

Выявленная закономерность между способностью желчи деполимеризовать комплексы гиалуроновой кислоты и размером холереза представлена графически на рис. 3.

Можно предполагать, что уменьшение гиалуронидазной активности при увеличении желчеотделения является следствием снижения концентрации гиалуронидазы, выделяемой печенью в желчь обычно в постоянном количестве.

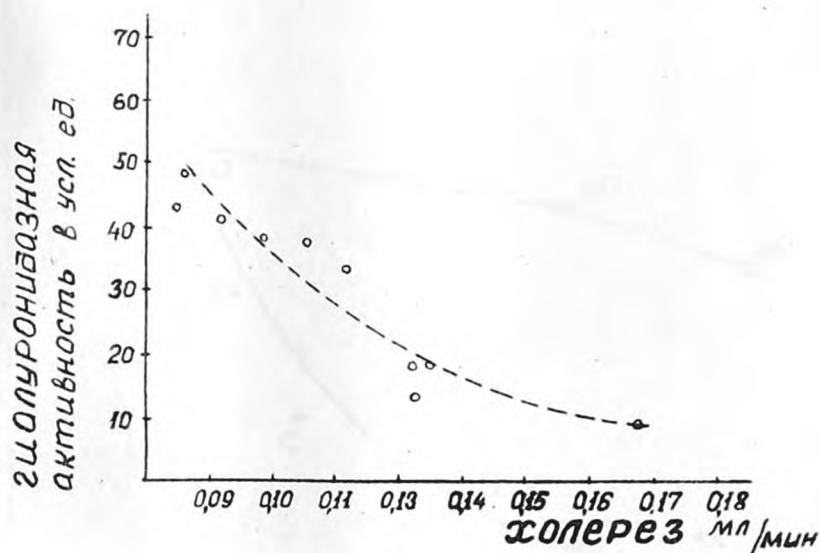


Рис.3. Зависимость гиалуронидазной активности от величины холереза у собаки "Вуська".
По абсциссе: холерез в мл/мин; по ординате — гиалуронидазная активность в усл.ед.
(Кривая построена по данным десяти опытов).

Для выяснения этого вопроса была исследована разведенная дистиллированной водой желчь, собранная при малом холере-
резе.

В результате этих опытов установлено, что гиалурони-
дазная активность желчи при низком дебите желчеобразования

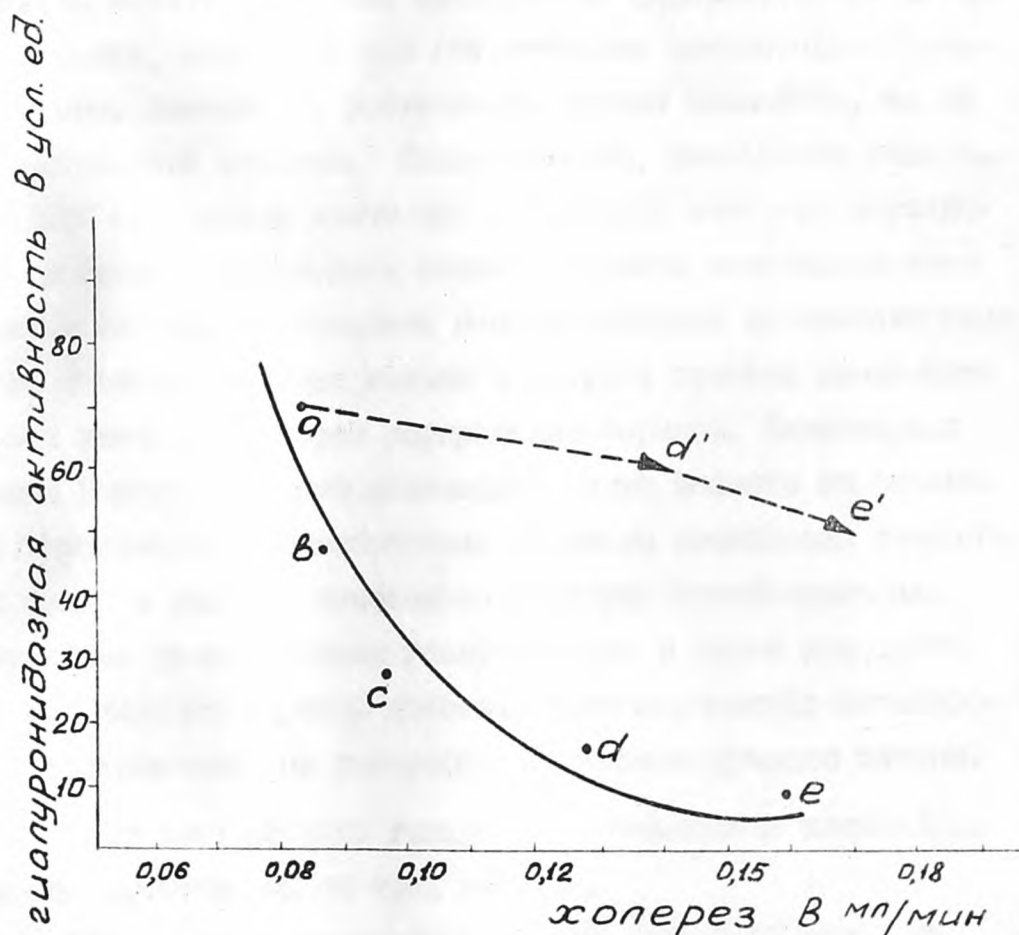


Рис. 4. Влияние разведения желчи дистиллированной водой на её гиалуронидазную активность.

По абсциссе — холерез в мл/мин; по ординате — гиалуро-
нидазная активность желчи в условных единицах.

a, b, c, d, e — данные гиалуронидазной активности, полу-
ченные при естественном возрастании желчеотделения;

d', e' — активность желчи порции a, разведенной
дистиллированной водой, до величины, соответствующей
возрастанию холереза, обозначенной на рисунке d и e.
(Кривая построена по данным семи опытов).

остается относительно высокой, если её разбавлять дистиллированной водой (Рис.4). Как видно из рисунка, активность желчи порции "а", разведенной дистиллированной водой до объема, равного холерезу 0,136 (α') и 0,164 (ϵ') мл/мин, остается значительно выше показателей ферментативной активности желчи, собранной при естественном возрастании желчеотделения. Активность разведенной порции снижается, но не в значительной степени. Следовательно, уменьшение гиалуронидазной активности желчи при увеличении холереза обусловлено истинным уменьшением отдачи фермента клеточными элементами печени. Зависимость гиалуронидазной активности желчи от размера холереза нельзя объяснить простым изменением объема желчи, в котором распределен фермент. Характерная кривая гиалуронидазной активности желчи зависит от различной интенсивности освобождения фермента элементами печеночной ткани в связи с изменением размеров желчеотделения. Полученные факты наличия гиалуронидазы в желчи послужили для нас поводом изучить действие неспецифических ингибиторов гиалуронидазы на желчеобразовательную функцию печени.

Изучение влияния гепарина на спонтанное желчеобразование проводилось на трех собаках.

Внутривенное введение гепарина собаке "Черный" из расчета 500 ед на 1 кг. веса приводило к снижению желчеотделения в первый час после введения на 7 % по сравнению с исходным уровнем. В дальнейшие часы желчеобразование еще больше снижалось и к концу эксперимента на 54 % было ниже исходного часа. Количество выделяющейся желчи за 5 часов опыта уменьшилось на 13, 1 % ($P < 0,05$), в среднем с 37,6 до 32,3 мл.

Внутривенное введение гепарина из расчета 1 000 ед/кг веса собакам "Буська" и "Лисенок" приводило к выраженному усилению желчеобразовательной функции печени. Так, у собаки "Лисенок" количество образующейся желчи увеличилось на 18 % в первый час после инъекции гепарина, во второй час наблюдалось снижение желчеотделения до исходного уровня и в третий час после инъекции ингибитора желчеотделение превышало на 18 % уровень первого часа (Рис.5). Количество выделяющейся желчи за 5 часов опыта у собаки "Лисенок" увеличилось в среднем на 11,5 % ($P 0,07$) по

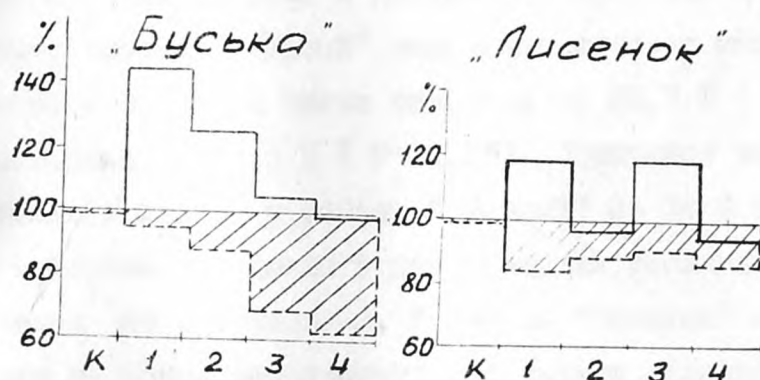


Рис.5 Изменения желчеотделения у собак "Буська" и "Лисенок" после внутривенного введения гепарина (1000 ед/кг). По абсциссе - время опыта в часах (стрелкой показано время введения ингибитора). По ординате - пунктирная линия - контрольные опыты; сплошная - опыты с введением ингибитора.

сравнению с контрольными днями - в среднем с 49,1 до 56,5 мл. У собаки "Буська" в первый час после введения

гепарина желчеобразование усилилось на 45 % ($P < 0,01$) по сравнению с исходным часом, во второй час было на 25 % выше контрольного, в третий и четвертый часы возвращалось к исходному уровню (рис.5). За пять часов опыта количество образующейся желчи увеличилось у собаки "Вуська" после инъекции гепарина в среднем на 11,2 % ($P < 0,01$) по сравнению с контрольными днями с 34,2 до 38,3 мл.

Плотный остаток желчи у собаки "Лисенок" по сравнению с контрольными днями увеличился на 39 % ($P < 0,01$), а у собаки "Черный" на 15%. Соответственно уменьшению количества образующейся желчи и увеличению процента плотного остатка у собаки "Черный" выделение желчных кислот с желчью за пять часов опыта возросло на 20,3 % ($P < 0,01$), а холестерина на 25,1 % ($P < 0,05$). Снижение выделения билирубина с желчью у собаки "Черный" на 54 % по сравнению с контрольными днями в дни введения гепарина было статистически не достоверным. У собаки "Лисенок" после инъекции гепарина параллельно увеличению количества образующейся желчи выделение желчных кислот снижалось на 25 % и холестерина на 35 % ($P < 0,05$). Секреция билирубина увеличилась на 19,6 % ($P < 0,05$). Таким образом, внутривенное введение гепарина из расчета 1000 ед/кг веса приводит к выраженному усилению желчеобразовательной функции печени, сопровождаемому снижением выделения желчных кислот и холестерина. Влияние другого ингибитора гиалуронидазы - антигистаминного препарата пипольфена на тощачовое (спонтанное) желчеобразование изучено в хронических опытах на четырех собаках.

В ответ на введение пипольфена (2,5 мг на 1 кг.вс у собаки "Вольф" желчеобразование в первый час усилилось на 65 % ($P < 0,05$), у собаки "Лисенок" на 28 % ($P < 0,05$), а у собаки " Буська" на 17 % ($P < 0,05$). В опытах на собаке "Черный" были использованы большие дозы пипольфена. Рис. 6 Введение этого ингибитора из расчета 5 мг/кг привело к снижению желчеобразования в первый час на 15,5 % ($P < 0,05$). После введения пипольфена желчеотделение за пять часов усилилось по сравнению с контрольными днями у собаки "Ли-

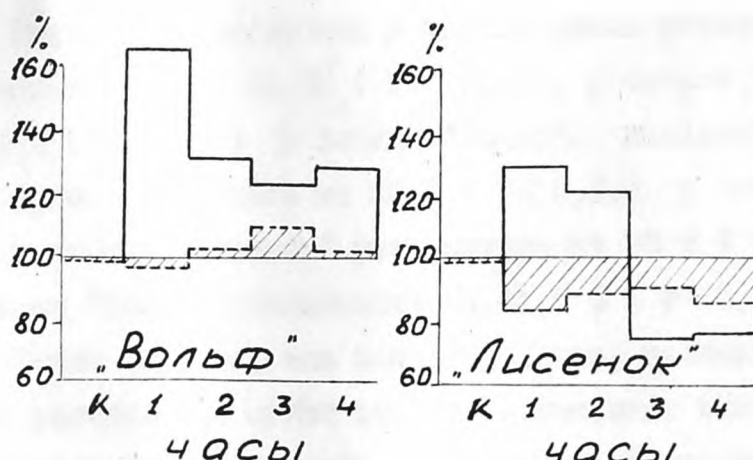


Рис. 6. Влияние пипольфена на спонтанное желчеобразование у собак "Вольф" и "Лисенок".

По абсциссе - время опыта в часах (после нулевого часа опыта вводится ингибитор).

По ординате - сплошная линия - секрeция в дни введения ингибитора; пунктирная - в контрольные дни.

Показатели в % и нулевому часу опыта.

сенок" на 6,9 %, у собаки "Черный" на 30,3 % ($P < 0,01$) и у собаки "Вольф" на 34,8% ($P < 0,05$). Только у собаки

"Буська" желчеотделение за пять часов уменьшилось на 11,8% ($P < 0,05$).

Содержание плотных веществ в общих пятичасовых порциях желчи уменьшилось по сравнению с контрольными днями у собаки "Лисенок" на 17 % ($P < 0,01$), у собаки "Вольф" на 20 % ($P < 0,05$) и у собаки "Черный" на 31,9 % ($P < 0,05$). Содержание желчных кислот в желчи повысилось у собаки "Черный" на 36 % ($P < 0,01$) по сравнению с контрольными днями. У собак "Лисенок" и "Вольф" выделение желчных кислот с желчью после введения пипольфена изменилось незначительно.

Выделение билирубина с желчью после введения пипольфена увеличилось на 35,3% ($P < 0,05$), у собаки "Черный" и на 20,8 % ($P < 0,01$) у собаки "Вольф". Выделение холестерина с желчью усилилось на 28,2 ($P < 0,05$) у собаки "Черный", у собаки "Лисенок" уменьшилось на 30 % ($P < 0,05$) и у собаки "Вольф" уменьшилось на 11,9 % ($P < 0,05$).

Таким образом, как показали опыты, введение пипольфена из расчета 2,5 мг/кг веса в хронических опытах приводит к выраженному изменению спонтанного желчеобразования. Усиливается желчеобразование в первый час после введения ингибитора, а также за все пять часов опыта. Плотный остаток в общих порциях желчи снижается, выделение желчных кислот с желчью, билирубина, а также холестерина, как правило, изменяется в незначительной степени в сторону снижения. У собаки "Черный" введение пипольфена в дозе 5 мг/кг веса приводило к выраженному увеличению желчеотделения за пять часов опыта, а также выделения с желчью желчных кислот, билирубина и холестерина.

Действие низкомолекулярного ингибитора гиалуронидазы - аскорбиновой кислоты на точечное желчеотделение изучали в хронических опытах на пяти собаках. Препарат ингибитора в виде натриевой соли аскорбиновой кислоты вводили внутривенно из расчета 18 мг/кг веса.

Введение аскорбиновой кислоты собаке "Черный" вызвало увеличение желчеотделения (см.Рис.7) в первый час опыта на 87 % и во второй час на 89 % ($P < 0,05$). У собаки "Ральф" в первый час после инъекции аскорбиновой кисло-

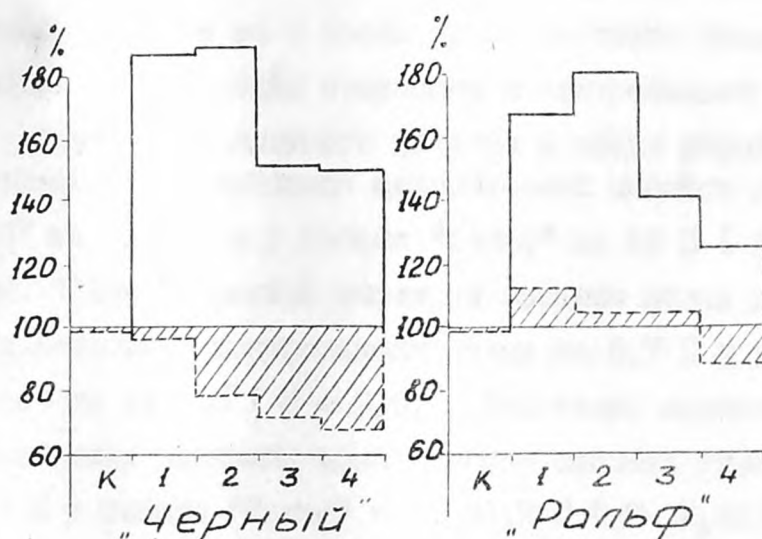


Рис. 7. Влияние аскорбиновой кислоты на спонтанное желчеобразование у собак "Черный" и "Ральф".

Остальные обозначения те же, что на Рис.6.

ты желчеобразование усилилось на 67 % и во второй час на 80 % ($P < 0,05$). У собаки "Лисенок" желчеобразование увеличилось в первый час после введения аскорбиновой кислоты на 25 % и во второй час на 65 % ($P < 0,05$). У собаки

"Вольф" усиление желчеотделения было на 16% в первый час и на 54 % ($P < 0,05$) во второй час опыта. Только у собаки "Буська" после введения аскорбиновой кислоты желчеотделение уменьшилось в первый час на 13% и продолжало снижаться в последующие часы. 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 % ($P < 0,01$). Менее выраженным было усиление желчеотделения за пять часов у собаки "Лисенок" - на 4,3% и у собаки "Вольф" - на 8%. У собаки "Буська" количество образующейся желчи за 5 часов после введения аскорбиновой кислоты не изменилось по сравнению с контрольными днями.

Содержание плотного остатка в общих порциях желчи уменьшилось после введения аскорбиновой кислоты у собаки "Черный" на 18,2 % и у собаки "Вольф" на 25 % ($P < 0,05$). У собаки "Вольф" процент плотного остатка желчи увеличился по сравнению с контрольными днями на 5,7 % и у собаки "Лисенок" на 14,6 % ($P = 0,01$). Выделение желчных кислот с желчью после введения аскорбиновой кислоты уменьшилось на 18,4 % у собаки "Ральф" и на 40,7 % ($P < 0,01$) у собаки "Черный". У собаки "Вольф" выделение холатов в желчи усилилось на 7,4 % и у собаки "Лисенок" на 21,2 % ($P < 0,05$).

Выделение билирубина с желчью после инъекции аскорбиновой кислоты у собаки "Лисенок" уменьшилось на 15,8% ($P < 0,05$), 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

на 42 % ($P < 0,05$) у собаки "Лисенок" и на 40,5 % ($P < 0,05$) у собаки "Черный". 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 тощаковое 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, холестерина и билирубина, 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 и холестерина с желчью 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 всех ингибиторов, оказалась ниже активности порций желчи, полученных в контрольных днях при одинаковом размере холереза. Так, при желчеотделении 0,07 - 0,08 мл/мин гиалуронидазная активность порций желчи контрольных дней была равна 42,3 - 43,2 ед., активность порций желчи, собранных после введения гепарина, при том же уровне желчеотделения равнялась 5,0 - 15,0 ед. При размере холереза 0,095 - 0,115 мл/мин гиалуронидазная активность порций желчи в контрольных днях была равна 33,2 - 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 контрольных днях колебалась от 33,6 до 9,0 условных единиц, в дни введения аскорбиновой кислоты гиалуронидазная активность, соответственно, была в пределах 7,8 - 6,2 ед.

Таким образом, введение всех ингибиторов гиалуронидазы вызывало однозначные изменения в гиалуронидазной активности желчи - снижением по сравнению с контрольными днями. Кривая зависимости гиалуронидазной активности от размера желчеотделения принимает более пологий вид, (Рис.8)

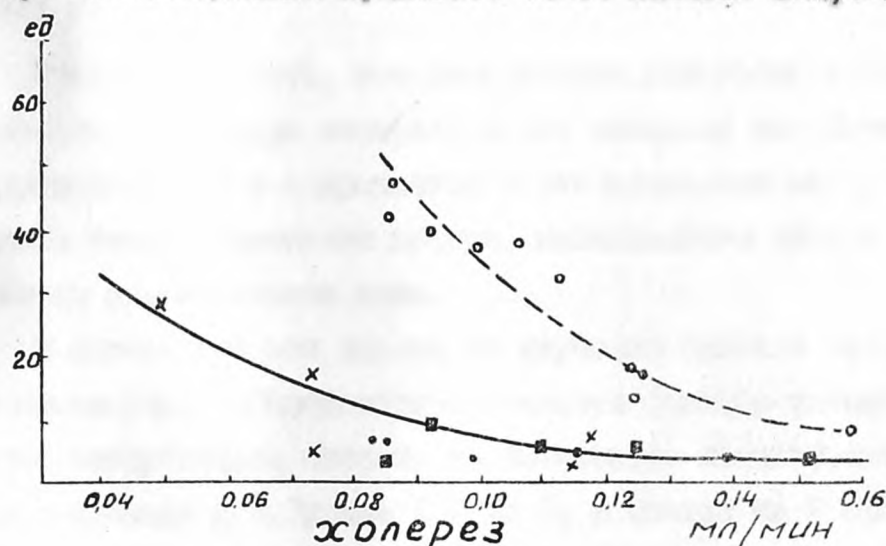


Рис. 8. Влияние неспецифических ингибиторов гиалуронидазы на гиалуронидазную активность желчи при спонтанном желчеобразовании у собаки "Буська". По абсциссе - холерез в мл/мин. По ординате - гиалуронидазная активность в условных единицах. (ед). Условные обозначения активности порций: светлые кружки - в контрольные дни, темные - в дни введения пипольфена; крестики - в дни введения гепарина, квадратики - аскорбиновой кислоты.

и расположена значительно ниже кривой, полученной в контрольные дни опытов. Снижение гиалуронидазной активности желчи после инъекции аскорбиновой кислоты и пипольфена проявляется в более значительной степени, чем после инъекции гепарина. Падение гиалуронидазной активности желчи после введения всех ингибиторов гиалуронидазы связано с абсолютным уменьшением содержания в желчи фермента гиалуронидазы и не зависит от усиления желчеобразования в дни введения ингибиторов, так как гиалуронидазная активность порций сравнивалась в контрольных и опытных днях при одинаковом холерезе.

Следует отметить, что зависимость гиалуронидазной активности от размера холереза в дни введения ингибиторов гиалуронидазы также сохраняется и это позволяет между отдельными точками провести кривую, напоминающую кривую зависимости в контрольных днях.

В литературе нет данных по изучению влияния гепарина и пипольфена на желчеобразовательную функцию печени. Влияние аскорбиновой кислоты на спонтанное желчеобразование исследовала А.В.Губарь (1941). В опытах на 2 собаках с фистулой желчного пузыря по Шиффу она показала, что введение аскорбиновой кислоты подкожно или *per os* (100 - 150 мг) способно в слабой степени угнетать желчеобразование, не сказываясь на содержании плотного остатка и зола. В отношении выделения желчных кислот с желчью наблюдалась тенденция к снижению.

Э.М. Волинский (1947) в опытах на одной собаке с фистулой желчного пузыря по Шиффу вводил внутривенно по 100 мг аскорбиновой кислоты с промежутками через несколько

дней. Оказалось, что в дни введения аскорбиновой кислоты количество желчи, отделявшейся за три часа, было как правило, почти всегда больше, чем накануне инъекции. Среднее количество билирубина в опытный период было также выше, чем в периоде изучения фона желчеотделения.

Мураками (O. Murakami 1939) в острых опытах на морских свинках показал, что желчеотделительная функция печени усиливается после подкожных инъекций аскорбиновой кислоты. Богдал М. и Ф. Груба (1960 а, б) в острых опытах на кроликах с постоянной скоростью инфузии 20 мг витамина С в яремную вену изучали уровень содержания витамина С в печени и в желчи. Авторы отметили максимальное накопление витамина С в печени и в желчи через два часа с момента инфузии. В этот же период они наблюдали максимум желчеотделения.

Наши экспериментальные данные по изучению влияния аскорбиновой кислоты на желчеотделение совпадают с данными З. М. Волынского, О. Мураками, М. Богдал и Ф. Груба. Недостатками в исследованиях авторов, которые могли привести к ошибочным выводам служила методика исследования - изучения желчеотделения на собаках с фистулой желчного пузыря по Шиффу, когда не вся секретируемая печенью желчь поступает в желчную фистулу, а также малое число наблюдений.

Как и в опытах М. Богдал и Ф. Груба, мы наблюдали максимум желчеотделения во второй час после инъекции аскорбиновой кислоты. Повышение билирубиновыделительной функции печени, а также снижение выделения с желчью желчных кислот в наших экспериментах подтверждают данные А. В. Губарь и З. М. Волынского.

Сравнение действия структурно неоднородных ингибиторов гиалуронидазы - гепарина, пипольфена и аскорбиновой кислоты - на спонтанное желчеобразование позволяет нам высказать предположение о реализации их действия через систему гиалуроновая кислота - гиалуронидаза. Общим для всех трех веществ является их способность угнетать действие гиалуронидазы (А.Г. Гинецинский, 1964). Все они, как это показали эксперименты, усиливают тощаковое желчеотделение. При этом наибольшие изменения желчеобразования наблюдаются при введении низкомолекулярных ингибиторов - пипольфена и аскорбиновой кислоты, которые способны в короткий промежуток времени достигать субстрата действия - гиалуроновой кислоты интерцеллюлярных пространств. В печеночной паренхиме проникновение ингибиторов в желчь происходит через стенку синусоидов, пространство Диссе и стенку желчного капилляра, состоящего из слоя паренхиматозных клеток печени. Этот барьер с большей скоростью преодолевают низкомолекулярные вещества - пипольфен и аскорбиновая кислота.

Увеличение желчеотделения после введения каждого из веществ сопровождается снижением процента плотного остатка и незначительными колебаниями в содержании секретруемых субстанций желчи - билирубина и желчных кислот. Вода, по Куку (D. Cook et al 1952,), проникает в желчь путем фильтрации и в дальнейшем при прохождении желчи по желчевыносящим путям подвергается реабсорбции. С позиций теории Кука представить механизм действия ингибиторов гиалуронидазы на увеличение жидкой фазы желчи можно следующим образом. Во-первых, возможно, что ингибиторы

приводят к усилению фильтрационных процессов на уровне внутридольковых желчных капилляров и, во-вторых, могут снижать процессы реабсорбции воды на уровне дистальных частей желчного тракта - желчевыносящих путей, обладающих собственной эпителиальной выстилкой.

Действие ингибиторов реализуется через систему гиалуроновая кислота- гиалуронидаза, так как во всех экспериментах мы наблюдали отчетливое снижение гиалуронидазной активности желчи. По нашим данным в этом случае происходило уменьшение абсолютного содержания в желчи фермента гиалуронидазы. Известный факт, что гиалуронидаза содержится в лизосомах клеток печени (N. N. Azanson, E. A. Zaslavskaya, 1965) позволяет нам высказать предположение, что ингибиторы гиалуронидазы угнетают каким-то образом выделение в желчные пути гиалуронидазы, содержащейся в клеточных элементах печени. Единственным её назначением, возможно, будет деполимеризация межклеточного вещества в стенках желчных путей и тем самым обеспечение процессов реабсорбции воды. После введения ингибиторов гиалуронидазы выделение эндогенной гиалуронидазы прекращается, тем самым снижается проницаемость желчевыносящих путей и, следовательно, снижаются процессы реабсорбции воды. Эти изменения должны привести к увеличению количества выделяющейся желчи именно за счет жидкой фазы желчи-воды.

Таким образом увеличение желчеотделения после инъекции ингибиторов гиалуронидазы происходит повидимому не вследствие усиления процессов фильтрации воды в желчевыносящие пути, а, вероятнее всего, снижение

процессов реабсорбции воды служит причиной увеличения жидкой фазы желчи. Ингибиторы гиалуронидазы снижают содержание в желчи эндогенной гиалуронидазы, а тем самым и процессы реабсорбции воды в желчевыносящих путях. Это наиболее вероятный механизм влияния неспецифических ингибиторов гиалуронидазы на спонтанное желчеотделение. В то же время изменение желчеотделения после введения ингибиторов гиалуронидазы служит доказательством высказанного ранее нами предположения об участии системы гиалуроновая кислота - гиалуронидаза в интимном механизме формирования желчи. Однако желчеобразование является переменной величиной, зависящей от многих причин, порой незаметных глазу экспериментатора. Спонтанное желчеобразование является довольно непостоянным в отличие от желчеобразования на различные пищевые раздражители. В связи с этим интересно было проследить влияние неспецифических ингибиторов гиалуронидазы на "пищевое" желчеотделение и с этой целью предпринята серия экспериментов, в которой собакам после скармливания различных пищевых раздражителей вводили гепарин, пипольфен и аскорбиновую кислоту.

Глава У

ВЛИЯНИЕ НЕСПЕЦИФИЧЕСКИХ ИНГИБИТОРОВ ГИАЛУРОНИДАЗЫ НА "ПИЩЕВОЕ" ЖЕЛЧЕОБРАЗОВАНИЕ

В контрольный период экспериментов на собаках с фистулой желчного пузыря по Шванну мы исследовали влияние пищевых раздражителей: молока (400 мл) и мяса ($100_{\text{г}}^{+}$) на желчеобразование; затем в различных сериях экспериментов изучено совместное влияние этих пищевых продуктов и неспецифических ингибиторов гиалуронидазы - гепарина, пипольфена и аскорбиновой кислоты - на желчеобразовательную функцию печени.

Секреция желчи у различных животных в контрольные дни после скармливания молока или мяса подвергалась значительным колебаниям. Это подтверждает данные предыдущих исследователей (Г.Е.Сабуров, 1961). Однако, нам представилось возможным выявить у каждого животного характерную кривую секреции после скармливания молока или мяса.

В качестве иллюстрации на Рис.9 приведены кривые секреции желчи и содержания плотного остатка и желчных кислот у различных собак после скармливания молока. Достижение максимума секреции желчи у собаки "Амур" происходило в первый час после дачи пищевого раздражителя. В этот период желчеотделение превышает исходный уровень на 11,9 %

($P < 0,1$). В дальнейшие часы секреция желчи снижается и к концу четвертого часа желчеотделение было на 26 % ниже контрольного часа опыта. Аналогичная же закономерность

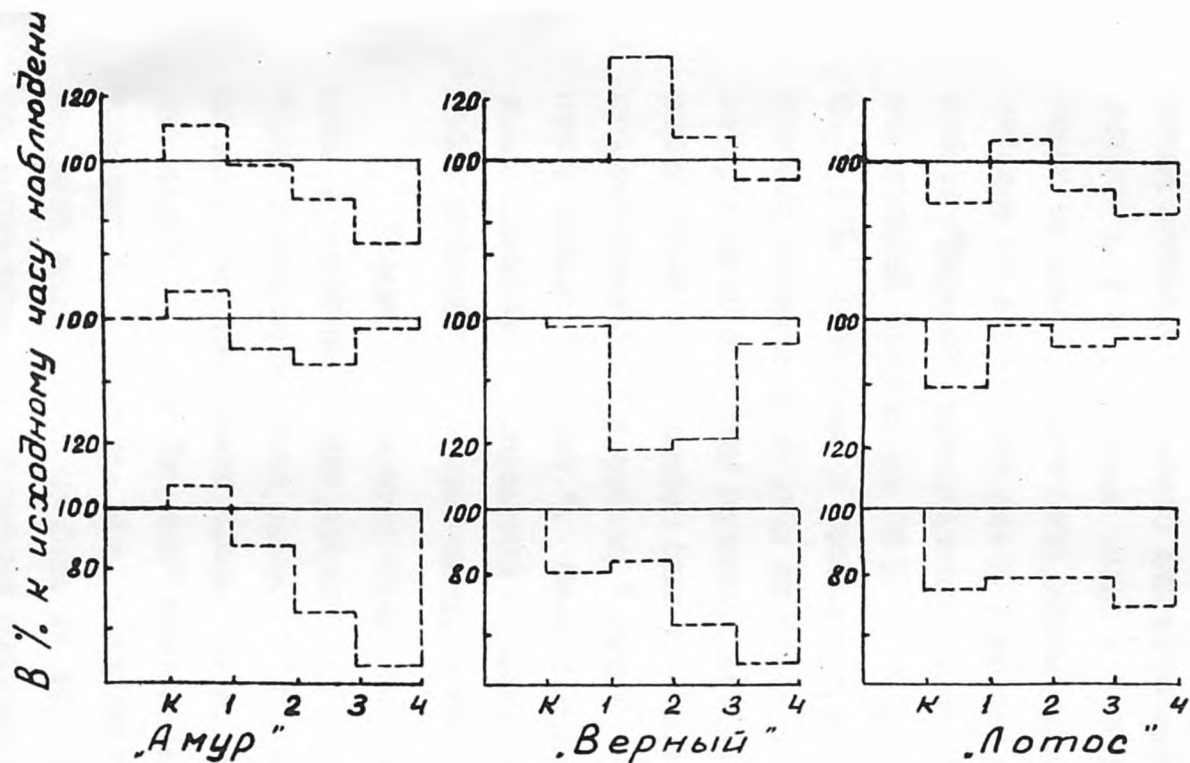


Рис. 9. Секретция желчи на молоко у различных собак.

По абсциссе: время в часах. По ординате: сверху вниз - кол-во желчи, процент плотного остатка, содержание желчных кислот (в % к исходному часу наблюдения). Кривые построены по средним арифметическим контрольных опытов.

наблюдается в выделении с желчью холатов и содержанием в ней плотных веществ. Корреляционную зависимость между всеми показателями можно охарактеризовать как прямую криволинейную. У двух других собак - "Верный" и "Лотос", как видно из рис.9, достижение максимума секреции желчи происходит во второй час после скармливания молока. Так, у собаки "Верный" желчеотделение в этот период превышает контрольный уровень на 33 % ($P < 0,01$), а у собаки "Лотос" на 7,1 %. Выделение с желчью холатов и содержание в ней плотных веществ ни в один из часов опыта у этих животных не превышало исходный уровень. Корреляционную зависимость между всеми показателями можно охарактеризовать как прямую криволинейную у собаки "Лотос" и обратную криволинейную у собаки "Верный". Максимальная секреция желчи, а также наименьшее выделение с желчью желчных кислот у этих собак наблюдалось в последний, четвертый час опыта.

Характерные кривые секреции желчи после скармливания мяса у различных собак представлены на рис.10. У собаки "Верный" секреция желчи уменьшается против исходного уровня на протяжении всего эксперимента. Максимальное желчеотделение у собаки "Верный" отмечалось в третий и четвертый часы эксперимента. Так, в третий час, после скармливания мяса секреция желчи была на 24,4 % ниже исходного уровня. Аналогичные же изменения наблюдались у этой собаки в выделении желчных кислот с желчью и содержанием в ней плотных веществ. Корреляционная зависимость между всеми показателями может быть охарактеризована как прямая криволинейная.

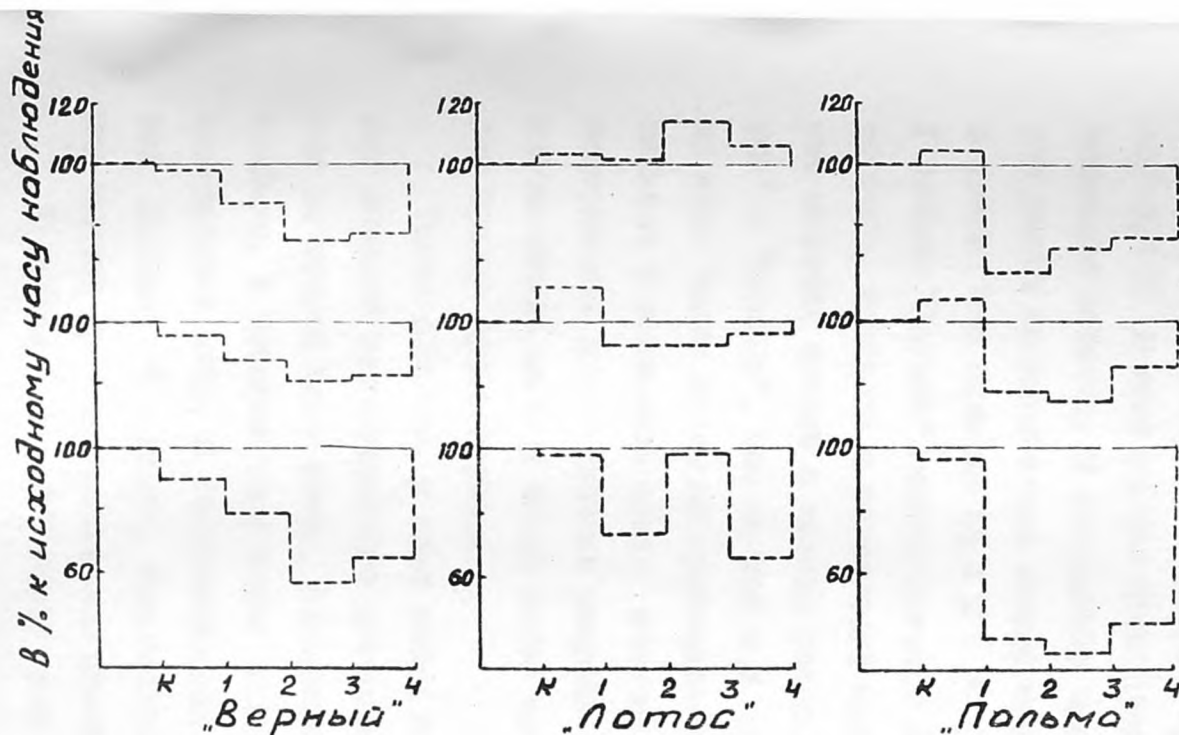


Рис.10. Секретция желчи на мясо у различных собак. По абсциссе: время в часах. После контрольного часа опыта животным скармливалось 100 г мяса. По ординате: (сверху вниз) - кол-во желчи, процент плотного остатка, содержание в желчи холатов (в % к исходному часу опыта). Кривые построены по средним арифметическим всех контрольных опытов у каждой собаки.

У собак "Лотос" и "Пальма" желчеотделение незначительно увеличивалось в первый час после дачи мяса. У собаки "Лотос" это увеличение составило 3,5 %, а у собаки "Пальма" 4,4 %. В этот же час повышалось содержание в желчи плотного остатка. В дальнейшие часы у собаки "Лотос" секреция желчи незначительно отклонялась от исходного уровня, в третий час была на 13,4 % ($P < 0,07$) выше исходного. У собаки "Пальма" желчеотделение снижалось в течение второго, третьего и четвертого часов эксперимента. Выделение желчных кислот с желчью после дачи мяса у собак "Лотос" и "Пальма", так же как и у собаки "Верный" ни в один из всех часов опыта не превышало контрольных цифр. Корреляционная зависимость между количеством образующейся желчи, содержанием в ней плотных веществ и желчных кислот после скармливания мяса у обеих собак может быть охарактеризована как прямая криволинейная.

Таким образом, у всех собак после скармливания пищевых веществ желчеотделение достигает максимума в первый или во второй часы опыта, содержание в желчи холатов, как правило, в течение всех часов эксперимента не превышает контрольных цифр, а корреляционная зависимость между количеством выделяющейся желчи, содержанием сухого остатка и желчных кислот представляется как прямая криволинейная.

У собаки "Верный" после дачи мяса мы определили в желчи с помощью вискозиметрического метода гиалуронидазную активность (Рис.11). При пищевой секреции желчи, как и при тощаковой, существует зависимость между размером холереза и способностью желчи деполимеризовать растворы 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, а при 0,19 - 3,5 ед. Эта зависимость представлена графически на Рис.11. Кривая, проведенная через все точки, напоминает кривую зависимости между уровнем желчеотделения и гиалуронидазной активностью при спонтанной секреции желчи.

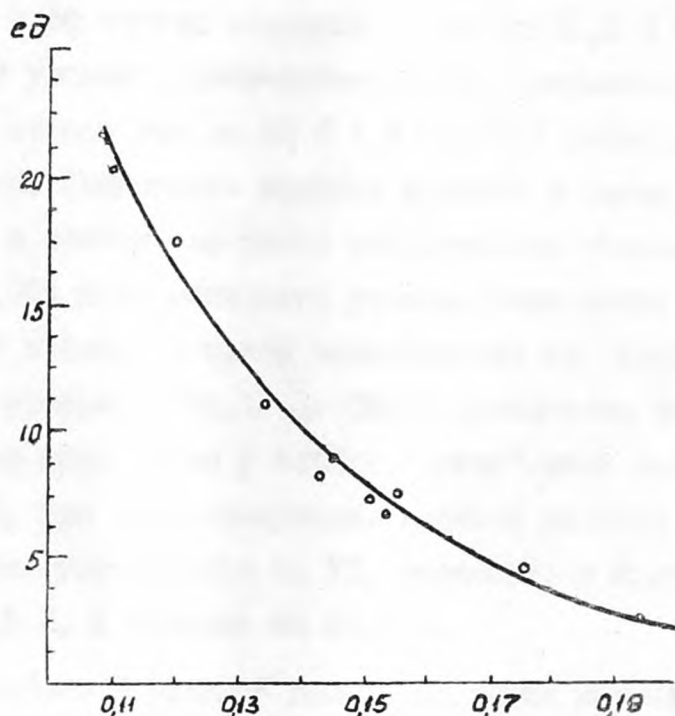


Рис.11. Зависимость гиалуронидазной активности от размера холереза у собаки "Верный" при пищевой секреции желчи (скармливание 100 г. мяса). Кривая построена по данным 10 опытов.

по абсциссе: - размер холереза в мл/мин.

по ординате: - гиалуронидазная активность в условных единицах (ед).

Отклонение от кривой отдельных точек укладывается в процент погрешности вискозиметрического метода.

Введение гепарина (1000 ед./кг веса) вызывало у собак характерные изменения пищевой секреции желчи. При кормлении молоком и введении гепарина у собаки "Лотос" после торможения желчеотделения в первый час наступает отчетливое достижение максимума секреции желчи во второй час. В этот период секреция желчи на 32,2 % превышает исходный уровень. Количество желчи, выделившееся у животного за второй час на 20 % ($P < 0,001$) превосходит контрольные цифры. Содержание плотных веществ в желчи у собаки "Лотос" в третий час после скармливания молока на 23,1 % ($P < 0,05$) выше исходного уровня. Содержание холатов в желчи ни в один из часов эксперимента не превосходит исходного уровня (Рис.12). Общее количество желчи, образующейся за пять часов у собаки "Лотос" выше контрольного на 6,8 %, при этом содержание плотных веществ в общих порциях желчи уменьшается на 7%, выделение с желчью билирубина на 8,5 %, а холатов на 26,3 %.

У собаки " Верный" после кормления молоком и введения гепарина в первый час секреция желчи превышает контрольный уровень на 35 % ($P < 0,05$), в дальнейшем достигает исходного уровня и падает ниже контрольного. Содержание в желчи плотного остатка, а также желчных кислот на протяжении всех часов эксперимента уменьшается по отношению к контрольному периоду (Рис.12). Общее количество желчи за пять часов наблюдения уменьшается на 11,6% ($P < 0,05$), по отношению к контрольным дням, содержание холатов в

желчи снижается на 33,7 % ($P < 0,05$). Выделение с желчью билирубина в общих порциях, а также содержание плотного остатка общих порций желчи изменялось при этом незначительно.

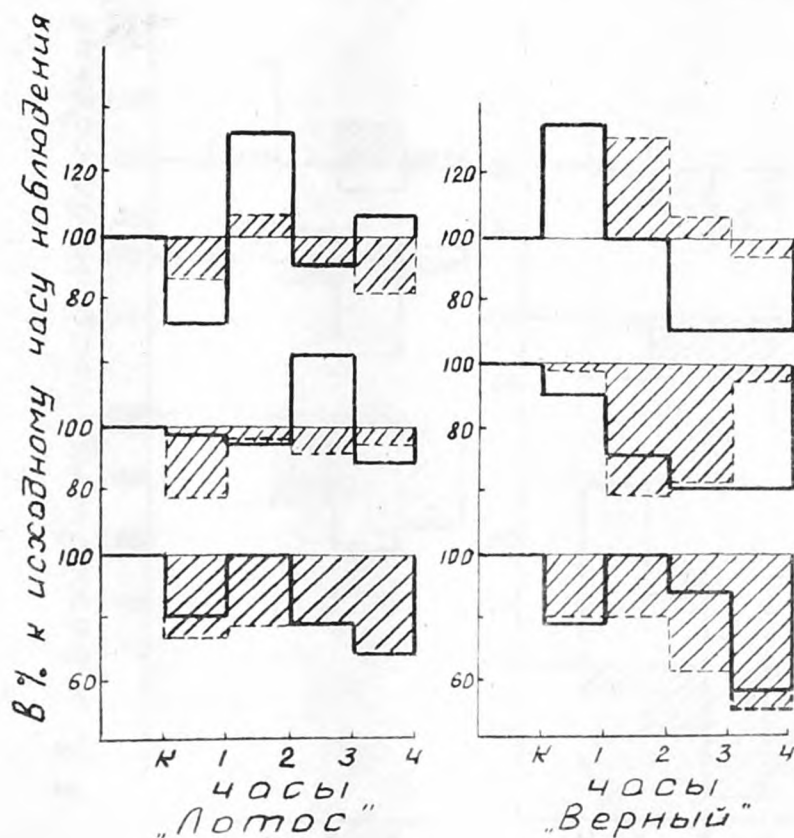


Рис. 12. Влияние гепарина на пищевую секрецию желчи у собак "Лотос" и "Верный" (молоко 400 мл). Контрольный период наблюдения заштрихован. Остальные обозначения те же, что и на рис. 9.

При кормлении мясом и введении гепарина желчеотделение у собаки "Верный" усиливается в первый час на 11,3 %, у собаки "Лотос" на 32 % ($P < 0,05$) по сравнению с контрольным часом. Максимум секреции у собаки "Лотос" смещается с третьего часа опыта в контрольных днях на первый час в дни введения гепарина. Содержание плотного остатка желчи и желчных кислот в первый час опыта снижается. У собак

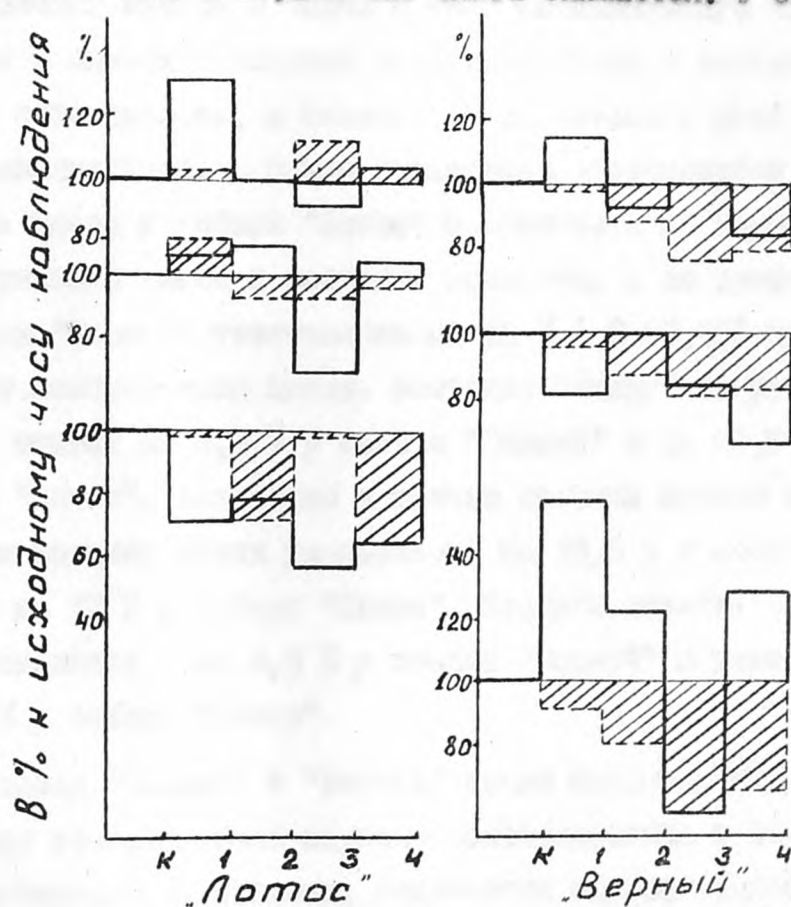


Рис.13. Влияние гепарина на пищевую секрецию (мясо 100 г) у различных собак.

Контрольный период наблюдения заштрихован.

Остальные обозначения те же, что и на Рис.9.

"Верный" содержание плотного остатка желчи также снижается. в первый час после введения гепарина и кормления мясом. Со-

держание холатов в желчи увеличивается в первый час на 58,9 % ($P < 0,05$) по сравнению с контрольным периодом. Количество плотных веществ желчи, а также содержание в них желчных кислот в этих опытах постепенно снижалось к концу эксперимента. Корреляционная зависимость между количеством образующейся желчи, процентом плотного остатка и содержанием желчных кислот в желчи в часы максимального желчеотделения в опытах с пищевой секрецией желчи и введением гепарина остановилась, в отличие от контрольных дней, обратной криволинейной. Общее количество образующейся желчи за пять часов у собаки "Лотос" практически не изменялось при кормлении мясом и введении гепарина, в то время как у собаки "Верный" увеличилось на 11 % ($P < 0,05$) по сравнению с контрольными днями. Секреция билирубина уменьшилась в этих опытах на 8,8 % у собаки "Верный" и на 26,2 % у собаки "Лотос". Выделение с желчью желчных кислот в пятичасовых порциях желчи уменьшилось на 18,6 % у собаки "Верный" и на 17 % у собаки "Лотос". Плотный остаток общих порций уменьшился на 4,6 % у собаки "Верный" и увеличился на 12 % у собаки "Лотос".

У собак "Пальма" и "Верный" после скармливания мяса и введения гепарина было изучено желчеотделение с 15-минутными интервалами времени. Результаты опытов представлены на Рис.14. У собаки "Пальма" в контрольный период после скармливания мяса желчеотделение повышалось к 45-й минуте и снижалось в течение второго часа. В дни введения гепарина после 15-минутного торможения секреции на 30-й минуте

наступало её максимальное повышение, холерез в этот период на 31,9 % превышал желчеотделение в контрольных днях. Затем после 30-минутного торможения на кривой секреции появляется новый пик и в этот период секреция желчи на 63,5% выше контрольного периода.

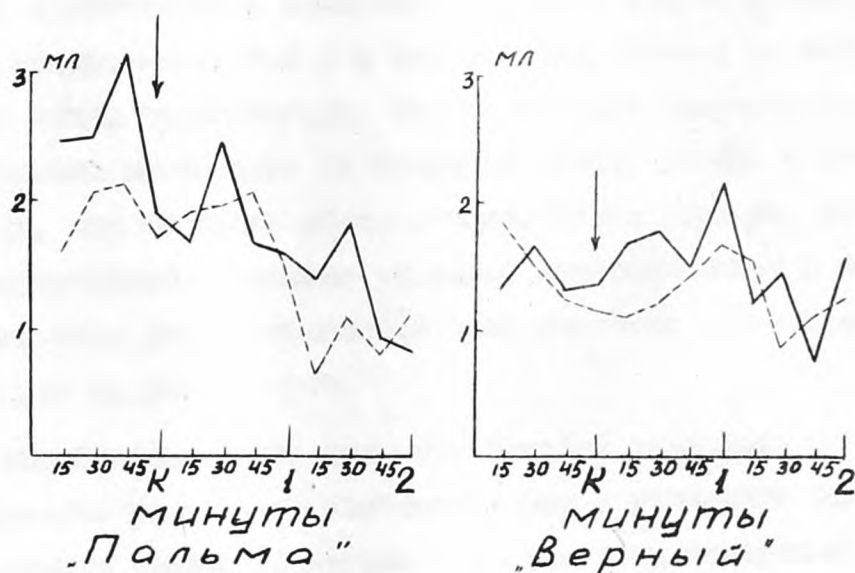


Рис. 14. Влияние гепарина на пищевое желчеотделение (мясо 100 г) у собак "Пальма" и "Верный".

Стрелкой показан момент скармливания мяса и введения гепарина.

По ординате — количество желчи в мл. Пунктирная линия — контрольный и сплошная — опытный периоды наблюдения.

У собаки "Верный" в контрольный период наблюдается через час пик секреции желчи после кормления мясом. В опытные дни после введения гепарина и кормления мясом так же, как и у собаки "Пальма" имеются два пика секреции желчи. Первый на 30-й минуте после введения гепарина, второй на 60-й минуте после кормления мясом и введения гепарина. Следовательно, в обоих случаях гепарин, действуя на пищевое желчеобразование, дает два пика секреции, из которых первый отсутствует в контрольные дни, а второй появляется как в контрольные, так и в опытные дни. Исходя из этих фактов можно предполагать, что первый пик секреции связан с действием ингибитора на секрецию желчи, второй с действием мяса, как пищевого раздражителя. Таким образом, гепарин при внутривенном введении усиливая секрецию желчи в течение первого часа опыта, проявляет свое действие на желчеотделение уже на 30-й минуте.

Анализ опытов показал, что гепарин оказывает выраженное влияние на пищевое желчеотделение - усиливает отделение желчи в течение эксперимента, при этом содержание плотных веществ желчи уменьшается. В часы, соответствующие максимальному подъему желчеотделения, выделение желчных кислот и желчью, как правило, уменьшается. В общих порциях желчи за пять часов опыта содержание желчных кислот, билирубина и плотного остатка снижается.

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. (Рис. 15).

В первый час количество образующейся желчи увеличивается на 54,84% ($P < 0,1$), а во второй - на 60,3% ($P < 0,05$) по отношению к исходному уровню, в дальнейшие часы эксперимента желчеобразование постепенно снижается, но и в четвертый час наблюдения остается выше исходного фона секреции на 20,8%. Содержание плотных веществ желчи, а

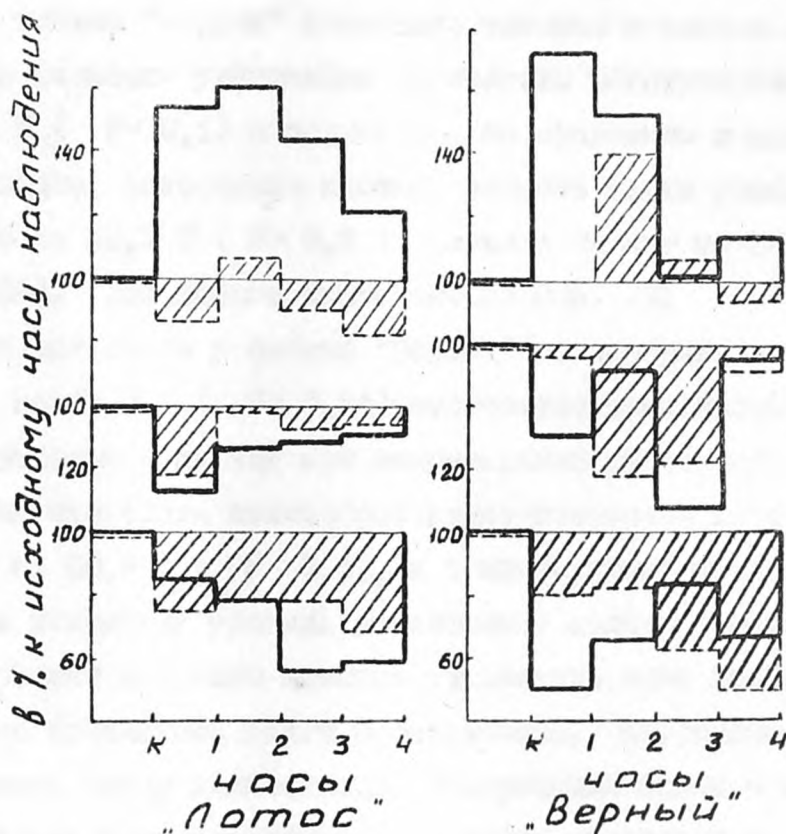


Рис.15. Влияние пипольфена на пищевое желчеотделение у собак "Лотос" и "Верный" (молоко 400 мл).

По абсциссе: - время опыта в часах.

По ординате: - сплошная линия - опытные дни, штриховая линия - контрольные дни. Сверху вниз: количество желчи, содержание плотного остатка, выделение с желчью желчных кислот (в % к исходному часу наблюдения).

также выделение с желчью холатов при этом значительно уменьшается по сравнению с контрольным периодом. Следует также отметить, что между количеством образующейся желчи и содержанием в ней желчных кислот и плотного остатка устанавливается обратная криволинейная зависимость, в отличие от прямой криволинейной в контрольных опытах.

У собаки "Верный" кормление молоком и введение пипольфена вызывало увеличение количества образующейся желчи на 72,6 % ($P < 0,1$) в первый час по сравнению с исходным периодом, содержание плотных веществ желчи уменьшилось при этом на 29,2 % ($P < 0,3$) желчных кислот на 50 % ($P < 0,02$). Эти данные приведены на Рис. 15.

В первый час опыта у собаки "Верный" желчеобразование превышало на 43,2 % ($P < 0,01$) количество выделившейся желчи в контрольный период при скармливании животному молока. Во второй час опыта желчеобразование превышало исходный уровень на 53,6 % ($P < 0,1$), а в последующие часы возвращалось к исходному уровню. Выделение с желчью холатов, а также процент плотного остатка оставались ниже исходного уровня на протяжении всего периода опыта. Корреляционная зависимость между количеством образующейся желчи и содержанием в ней плотного остатка, а также холатов была у собаки "Верный" обратная криволинейная.

У собаки "Амур" кормление молоком и введение пипольфена не вызывало отчетливых изменений со стороны желчеобразовательной функции печени.

Общее количество образующейся желчи за пять часов опыта не подвергалось существенным изменениям по сравнению с контрольными днями у всех подопытных животных. Так, у собаки

"Верный" желчеобразование усиливалось на 3,5 %, у собаки "Лотос" на 2 %, а у собаки "Амур" на 6,2 % ($P < 0,01$). У всех собак после кормления молоком и введения пипольфена повышалось выделение с желчью билирубина - у собаки "Верный" на 13,8 %, у собаки "Лотос" на 66,9 % ($P < 0,05$) и у собаки "Амур" на 99,7 % ($P < 0,01$) по сравнению с контрольным периодом. Выделение холатов в пятичасовых порциях желчи у собаки "Лотос" практически не изменилось, у собаки "Верный" снизилось на 21,6% ($P < 0,05$), а у собаки "Амур" наблюдалась тенденция к увеличению желчных кислот желчи по сравнению с контрольным периодом. Содержание плотного остатка в общих порциях желчи у собаки "Амур" повысилось на 14,7% ($P < 0,01$), у собаки "Лотос" на 15,8% ($P < 0,01$), а у собаки "Верный" понизилось на 23,8 % ($P < 0,01$). Можно считать, что повышение сухого остатка желчи у собак "Амур" и "Лотос" обусловлено значительным повышением содержания в желчи билирубина.

При кормлении мясом и введении пипольфена количество образующейся желчи увеличилось у собаки "Лотос" на 60% в первый час опыта и на 51,9 % ($P < 0,2$) во второй час (Рис.16). по отношению к исходному нулевому часу, желчеобразование в первый час при этом на 35,5% ($P < 0,05$) превысило количество образующейся желчи в контрольные дни. К четвертому часу наблюдения желчеотделение остается на 43,5% выше исходного уровня. Выделение с желчью холатов значительно колеблется по отношению к контрольному часу в первые два часа эксперимента, в третий час ниже на 26,6 % ($P < 0,05$) контрольного и к четвертому часу опыта

достигает исходного уровня. Содержание плотного остатка желчи значительно уменьшается на протяжении всех часов наблюдения. Корреляционную зависимость между количеством образующейся желчи и сухим остатком можно охарактеризовать как обратную криволинейную.

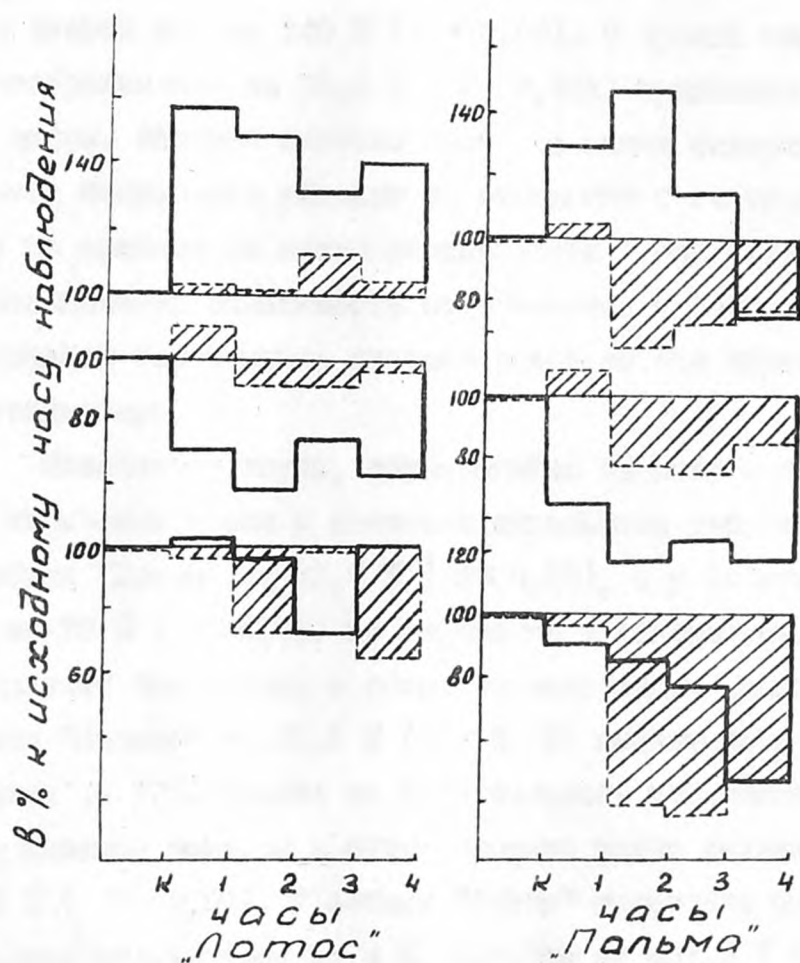


Рис.16. Желчеотделение у собаки "Лотос" и "Пальма" после скармливания мяса и введения пипольфена.

Остальные обозначения те же, что и на рис.15.

У собаки "Пальма" после кормления мясом и введения пипольфена желчеотделение увеличивается в первый час эксперимента на 29 % ($P < 0,1$) и во второй час на 47,3 % ($P < 0,1$). Во второй и третий часы эксперимента желчеотделение уменьшается. По отношению к контрольным дням желчеотделение в первый час превышает на 38 % ($P < 0,001$) и во второй час на 140 % ($P < 0,01$). В третий час опыта желчеобразование на 88,5 % ($P < 0,001$) превышает контрольные цифры. Плотный остаток желчи, а также содержание холатов непрерывно убывает по отношению к контрольному часу на протяжении всего эксперимента (Рис.16), а их корреляционную зависимость по отношению к количеству образующейся желчи можно охарактеризовать как обратную криволинейную.

Количество желчи, образующейся за пять часов опыта при кормлении мясом и введении пипольфена увеличивалось у собаки "Лотос" на 12,9 % ($P < 0,05$), а у собаки "Пальма" на 73 % ($P < 0,05$) по отношению к контрольным дням. Содержание билирубина в общих порциях желчи повысилось у собаки "Пальма" на 58,2 % ($P < 0,05$) выделение с желчью холатов на 17%. Однако за счет сильного увеличения жидкой фазы плотный остаток в общих порциях желчи снизился на 14,8 % ($P < 0,01$). У собаки "Лотос" выделение билирубина с желчью уменьшилось на 4 %, холатов на 46; 5 % ($P < 0,05$) и плотный остаток желчи снизился на 22,1 % ($P < 0,05$) по отношению к контрольным дням.

У собак "Верный" и "Пальма" в опытах с кормлением мясом и молоком и введением пипольфена желчеотделение изучалось с 15-минутными интервалами. На Рис.17 представлены кривые желчеотделения в контрольный и опытный периоды наблюдения.

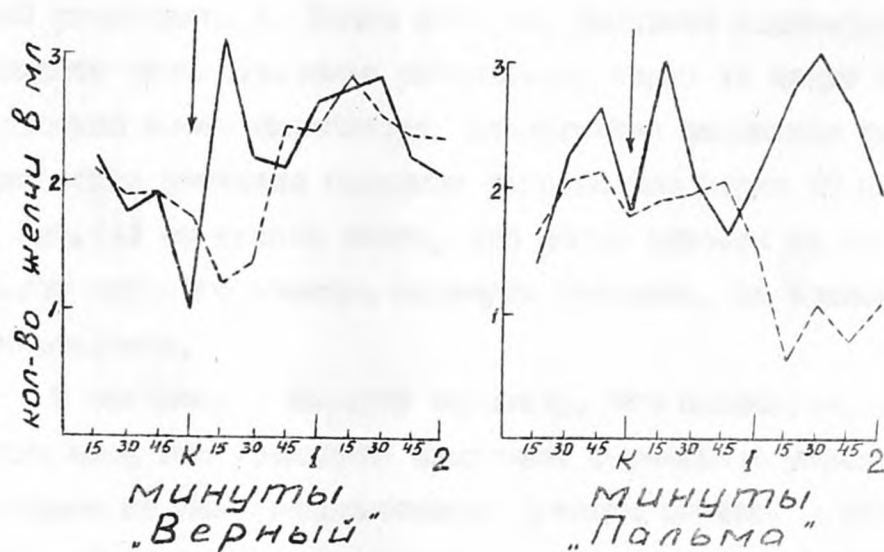


Рис.17. Влияние пипольфена на пищевое желчеотделение у собаки "Верный" и "Пальма".

По абсциссе: - время в 15-минутных интервалах (после контрольного уаса собаке "Верный" скармливали 400 мл молока, собаке "Пальма" - 100 г. мяса).

По ординате: - количество желчи в мл.

Сплошная линия - опытный период, пунктирная - контрольный период наблюдения.

У собаки "Верный" уже в первые 15 минут после кормления молоком и введения пипольфена наступает подъем желчеотделения, такой же пик на кривой секрции наблюдается в

первые 15 минут после кормления мясом и введения пипольфена, у собаки "Пальма". Повышение холереза на пищевой раздражитель у собаки "Верный" наблюдается через 1 час 30 минут, а у собаки "Пальма" через 45 минут. Второй пик секреции у собаки "Верный" в опытные дни по-существу совпадает с пиком секреции на пищевой раздражитель, а у собаки "Пальма" второй пик секреции появляется через 1 час 30 минут и намного превышает пик секреции на пищевой раздражитель. Таким образом, действие пипольфена на пищевое желчеотделение развивается через 15 минут после введения этого ингибитора. Аналогичные изменения секреции после введения гепарина развиваются через 30 минут (Рис.14) от начала опыта, что можно отнести за счет более крупного размера молекулы гепарина, по сравнению с пипольфеном.

В заключение следует отметить, что пипольфен, как ингибитор гиалуронидазы оказывает выраженное усиливающее влияние на желчеотделительную функцию печени. В основном, это действие сходно с действием гепарина - увеличение жидкой фазы желчи как в течение всех часов эксперимента, так и в общих порциях желчи со снижением процента плотного остатка и, как правило, уменьшением выделения с желчью холатов. Пожалуй, особенностью действия этого ингибитора будет повышение билирубиновыделительной функции печени, чего не наблюдается после введения гепарина. Механизмы этого явления пока остаются неясными.

В заключительной серии экспериментов мы провели исследование влияния аскорбиновой кислоты на пищевое желчеобразование.

Кормление молоком и введение аскорбиновой кислоты вызвало у собаки "Амур" отчетливое усиление желчеобразования в течение всех часов эксперимента. (Рис.18)

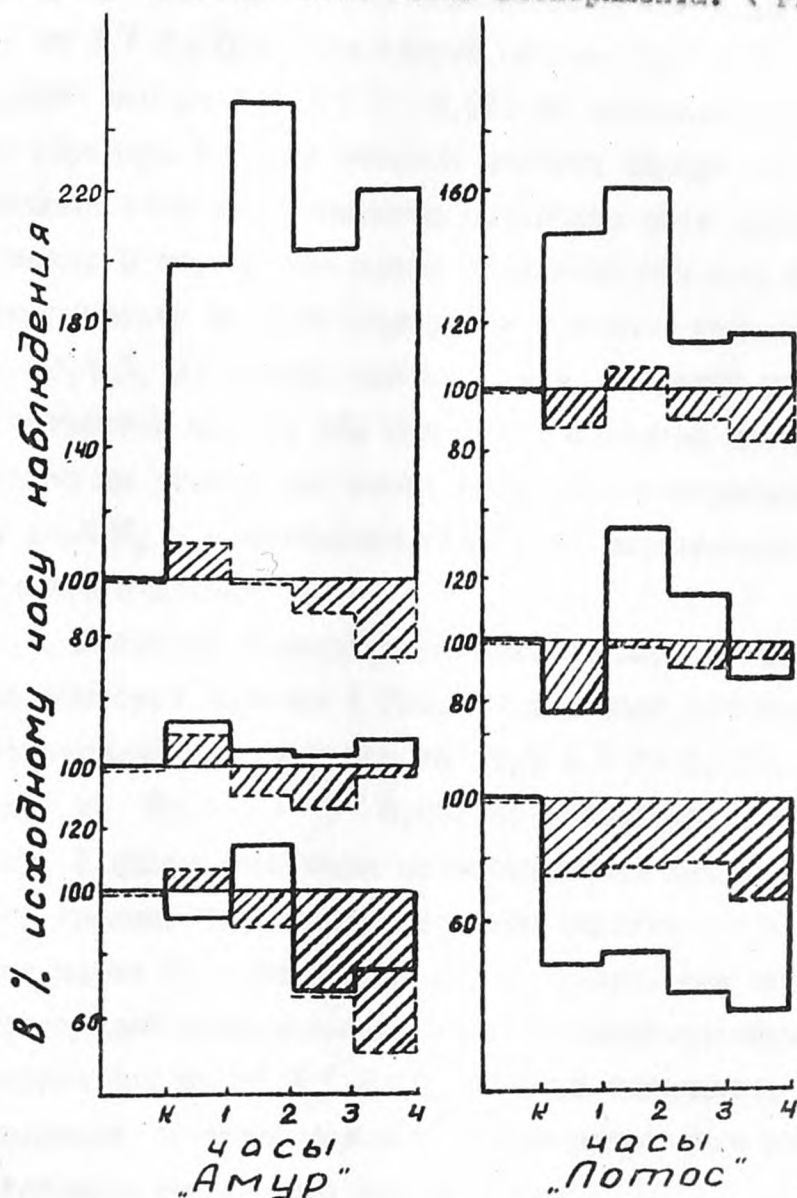


Рис.18. Влияние аскорбиновой кислоты на пищевое желчеотделение у собаки "Амур" и "Лотос".

По абсциссе: - время опыта в часах (после контрольного часа скармливали 400 мл молока и вводили аскорбиновую кислоту).

По ординате: -сплошная линия - опытные дни,
-штриховая - контрольные дни.

Сверху вниз: -количество желчи, содер. плотного остатка, выделение с желчью колатов (в % к исходному часу наблюдения).

В первый час количество образующейся желчи увеличивается на 98 % ($P < 0,11$) во второй час на 150% ($P < 0,1$) и в третий час на 104 % ($P < 0,07$) по отношению к контрольному периоду. Плотный остаток часовых порций желчи на протяжении всех экспериментов оставался выше исходного уровня. В первый час после кормления молоком и введения аскорбиновой кислоты содержание плотных веществ повышалось на 14,2 %, во второй час на 5,4 %, в третий на 4,5 % и в четвертый час на 9%. Выделение с желчью желчных кислот только во второй час опыта превышало контрольные цифры на 14,5 %, а в остальные часы было значительно ниже исходного уровня.

У собаки "Лотос" кормление молоком и введение аскорбиновой кислоты (Рис.18) вызывало увеличение желчеотделения в первый час на 49,5 % ($P < 0,05$), во второй час - на 64,5 % ($P < 0,05$) по отношению к контрольному часу. В дальнейшие часы желчеотделение снижалось до исходного уровня. Содержание плотного остатка в часовых порциях желчи было непостоянным. Во второй час опыта, соответствующего максимальному подъему желчеотделения, сухой остаток был на 36 % ($P < 0,05$) выше исходного. Содержание в желчи желчных кислот непрерывно убывало на протяжении всех часов эксперимента.

У собаки "Верный" аскорбиновая кислота также оказала усиливающее влияние на секрецию желчи. В первый час опыта секреция желчи превышала исходную на 133 % ($P < 0,05$), во второй - на 162 ($P < 0,01$) и в последний четвертый час на 89 % ($P < 0,05$). Выделение с желчью

холатов при этом уменьшалось на протяжении всех часов эксперимента, как это наблюдалось у собаки "Лотос".

Общее количество желчи, образующейся за пять часов опыта у собаки "Лотос" повысилось на 2,1 %, у собаки "Амур" снизилось на 28,2 % ($P < 0,01$) и у собаки "Верный" также снизилось на 20,5 % ($P < 0,1$). Содержание холатов в общих порциях желчи у собаки "Амур" снизилось на 53,9 % ($P < 0,05$), у собаки "Лотос" повысилось на 36 %. У собаки "Верный" также наблюдалась тенденция к увеличению выделения с желчью желчных кислот. Количество билирубина в общих порциях желчи у собаки "Амур" снизилось на 28,6 % и у собаки "Лотос" на 6 %. У собаки "Верный" количество билирубина повышалось на 11,3 %, Плотный остаток в общих порциях желчи не подвергался изменениям у собаки "Амур" и снизился на 27,5 % у собаки "Лотос".

При использовании в качестве пищевого раздражителя мяса и введении аскорбиновой кислоты наблюдались отчетливые изменения со стороны желчеобразовательной функции печени у собак "Пальма", "Лотос" и "Верный".

У собаки "Пальма" после кормления мясом и введения аскорбиновой кислоты желчеотделение усиливается в первый час на 85 % ($P < 0,1$) и во второй час на 91 % ($P < 0,01$) по отношению к контрольному часу (Рис.19). В третий и четвертый часы желчеотделение мало отличается от контрольного периода. В первый час желчеотделение у собаки "Пальма" превышало контрольные дни на 35,5% ($P < 0,001$), а во второй час на 132 % ($P < 0,01$). Таким образом, увеличение

желчеотделения у собаки "Пальма" в проведенной серии экспериментов является статистически достоверным. Колебания в выделении с желчью желчных кислот, а также содержания

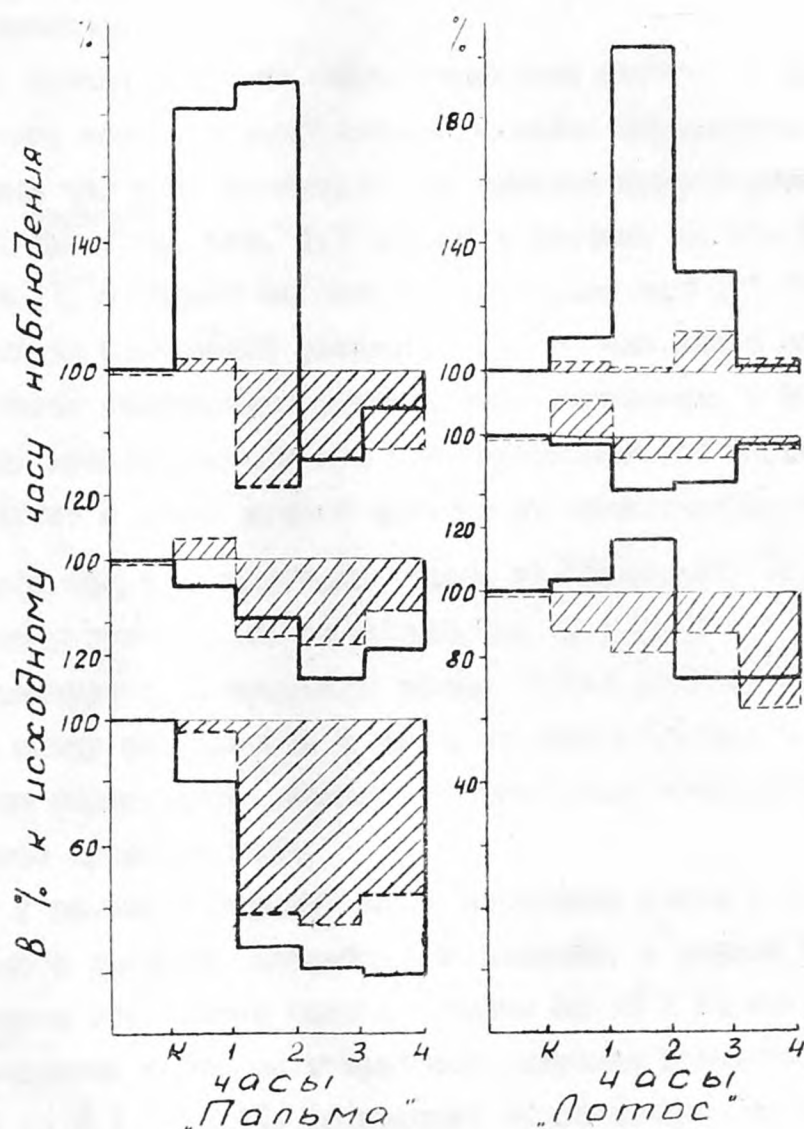


Рис. 19. Влияние аскорбиновой кислоты на пищевое желчеотделение у собаки "Пальма" и "Лотос".

По абсциссе - время опыта в часах (после контрольного часа скармливали 100 г мяса и вводили аскорбиновую кислоту).

Остальные обозначения те же, что и на Рис. 18.

ние в желчи плотного остатка мало отличались от контрольных дней. Корреляционная зависимость между количеством образующейся желчи и содержанием в ней холатов, а также плотного остатка может быть охарактеризована как обратная криволинейная.

У собаки "Лотос" после кормления мясом и внутримышечного введения аскорбиновой кислоты желчеотделение в первый час мало отличается от контрольного периода, во второй час (^{превышало} см. рис. 19) исходный уровень на 104 % ($P < 0,1$), а второй час контрольных дней на 80 % ($P < 0,05$). Отсутствие выраженной реакции в первый час можно объяснить более замедленным поступлением ингибитора в общую систему кровообращения при его внутримышечном введении. Содержание в желчи сухого остатка не превышает контрольных цифр на протяжении всех часов эксперимента. Секреция холатов увеличивалась во второй час на 15,8 % ($P < 0,2$) по сравнению с контрольным часом. Корреляционная зависимость между содержанием в желчи плотного остатка и количеством образующейся желчи в опытных днях становится обратной криволинейной.

У собаки "Верный" после кормления мясом и внутримышечного введения аскорбиновой кислоты в первый час наблюдали торможение секреции желчи на 30 % по отношению к контрольному часу. Во второй час секреция желчи превышала на 24 % ($P < 0,05$) количество образующейся желчи в контрольные дни. В третий час секреция желчи снижалась по отношению к контрольному часу и превышала на 27 % ($P < 0,05$) секрецию в контрольные дни.

Выделение с желчью желчных кислот, а также содержание в ней плотного остатка интенсивно снижалось на протяжении всех часов эксперимента и ни в один из этих часов не превышало контрольный час наблюдения. Корреляционная зависимость между количеством образующейся желчи и содержанием в ней плотного остатка была в этой серии экспериментов обратная криволинейная.

Количество желчи, образующейся за пять часов эксперимента повышалось у собаки "Верный" на 7,8 % ($P < 0,01$), у собаки "Лотос" на 8,1 % ($P < 0,05$) и у собаки "Пальма" на 78,9 % ($P < 0,05$). Содержание плотного остатка в общих порциях желчи значительно снижалось: у собаки "Пальма" - на 26,8% и у собаки "Лотос" на 11,8%. Содержание в желчи холатов у собаки "Лотос" снижалось на 31%, билирубиновыделение на 46,5% по сравнению с контрольными днями. У собаки "Пальма" выделение с желчью желчных кислот повышалось на 22 % ($P < 0,05$) и у собаки "Верный" на 93% ($P < 0,01$). Содержание в желчи билирубина у собаки "Пальма" повышалось на 78,9% ($P < 0,05$), у собаки "Верный" на 7,4 %.

У собак "Верный" и "Пальма" в опытах с кормлением мясом и введением аскорбиновой кислоты желчеотделение изучалось с 15-минутными интервалами. Характерная кривая секреции желчи в этих опытах (Рис. 20) у собаки "Пальма" свидетельствует о весьма быстром наступлении действия аскорбиновой кислоты на желчеобразование. Уже в первые 15 минут имеется усиление секреции, которое обусловлено действием аскорбиновой кислоты на желчеот-

делительную функцию печени. Второе усиление секреции, связанное с действием пищевого раздражителя, появляется значительно позднее - во второй час опыта. По своей величине оно значительно превышает подъем секреции в контрольные дни.

У собаки "Верный" аскорбиновую кислоту вводили внутримышечно и такой закономерности в отношении появления первого подъема секреции выявлено не было. Следовательно, действие аскорбиновой кислоты, как ингибитора

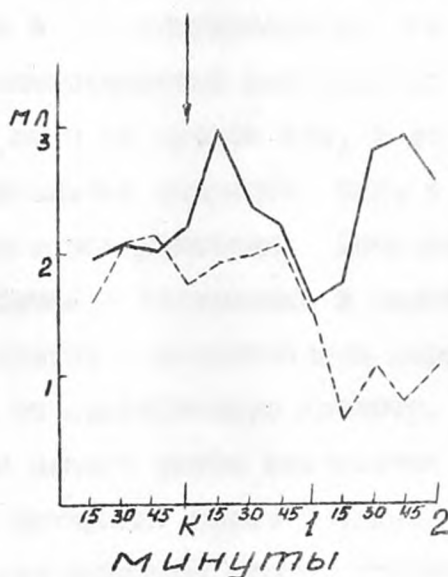


Рис.20. Влияние аскорбиновой кислоты на пищевое желчеотделение у собаки "Пальма".

По абсциссе: - время в 15 минутных интервалах. (стрелкой обозначен момент скармливания мяса и введения аскорбиновой кислоты).

По ординате: - количество желчи в мл. Сплошная линия - опытный, пунктирная - контрольный периоды наблюдения.

гиалуронидазы с довольно низким молекулярным весом, как и действие гипольфена, развивается значительно быстрее, чем гепарина.

Таким образом, проведенные опыты свидетельствуют о выраженном влиянии аскорбиновой кислоты на пищевое желчеобразование. Количество образующейся желчи в течение всех часов эксперимента как по отношению к исходному часу, так и по отношению к контрольным дням значительно увеличивается. Особенность действия этого ингибитора проявляется в пролонгированном его действии, то есть усиление желчеотделения наблюдается не только в первый час опыта, но и во второй час, в то время как в контрольные дни наибольшая секреция была в первый час после дачи пищевого раздражителя. Динамика выделения желчных кислот с желчью и содержания в желчи плотного остатка

свидетельствует о неодинаковом характере ответной реакции печени на аскорбиновую кислоту. Билирубиновыделительная функция печени также изменяется как в сторону усиления, так и снижения после введения аскорбиновой кислоты. Учитывая, что действие этого ингибитора развивается на фоне пищевого раздражителя, самого по себе изменяющего характер секреции желчи, можно предполагать корректирующее влияние аскорбиновой кислоты на желчеобразование. Если вводить аскорбиновую кислоту на высоком фоне секреции желчи, то происходит снижение желчеобразования и, наоборот, введение аскорбиновой кислоты при незначительном уровне холереза резко усиливается желчеотделение. Подобная закономерность наблюдалась в опытах Ю.Н.Успенского (1948), который пишет о корректирующем действии аскорби-

новой кислоты на желчеобразовательную функцию печени.

У собаки "Верный" после кормления мясом и введения различных ингибиторов гиалуронидазы изучена гиалуронидазная активность желчи. В этих опытах, как и в контрольных, сохранялась зависимость гиалуронидазной активности желчи от величины желчеотделения (Рис. 21.) Однако активность гиалуронидазы в порциях желчи опытных и контрольных дней, собранных при одинаковом размере

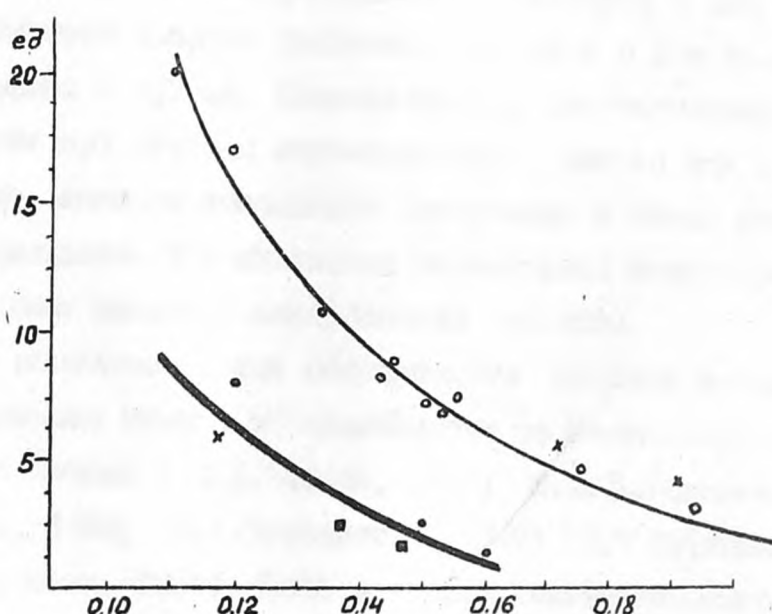


Рис. 21. Влияние неспецифических ингибиторов гиалуронидазы на гиалуронидазную активность желчи при пищевом желчеотделении у собаки "Верный" (мясо 100 г).

Кривые по данным 18 опытов.

По абсциссе: - холерез в мл/мин. По ординате: - гиалуронидазная активность в условных единицах.

Условные обозначения: светлые кружки - активность порций контрольных дней, темные - активность порций желчи в дни введения пипольфена. Крестики - в дни введения гепарина, квадратики - аскорбиновой кислоты.

холере́за, значительно отличалась по своим величинам. При величине желчеотделения 0,117 - 0,120 мл/мин в контрольные дни величина гиалуронидазной активности желчи была равна 17,4 ед. В дни введения гепарина активность была равна 6,0 ед и в дни введения пипольфена 8,2 ед при той же самой величине желчеотделения. При желчеотделении 0,146 - 0,150 мл/мин активность порций желчи контрольной была равна 7,4- 6,9 ед, в то время как при том же уровне холере́за гиалуронидазная активность в дни введения аскорбиновой кислоты равнялась 1,9 ед и в дни введения пипольфена - 2,7 ед. Следовательно, все ингибиторы гиалуронидазы при пищевом желчеотделении, так же как и при тощачковом, снижают абсолютное содержание в желчи фермента гиалуронидазы. Это изменение интенсивнее всего проявляется после введения аскорбиновой кислоты.

В настоящее время общепризнано наличие стимулирующего влияния пищи и её компонентов на внешнесекреторную функцию печени (Б.П.Вабкин, 1927; М.В.Толчибаев, А.К. Гацжиев, 1930; Ю.А.Петровский, 1947; И.Т.Курицин, 1952; В.С.Соловьев, 1969). Пища обладает холеретическими свойствами за счет входящих в её состав жиров, пептонов, альбумоз и других веществ. Мясо считается, по сравнению с молоком, более сильным раздражителем желчеобразовательной функции печени. Л.В.Фальдман (1915) показал, что секрецию желчи больше всего увеличивают белки, затем жиры и, наконец, углеводы. В.С. Брангендлер (1932) установил, что продукты переваривания молока и хлеба дают меньший желчегонный эффект, чем продукты переваривания мяса и фибрина или либиховский экстракт.

Максимальный подъем желчеотделения после кормления различные авторы отмечали в различное время. Окада (*S. Okada, 1929*) считает, что максимум секреции желчи наступает через 1-3 часа, Барбера (*A. B. Barberg, 1935*) - спустя 3-4 часа, П. Спиро (*1930*) - через 5-8 часов.

В наших экспериментах изучение желчеотделения в контрольные дни после скармливания мяса и молока выявило максимальный подъем желчеотделения в различные часы. Например, у собак "Амур" и "Пальма" в первый час, у собаки "Верный" во второй, а у собаки "Лотос" в третий час (Рис. 9, 10).

В опытные дни, когда изучалось влияние гепарина, пипольфена и аскорбиновой кислоты на пищевое желчеотделение секреция желчи значительно увеличивалась при введении всех ингибиторов. Максимальный подъем желчеотделения смещался на более ранние часы опыта (Рис. 12, 13, 15, 16, 18, 19) по сравнению с контрольным периодом. Количество образующейся желчи в часы с максимальным подъемом секреции в опытные дни во много раз превышало количество желчи в часы максимальных подъемов секреции в контрольных опытах.

Существенным образом изменялась в опытные дни выделение с желчью холатов и содержание в желчи плотного остатка. Корреляция между этими показателями зачастую остановилась противоположной по сравнению с контрольными днями - вместо прямой - обратной криволинейной. (Рис. 12, 15, 16, 19). Выражением обратной криволинейной зависимости является увеличение количества желчи со снижением процента плотного остатка и выделения с желчью холатов.

Это значит, что специфические функции печени при этом тормозятся. Примером служит значительное снижение абсолютного количества желчных кислот в общих порциях желчи за 5 часов в сравнении с контрольными днями в опытах с введением гепарина, а в некоторых случаях также после введения пипольфена и аскорбиновой кислоты.

Увеличивая жидкую фазу желчи, ингибиторы в некоторых случаях оказывают стимулирующее влияние на билирубиновыделение и выделение холатов. При действии ингибиторов на пищевую секрецию желчи подобное влияние обнаруживается значительно чаще, чем в опытах со спонтанной секрецией. Введение ингибиторов гиалуронидазы не исключает стимулирующее влияние пищевых веществ и продуктов их переваривания на выделение с желчью холатов и билирубина. Тем не менее увеличение ^в желчи билирубина и желчных кислот не во всех опытах было односторонним с содержанием в желчи плотных веществ. Содержание сухого остатка желчи в некоторых опытах снижалось, несмотря на повышение абсолютного количества холатов и билирубина, повидимому, это является следствием значительного увеличения содержания жидкой фазы.

Действие ингибиторов, как это показали опыты с изучением желчевыделения в 15-минутных порциях (Рис.14, 17,20) развивается при их внутривенном введении в сравнительно короткий интервал времени - 15 минут у аскорбиновой кислоты и пипольфена и 30 минут - у гепарина. Различия скорости эффекта обусловлены разным размером молекул этих веществ. Низкомолекулярные вещества -

аскорбиновая кислота и пипольфен - значительно быстрее проникают к месту своего действия по сравнению с крупными молекулами гепарина. Продолжительность эффекта каждого из ингибиторов, повидимому, также различна и не завершается первичным усилением желчеотделения в 15 и 30 минут.

Возникает вопрос - каков же механизм действия гепарина, пипольфена и аскорбиновой кислоты на желчеотделительную функцию печени? В предыдущей главе, разбирая действие ингибиторов на спонтанную секрецию, мы предположили, что эти вещества, не изменяя процессов фильтрации в желчевыносящие протоки, угнетают выделение эндогенной гиалуронидазы в просвет желчевыносящих путей и тем самым подавляют процессы реабсорбции воды в желчных протоках. В результате этого наступает увеличение жидкой фазы желчи. В опытах по изучению действия ингибиторов на пищевую секрецию было выявлено резкое снижение гиалуронидазной активности желчи, что, вероятно, связано также с уменьшением отдачи этого фермента в просвет желчевыносящих путей. Следовательно, это действие ингибиторов сохраняется и во время пищевой секреции. Пищевые вещества сами по себе оказывают усиливающее влияние на желчеобразование, но это действие значительно потенцирует различные по своей структуре вещества - гепарин, пипольфен и аскорбиновая кислота, - обладающие однонаправленным действием, по всей вероятности, только за счет присущей им общей способности подавлять действие гиалуронидазы. Проведенная серия экспериментов послужила дополнительным аргументом

в пользу признания участия системы гиалуроновая кислота - гиалуронидаза в интимных механизмах желчеобразования.

Если развиваемое нами представление о механизме действия ингибиторов гиалуронидазы соответствует действительности, следует ожидать, что сама гиалуронидаза, вводимая в печеночную циркуляцию или в просвет желчных протоков, должна повышать реабсорбцию воды и некоторых компонентов жидкой фазы желчи, в результате чего количество образующейся желчи должно при этом в значительной степени снижаться.

Для выяснения этого вопроса мы предприняли серию острых опытов на крысах - вводили гиалуронидазу и исследовали желчеобразование. Опыты с введением крысам ингибиторов гиалуронидазы служили нам контролем. Наконец для выяснения механизмов действия всех этих веществ необходимо было также провести серию экспериментов с гистохимическим исследованием предполагаемого субстрата их действия - гиалуроновой кислоты, одного из представителей группы кислых мукополисахаридов.

Глава У1

ВЛИЯНИЕ ГИАЛУРОНИДАЗЫ И ЕЁ НЕСПЕЦИФИЧЕСКИХ
ИНГИБИТОРОВ НА ЖЕЛЧЕОТДЕЛИТЕЛЬНУЮ ФУНКЦИЮ
ПЕЧЕНИ В УСЛОВИЯХ ОСТРЫХ ОПЫТОВ.

Изучение желчеотделения в контрольной серии опытов при введении крысам 0,9 % раствора *NaCl* показало незначительные колебания количества образующейся желчи в течение всех часов эксперимента (Рис.22). В первый час после инъекции физиологического раствора количество образующейся желчи увеличивается на 6,1 %, во второй час - на 5,4 % по отношению к контрольному часу. В последующие часы желчеотделение достигает исходного уровня. Секреция коллатов в этих опытах повышалась и во второй и третий часы на 56 % ($P < 0,02$) превышала контрольный уровень. Содержание в желчи фильтруемых субстанций - калия и натрия существенным образом не изменялось в течение всех часов эксперимента. В первый час после введения физиологического раствора содержание в желчи натрия снизилось на 0,6 % ($P < 0,05$), а содержание калия повысилось на 1,2 %. В третий час опыта выделение с желчью натрия было на 2,5 % ниже исходного уровня, а калия на 6,2 % выше нулевого часа. Таким образом, введение контрольным крысам физиологического раствора *NaCl* вызывало незначительные сдвиги в выделении с желчью жидкой фазы с

содержащимися в ней ионами калия и натрия. Следует отметить лишь значительное повышение секреции холатов на протяжении всех часов опытов.

В трех сериях опытов исследовали влияние на желчеобразование у крыс неспецифических ингибиторов гиалуронидазы - гепарина, пипольфена и аскорбиновой кислоты.

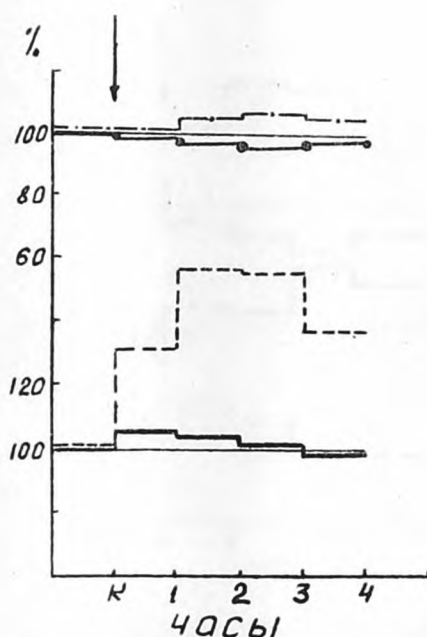


Рис. 22. Желчеотделение у крыс контрольной серии опытов (введение 0,9% раствора хлористого натрия. По абсциссе: - время опыта в часах. По ординате: - сплошная линия - количество образующейся желчи; сплошная линия с точками - выделение натрия; штрих - пунктирная линия - концентрация в желчи калия; пунктирная линия - содержание в желчи холатов. (Все показатели в % к контрольному часу опыта). Стрелка - момент инъекции раствора.

Внутрибрюшинная инъекция гепарина приводила к выраженным изменениям в желчеобразовательной функции печени. Количество образующейся желчи (Рис. 23) увеличилось в первый час на 8,2 %, а во второй час - на 6,6% ($P < 0,05$). Максимум секреции желчи наблюдали в третий час опыта. В это время желчеобразование на 20,5 % превысило ~~контрольный~~ уровень.

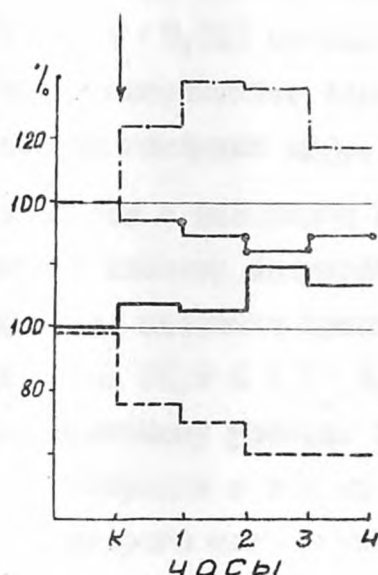


Рис. 23. Влияние гепарина на желчеобразование в острых опытах на крысах.

Остальные обозначения те же, что и на Рис. 22.

Выделение с желчью желчных кислот после введения гепарина снижалось по сравнению с исходным уровнем на протяжении всех часов эксперимента. В третий час опыта выделение с желчью холатов было на 39,6% ниже контрольного часа. При расчете холатов (в мг) их содержание в

желчи было на 25,2% ниже во второй час опыта и на 9,2 % ниже контрольного часа в третий час опыта. Выделение с желчью натрия после введения гепарина уменьшалось в первый час опыта и было минимальным в третий час. В это время секреция натрия была на 14,3 % ($P < 0,02$) ниже исходного уровня. Содержание ионов калия в печени повысилось на 24,8% ($P < 0,07$) в первый час после введения гепарина и достигло максимума выделения во второй и третий часы. В третий час опытов содержание в желчи ионов калия на 36,7 % ($P < 0,01$) превышало контрольный уровень. В четвертый час экспериментов содержание в желчи ионов калия снижалось до исходных цифр.

В серии опытов с введением ингибитора гиалуронидаза - аскорбиновой кислоты количество образующейся желчи увеличивалось после введения препарата на 21,4 % ($P < 0,001$) во второй час и на 36,9 % ($P < 0,01$) в третий час по отношению к контрольному уровню. Содержание холатов при расчете концентрации в г/л не изменялось на протяжении первого и второго часа опытов и снижалось на 23,8 % в третий час. Абсолютное содержание в желчи желчных кислот (Рис. 24) повышалось в течение первых трех часов опыта, а в четвертый час снижалось на 36,8% ($P < 0,01$). Содержание в желчи ионов натрия снижалось на 7,2 % ($P < 0,01$) в первый час после введения аскорбиновой кислоты на 10,4 % ($P < 0,001$) - во второй час, на 9,6% ($P < 0,001$) - в третий и на 8,3 % ($P < 0,02$) в четвертый часы наблюдения. Динамика выделения с желчью натрия в этой серии опытов была такая же, как и после

введения гепарина, только минимум в экскреции натрия приходится на второй, а не на третий час опытов. Выделение калия с желчью после введения аскорбиновой кислоты повышалось на 21,4 % ($P < 0,02$) в первый час и на 26,5 % ($P < 0,05$) во второй час по отношению к контрольному часу. Максимум выделения с желчью ионов калия наблюдался во второй час опыта, так же как и после введения гепарина. В четвертый час выделение с желчью ионов калия возвращалось к исходному уровню.

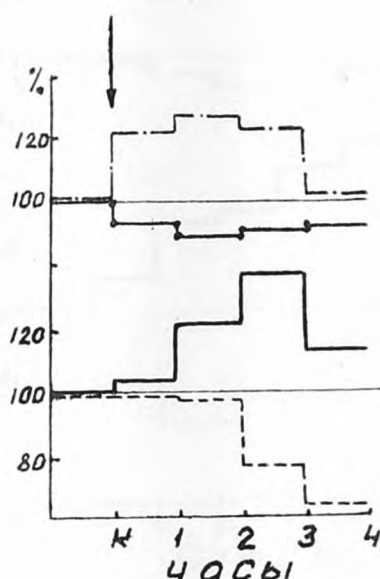


Рис. 24. Влияние аскорбиновой кислоты на желчеобразовательную функцию печени у крыс.

Остальные обозначение те же, что и на Рис. 22.

После введения пипольфена желчеотделение усиливается на протяжении всех пяти часов от начала эксперимента. Во второй час количество образующейся желчи на 28,4% ($P < 0,01$) превышает нулевой час, в третий час на 31,1 %

($P < 0,01$) и в пятый час на 52,2 % ($P < 0,02$). Эти данные приведены на Рис. 25. Таким образом, максимум секреции желчи после введения пипольфена наблюдается в пятый час от начала эксперимента, а не в третий час, как это было в опытах с введением гепарина и аскорбиновой кислоты. К шестому часу желчеотделение в серии опытов с введением пипольфена возвращалось к исходному уровню.

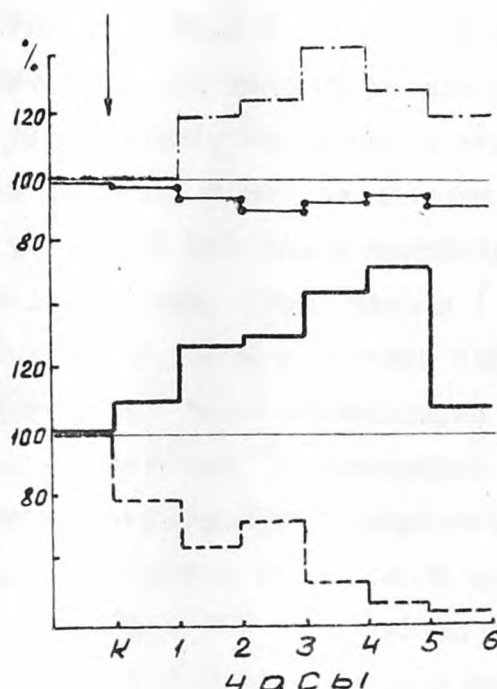


Рис. 25. Влияние пипольфена на желчеобразовательную функцию печени в острых опытах на крысах.

Остальные обозначения те же, что и на Рис. 22.

Секреция желчных кислот после введения пипольфена при расчете их абсолютной концентрации (в мг) уменьшалась на 35,8 % ($P < 0,15$) во второй час опыта, в третий, четвертый и пятый часы повышалась и в шестой час была ниже на 62,6 % контрольного часа опыта. Выделение холатов в желчи (в г/л) после введения пипольфена уменьшалось на 38,4 % ($P < 0,001$) во второй час, на 26,5 % ($P < 0,02$) - в третий час и на 46,8 % ($P < 0,02$) в четвертый час. Следовательно секреция желчных кислот после введения пипольфена уменьшается, как и после введения гепарина и аскорбиновой кислоты, и первый минимум в их содержании приходится на второй час после введения ингибитора.

Содержание в желчи ионов натрия (Мэкв/л) уменьшается после введения пипольфена в течение первого и второго часов и в третий час было минимальным - на 9,1 % ($P < 0,05$) ниже ^{исходн.}исходного. В дальнейшие три часа эксперимента выделение ионов натрия ^{ув.бнр.}возвращалось к исходному уровню. Экскреция ионов калия после введения пипольфена увеличивалась на 20,1 % ($P < 0,01$) во второй час опыта, на 25,5 % ($P < 0,001$) в третий час и на 42,1 % ($P < 0,02$) в четвертый час. В пятый час содержание в желчи ионов калия превышало на 28,2 % ($P < 0,02$) контрольный уровень. и в шестой час на 21,5 % ($P < 0,01$). Таким образом, в выделении ионов калия максимум в этой серии опытов наблюдался в четвертый час опыта, в то время как после введения гепарина и аскорбиновой кислоты - во второй час опытов.

Сравнение влияния на желчеотделение всех ингибиторов гиалуронидазы - гепарина, аскорбиновой кислоты и пипольфена показало, что все эти вещества вызывают однозначные изменения желчеобразования. Различия заключаются лишь в скорости развития эффекта после введения того или иного ингибитора. Например, максимум желчеотделения после введения гепарина и аскорбиновой кислоты наблюдается в третий час опытов, а после введения пипольфена в пятый час. Максимум выделения с желчью ионов калия наступает во второй час после введения гепарина и аскорбиновой кислоты и в четвертый час после введения пипольфена. Выделение с желчью натрия уменьшается более значительно при введении гепарина и аскорбиновой кислоты.

Минимальное содержание натрия наблюдается во второй и третий часы опыта после введения всех ингибиторов.

Данные, касающиеся выделения желчных кислот с желчью, свидетельствуют об угнетении секреции холатов после введения всех ингибиторов гиалуронидазы. При этом уменьшается не только концентрация холатов в желчи, что наблюдается после введения всех препаратов, но и уменьшается абсолютное количество желчных кислот. Только после введения аскорбиновой кислоты абсолютное содержание холатов в первый и второй часы повышается, а затем снижается в последующие часы опыта. Полученные результаты свидетельствуют об угнетении секреторной активности печеночных клеток при введении гепарина, пипольфена и аскорбиновой кислоты.

Таким образом, острые опыты подтвердили данные хронических экспериментов. Неспецифические ингибиторы гиалуронидазы повышают содержание жидкой фазы желчи, угнетают секреторную функцию печеночных клеток - происходит снижение количества желчных кислот, значительно повышается содержание ионов калия за счет снижения процессов реабсорбции калия в желчевыносящих путях.

В заключительной серии острых опытов на крысах - было изучено влияние препарата тестикулярной гиалуронидазы (25000 ед/кг веса интраперитонеально) на желчеотделительную функцию печени.

Внутрибрюшинное введение препарата гиалуронидазы привело к снижению количества образующейся желчи в первый час опыта на 20,4 % ($P < 0,06$) по отношению к контрольному уровню. Желчеотделение интенсивно снижалось в течение второго часа и было наименьшим в третий час - на 27,7 % ($P < 0,1$) ниже исходного уровня. В конце четвертого часа желчеотделение приближалось к исходному уровню. (Рис.26). Изучение концентрации желчных кислот в желчи, а также их абсолютного содержания показало уменьшение выделения холатов на протяжении всего опыта. В третий час опытов концентрация холатов была на 42 % ($P < 0,01$) ниже исходного уровня, а их абсолютное содержание в желчи было на 39 % ($P < 0,05$) меньше исходных цифр.

Содержание в желчи ионов натрия после введения гиалуронидазы уменьшалось на 4,4 - 4,6 % ($P < 0,07$) в первый и второй часы опытов. Следует отметить, что динамика секреции натрия не претерпевала существенных сдвигов в этой

серии экспериментов, как и после введения физиологического раствора в контрольной серии экспериментов. Содержание в желчи ионов калия существенным образом снижалось на протяжении всего эксперимента. Так, в первый час после введения фермента концентрация калия снизилась на 19,2 % ($P < 0,01$), во второй час - на 16,9 % ($P < 0,02$), в третий час - на 27 % ($P < 0,2$) и в четвертый на 12 % ($P < 0,02$). Следовательно, минимальная концентрация калия в желчи наблю-



Рис. 26. Влияние тестиккулярной гиалуронидазы (25 000 ед/кг) на желчеобразовательную функцию печени в острых опытах на крысах.

Остальные обозначения те же, что и на Рис.22.

далась в третий час после введения гиалуронидазы.

Серия экспериментов с введением гиалуронидазы подтвердила наше предположение о способности этого фермента деполимеризовать межклеточное вещество стенок желчных

протоков и тем самым повышать процессы реабсорбции в желчных путях. Фермент вызвал отчетливое снижение жидкой фазы желчи и кроме того, значительно снижал концентрацию ионов калия, которые, по всей вероятности, подвергались значительной реабсорбции в дистальных частях желчевыносящей системы. Для того, чтобы гиалуронидаза, вводимая нами в эксперименте, могла оказать подобное действие, она должна проникнуть в просвет желчевыносящих путей. Повидимому, это неизбежно должно привести к резкому повышению гиалуронидазной активности желчи.

Опыты с изучением гиалуронидазной активности желчи после внутрибрюшинной инъекции крысам гиалуронидазы и её неспецифических ингибиторов. подтверждают это предположение. (Рис. 27.). После введения физиологического раствора в контрольной серии экспериментов гиалуронидазная активность желчи, измеренная вискозиметрическим методом, была равна 8,9 ед. В опытах с введением ингибиторов гиалуронидазы ферментативная активность желчи значительно снижалась: после введения гепарина до 7,3 ед, после введения аскорбиновой кислоты до 6,3 ед. и после введения пипольфена до 2,6 ед. Подобный эффект действия ингибиторов связан, повидимому, как и в хронических экспериментах, с угнетением процессов выделения эндогенной гиалуронидазы в просвет желчевыносящих путей, что и обуславливает снижение реабсорбционных процессов в желчевыносящих путях.

После введения тестикулярной гиалуронидазы активность желчи резко возрастает. В среднем она была равна 43,3 ед. Нагрузка экзогенной гиалуронидазой, очевидно, способствует значительному повышению гиалуронидазной активности желчи за счет проникновения её в желчные пути. Присутствие вводимой гиалуронидазы в желчных путях вызывает значительное повышение проницаемости их для воды и калия. Неизбежным следствием этого должно быть снижение количества образующейся желчи и содержания в ней калия, что мы и наблюдали в экспериментах после

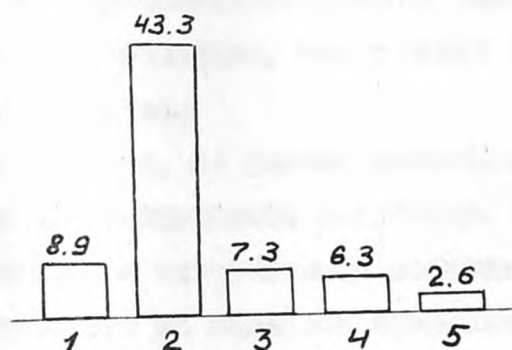


Рис. 27. Гиалуронидазная активность общих порций желчи (в усл.ед) в острых опытах на крысах.

- 1- контрольная серия (введение 0,9% раствора NaCl)
2- серия с введением гиалуронидазы; 4- аскорбиновой кислоты; 3- гепарина; 5- пипольфена.

введения гиалуронидазы.

В литературе мы обнаружили только одну работу Л.А.Гейнака (1968) по исследованию действия стрепто-гиалуронидазы на секрецию и химический состав желчи.

В острых опытах автор вводил крысам в умеренных дозах (5, 15, 25, 40 усл.доз) препараты стрептококковой гиалуронидазы и наблюдал резкое увеличение желчеотделительной функции печени. По мнению Л.А. Гейнака - это происходит за счет фильтрационного и секреторного механизмов желчеобразования. Однако, в опытах Л.А.Гейнака гиалуронидазная активность желчи не определялась. Кроме того, автор рассматривает действие стрептококковой гиалуронидазы с позиций действия этого фермента на желчевыносящие пути при хронических стрепто - стафилококковых холецисто-холангитах. В наших экспериментах мы вводили значительно большие дозы фермента гиалуронидазы, чем и могут быть объяснены различия в результатах.

Таким образом, по данным проведенных нами острых экспериментов неспецифические ингибиторы гиалуронидазы - гепарин, пипольфен и аскорбиновая кислота - оказывают однозначное действие на желчеобразовательную функцию печени: повышают количество образующейся желчи за счет жидкой фазы и значительно увеличивают содержание в ней ионов калия. Выделение желчных кислот с желчью при этом уменьшается.

Внутрибрюшинное введение гиалуронидазы уменьшает количество выделяющейся желчи и содержание в ней калия и желчных кислот. Подобное противоположное действие фермента и его ингибиторов подтверждает значение системы " гиалуроновая кислота - гиалуронидаза " в процессе желчеотделения. Фермент гиалуронидаза, регулируя проницаемость

желчевыносящих путей, тем самым изменяет уровень процессов обратной реабсорбции жидкой фазы желчи и её составных частей. Выделение гиалуронидазы в просвет билиарных путей не постоянно и изменяется в зависимости от уровня холереза.

Повидимому, будет правильнее считать, что размер желчеотделения определяется величиной секреции фермента в желчные пути. Как в острых, так и в хронических экспериментах нам удалось показать, что с помощью ингибиторов гиалуронидазы можно регулировать количество фермента, поступающего в желчь. Следует предположить, что сам процесс секреции гиалуронидазы клеточными элементами печени подвергается регуляции.

ГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ПЕЧЕНИ ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ ГИАЛУРОНИДАЗЫ И ЕЁ НЕСПЕЦИФИЧЕСКИХ ИНГИБИТОРОВ^{х)}

Действие гиалуронидазы и её ингибиторов на желчеобразовательную функцию печени, как мы предположили реализуется через систему гиалуроновая кислота - гиалуронидаза. Эту гипотезу необходимо было подтвердить в серии гистохимических исследований кислых мукополисахаридов печени, к которым принадлежит гиалуроновая кислота. Динамика метакроматических субстанций после введения гиалуронидазы и её ингибиторов исследовалась одновременно с содержанием в гепатоцитах РНП и гликогена. Эти субстраты, согласно исследованиям В.В.Кедровского (1959) и более ранним Форсгрена (*E. Forsgren*, 1929; 1930), отражают функциональное состояние печеночных клеток.

На введение гепарина печеночные клетки реагируют усиленным синтезом Шик-положительного вещества, максимум которого приходится на первый час опыта (фото 1, прил.1), что видно при сравнении с контрольной печенью (фото 2, прил.1). Гранулы Шик-положительного вещества не выявляются в межклеточных пространствах. Реакция предотвращается предварительной обработкой кристаллической диастазой (фото 3, прил.1).

^{х)} Гистохимические исследования выполнены на кафедре гистологии (Зав. - проф. П.В. Дунаев) Тюменского медицинского института. Выражаю глубокую благодарность проф. П.В. Дунаеву и аспирантам кафедры А.Г. Гимовкеру и Г.С. Соловьеву за помощь при выполнении этого раздела работы.

Шик-положительное вещество купферовских клеток диастазо-резистентно. Гистохимический анализ показал, что Шик-положительный гранулярный субстрат печеночных клеток является гликогеном, а гомогенный Шик-материал клеток Купфера - гепарином. Одновременно меняется характер распределения пиронинофильных гранул в цитоплазме печеночных клеток. Если в контрольной серии содержание РНП в цитоплазме гепатоцитов было в виде равномерно распределенных мелких гранул, то уже через 15 минут после введения гепарина на фоне равномерного прокрашивания цитоплазмы происходит слияние мелких гранул РНП в крупные конгломераты. Уменьшение гранулярности РНП является признаком начавшейся секреции (В.В.Кедровский, 1959; *A. Caird et al.*, 1955), которая достигает максимума к первому часу опыта (фото 1, прил.П), что видно при сравнении с контрольной печенью (фото 2, прил.П). Пиронинофильные гранулы гепатоцитов ферментируются рибонуклеазой (фото 3, прил.П). Уменьшение "секреторных" гранул и зерен Берга (В.В.Кедровский) в цитоплазме гепатоцитов связано, по всей вероятности, с действием гепарина на систему синтеза белка, важнейшим компонентом которого является РНП. Через два часа после введения гепарина лабильный аппарат белкового синтеза гепатоцитов истощается: снижается пиранинофилия ядрышек, в цитоплазме гепатоцитов образуются пиранинонегативные зоны (фото 4, прил.П). Гранулы РНП находятся вокруг ядра и вблизи плазмолеммы. К четвертому часу опыта содержание РНП и гликогена приближается к исходному уровню. После введения гепарина гранулярное Хейл-положительное вещество заполняет цитоплазму печеночных клеток и клеток

Купфера с максимальной выраженностью через один час после начала опыта (фото 1, прил. III). Единичные гранулы этого вещества прослеживаются в межклеточных пространствах и в просвете синусоидных капилляров. Клетки Купфера реагируют с диализованным железом наиболее интенсивно. Реакция с толуидиновым синим обнаруживает яркие метахроматические гранулы по периферии цитоплазмы печеночных клеток и в районе наружных клеточных мембран, межклеточного цементирующего вещества. Ко второму часу опыта кислые мукополисахариды в названных структурах печени не выявляются.

Хейл-положительные и метахроматические субстраты ферментируются в цитоплазме гепатоцитов бактериальной и телячьей гиалуронидазами (фото 2, прил. III). В соединительнотканной строме, эпителии желчных ходов и в просвете желез общего желчного протока ко второму часу опыта увеличивается содержание кислых мукополисахаридов с одновременным уменьшением гликогена (фото 3, прил. III). В дальнейшие часы эксперимента в железах общего желчного протока содержание метахроматических субстанций изменялось незначительно.

Аскорбиновая кислота вызывает интенсивное накопление гликогена в печеночных клетках к 30 минутам опыта (фото 1, прил. IV). Содержание гранул гликогена в гепатоцитах заметно уменьшается к первому и ко второму часам опыта (фото 2, прил. IV). Эпителий желчных ходов и окружающая их соединительнотканная строма к этому времени Шик-негативны (фото 3, 4, прил. IV). К концу эксперимента содержание гликогена в гепатоцитах восстанавливается к исходному уровню (фото 5, прил. IV). Уменьшение гликогена к первому и ко второму часам опыта происходит одно-

временно с увеличением содержания РНП в цитоплазме гепатоцитов (фото 1, прил.У), Максимум которого достигает к первому часу опыта (фото 2, прил.У). При окраске толугидиновым синим периферия цитоплазмы печеночных клеток и межклеточные щели к 30-й минуте опыта насыщены гранулами метакроматического вещества (фото 1, прил.У1). Интенсивность метакромазии возрастает после сульфатирования срезов. Проведение реакции при $pH=2,8$, обработка срезов стрептококковой и тестикулярной гиалуронидазами или 0,3 раствором *NaCl* прототращает метакромазию. Это позволяет считать данный мукополисахарид гиалуроновой кислотой.

К одному часу опыта гранулы гиалуроновой кислоты содержат в небольшом количестве в периферических отделах гепатоцитов, а межклеточные щели при окраске толугидиновым синим при $pH=4,6$ обесцвечиваются (фото 2, прил.У1). В просвете крупных желчных протоков и по поверхности их эпителиальной выстилки в течение первого часа опыта формируется кайма метакроматического субстрата (фото 3, прил.У1).

Динамика изменения Хейл-положительного вещества печеночных клеток в ходе опыта была сходной с метакроматическими компонентами. На апикальной поверхности эпителия желчных протоков и желез главного протока к 15-й минуте опыта формируется рыхлая Хейл-позитивная кайма (фото 1,а, прил.УП) в состав которой входит гиалуроновая кислота. Максимальное накопление Хейл-субстрата в эпителии и просветах желчных протоков наблюдается во второй час опытов (фото 2, а,б, прил.УП).

Пипольфен, так же как и аскорбиновая кислота, вызывает интенсивное накопление гликогена в гепатоцитах к 30 мину-

там опыта (фото 1, прил.УШ). К первому часу опыта происходит уменьшение содержания гликогена в печеночных клетках (фото 2, прил.УШ) и к двум часам гранулы гликогена отсутствуют в гепатоцитах (фото 3, прил.УШ), что свидетельствует о снижении их синтетической активности. Эпителиальные клетки общего желчного протока и его желез реагируют на введение пипольфена также, как и на введение гепарина и аскорбиновой кислоты. Отличительной особенностью действия пипольфена является стабильное угнетение синтетической активности гепатоцитов: к концу эксперимента мы не наблюдали нормализации в содержании гликогена (фото 4, прил.УШ).

Сопряженно с градацией гликогена меняется характер распределения пиронинофильных гранул в гепатоцитах. Количество РНП в печеночных клетках к 30 минутам опыта незначительно (фото 1, прил.1Х) и увеличивается к первому часу (фото 2, прил.1Х). В дальнейшие часы эксперимента происходит интенсивное снижение содержания РНП в гепатоцитах. В пятый час после введения пипольфена в цитоплазме гепатоцитов содержание РНП не достигало исходного уровня (фото 3, прил.1Х), что, на наш взгляд, свидетельствовало об истощении лабильного аппарата белкового синтеза гепатоцитов.

Метахроматический Хейл-позитивный субстрат периферических отделов цитоплазмы печеночных клеток и межклеточных пространств на протяжении опытов убывает (фото 1,2,3, прил.

После введения гиалуронидазы в цитоплазме печеночных клеток, прилегающих к центральной вене, к одному часу опыта происходит интенсивное накопление гликогена,

тогда как в печеночных клетках, расположенных по периферии дольки содержание гликогена незначительное.

Следует отметить, что печеночная ткань на введение гиалуронидазы реагирует мозаично: между печеночными дольками, клетки которых усиленно синтезируют гликоген, располагаются дольки с малым содержанием гликогена (фото 1, прил. X1). Гепатоциты находятся на различной стадии ассимилярной фазы: цитоплазма одних полностью нафарширована гранулами гликогена (фото 2, а, прил. X1), а в других же содержание гликогена незначительное (фото 2, б, прил. X1).

Печеночные клетки вовлекаются в процесс синтеза гликогена постепенно: по направлению от центра дольки к ее периферии. Просветы желез крупных желчных протоков заполнены Шик-позитивным диастазорезистентным веществом, секрета в них не обнаружено. Цитоплазма клеток эпителиальной выстилки крупных и мелких желчных протоков прокрашивается Шифф-реактивом равномерно (фото 3, прил. X1).

К двум часам после введения гиалуронидазы в печеночных клетках гликоген гистохимически не выделяется. Сопряжено со снижением содержания гликогена в цитоплазме гепатоцитов отмечается значительное накопление Шик-позитивных субстратов в просветах мелких желчных протоков, цитоплазме клеток их эпителиальной выстилки и междольковой соединительной ткани. Весьма интенсивна Шик-позитивная реакция стенок кровеносных сосудов печеночных триад.

Сопряжено с нарастанием Шик-позитивного субстрата в мелких желчных протоках мы не обнаружили в них Хейл-положительного метахроматического вещества. Просветы желчных протоков свободны от секрета, содержащего мукополисахарид

По нашему мнению это является результатом действия гиалуронидазы на структуры, содержащие гиалуроновую кислоту. Как следствие, при этом повышается проницаемость междольковой соединительной ткани, межклеточных щелей гепатоцитов и эпителиальной выстилки мелких желчных протоков и стенки кровеносных сосудов - всего того комплекса, который представляет собой аппарат реабсорбции. Малое содержание Шик-положительных субстратов отмечено нами в стенке собирательных центральных вен - сосудов, не принимающих участия в механизме реабсорбции. Подобная гистохимическая картина печеночной ткани сохраняется на стадии четырех и пяти часов опыта (фото 1, а, б, прил. XII).

После введения гиалуронидазы через один час в цитоплазме печеночных клеток содержится значительное количество гранул Хейл-положительного субстрата. Распределение Хейл-веществ и гликогена печеночных клеток идентичны.

В зоне гепатоцитов, содержащих Хейл-субстрат, межклеточные щели заполнены гиалуроновой кислотой (фото 2, прил. XII). В просвете желез крупных желчных протоков содержится значительное количество Хейл-положительного метакроматического субстрата, что свидетельствует о накоплении мукополисахаридов (фото 3, а, прил. XII), формирующих ножную кайму и по поверхности эпителиальной выстилки желчных протоков (фото 3, б, прил. XII). Данная картина свидетельствует о том, что действие гиалуронидазы еще не проявилось, печеночные дольки функционируют мозаично, механизм синтеза мукополисахаридов нормализован.

Через два часа после введения гиалуронидазы Хейл-веществ

вымывается из межклеточных пространств гепатоцитов и цитоплазмы печеночных клеток, что обусловлено, повидимому, энзиматическим расщеплением гиалуроновой кислоты (С.М.Бычков, 1963). В расщепленном виде гиалуронаты реабсорбируются в мелких желчных ходах - повышение интенсивности Пик-реакции в мелких желчных ходах. Действие гиалуронидазы как крупномолекулярного субстрата начинается, следовательно, через час после внутрибрюшинного введения. К четырем часам опыта гистохимическая картина печени не меняется. (При. XII, фото 4), что говорит о пролонгированном эффекте действия гиалуронидазы. В серии опытов с введением физиологического раствора гистохимическая картина печени была мало измененной.

Анализ полученного материала показал, что действие ингибиторов гиалуронидазы - гепарина, аскорбиновой кислоты и пипольфена связано с обменом полисахаридов печеночной ткани. Введение всех ингибиторов приводило после кратковременного повышения в содержании гликогена к его резкому снижению в гепатоцитах, следовательно, в это время секреторная активность печеночных клеток была максимальная. Скорость развития морфодинамического эффекта зависела, по всей вероятности, у различных ингибиторов от величины молекул. Так, например, у пипольфена и аскорбиновой кислоты, величина которых значительно меньше чем у гепарина, действие развивалось быстрее. Гепарин проникает в купферовские клетки, связываясь в них с белком (См. диастазорезистентный материал, фото 3, прил.1), непосредственно контактирует с гиалуронатами оболочек гепатоцитов, тем самым, повидимому, препятствует поступлению гиалуронидазы из лизосом печеночных клеток

(*N. Aronson, & Davidson* 1965) в мезилеточное пространство, и этим объясняется накопление гиалуроновой кислоты в мезилеточных щелях. В просвете и стенке мелких желчных протоков в течение первого и второго часа опыта также происходит интенсивное накопление хромотропных веществ. Таким образом, высказанное в предыдущих разделах данной работы предположение о снижении процессов реабсорбции после введения гепарина находит подтверждение в серии гистохимических исследований.

Аскорбиновая кислота, так же как и пипольфон, вызывает первоначальное кратковременное накопление гликогена в гепатоцитах, которое в дальнейшем снижается. Убывание гранул гликогена сопряжено с накоплением в печеночных клетках РНП. В перипеллюлярных пространствах резко снижается количество мукополисахаридов, в то время как в стенках желчных протоков их количество в значительной степени увеличивается. Таким образом, в данном случае следует ожидать снижение процессов реабсорбции, что приведет к значительному увеличению жидкой фазы желчи. Эти данные подтвердили и углубили результаты физиологических опытов, описанных в предыдущих главах данной работы. Отличительной особенностью действия пипольфона является медленно развивающийся эффект и стабильное угнетение синтетической деятельности гепатоцитов. Следовательно, все ингибиторы гиалуронидазы оказывали направленное воздействие на обмен полисахаридов и содержание РНП печеночной ткани. Накопление мукополисахаридов типа гиалуроновой кислоты в стенках протоков. Уменьшение их проницаемости в резуль-

тате этого является морфологической основой снижения эффекта реабсорбции желчи.

Гиалуронидаза вызывает противоположные сдвиги в динамике мукополисахаридов стенок желчных протоков: резкое уменьшение Хейл-позитивного метакроматического субстрата в интерцеллюлярных пространствах приводит к повышению процессов реабсорбции, что в физиологическом эксперименте проявляется значительным снижением количества образующейся желчи.

Таким образом, проведенные гистохимические исследования подтвердили гипотезу о влиянии гиалуронидазы и её ингибиторов на мукополисахариды межклеточного вещества протоков и интерцеллюлярных пространств. Морфодинамические сдвиги в клеточных элементах печени и межклеточном пространстве служат выражением развивающихся эффектов при воздействии этих веществ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение желчеобразовательной функции печени в настоящее время осуществляется с многочисленных позиций, однако, механизм секреции желчи остается мало изученным и не только в силу того, что в отечественной и зарубежной литературе имеются по этому поводу единичные исследования. Трудности заключаются прежде всего в том, что сам процесс желчеотделения является чрезвычайно сложным по своей природе и подвержен значительным изменениям под влиянием различных физико-химических и физиологических факторов. При изучении желчеобразования до сих пор не удалось применить метод микропункции желчных канальцев, что Ричардс по отношению к почке выполнил еще в 1924 году. На пути исследователя встречается также затруднение при сборе желчи во время экспериментов.

В нашем исследовании мы сделали попытку выяснить участие системы гиалуроновая кислота — гиалуронидаза в интимных механизмах желчеобразования. Как известно (С.М. Вичков, А.Г. Гинецкинский, Ю.В. Наточин) эта система, помимо почек, играет важную роль в деятельности многих органов как в физиологических, так и патологических условиях. Наша попытка была оправдана имеющимися в литературе сведениями о самой высокой гиалуронидазной активности печеночных тканевых экстрактах по сравнению с другими органами (Л.Г. Иванова), о наличии гиалуронидазы

в лизосомах клеток печени (*N. Aranson, E. Davidson*), а также данными Г.Б. Мхитаровой об участии системы гиалуроновая кислота - гиалуронидаза в процессе реабсорбции из желчного пузыря.

В серии экспериментов по выявлению фермента гиалуронидазы в желчи у различных представителей животного мира нам удалось показать его широкое распространение в эволюционном ряду животного мира, что послужило поводом к признанию универсального значения гиалуронидазы в интимном механизме желчеотделения. Присутствие гиалуронидазы в печеночной желчи крыс, не имеющих желчного пузыря, подчеркивает её происхождение именно из секреторных элементов печени и на возможность действия гиалуронидазы на проницаемость желчевыносящих путей.

При изучении гиалуронидазной активности желчи нами был установлен весьма примечательный факт - количество фермента, поступающего в желчь, не является строго постоянным. Оно изменяется и тем самым изменяет проницаемость желчевыносящих путей, в результате чего количество образующейся желчи будет различным. В частности, значительное содержание в желчи фермента приводит к повышению процессов реабсорбции и малому желчеотделению. Физиологическим выражением этого явления будет повышение гиалуронидазной активности желчи при уменьшении холереза.

Обратное явление наблюдается при увеличении желчеотделения - гиалуронидазная активность желчи значительно снижается и это, как показали опыты с разведением желчи, собранной при малом уровне холереза, не является следствием простого разведения желчи. Разбавленная дистиллирован-

ной водой желчь, собранная при низком уровне желчеотделения, имела значительно более высокую гиалуронидазную активность, чем при естественном возрастании желчеотделения.

Серия экспериментов с изучением влияния неспецифических ингибиторов гиалуронидазы - гепарина, пипольфена и аскорбиновой кислоты на спонтанное желчеобразование показала статистически достоверное увеличение количества образующейся желчи после введения этих различных по своей структуре веществ. Общность действия можно было связать только с присутствующей способностью всем этим веществам - способностью подавлять действие гиалуронидазы. Содержание в желчи секретируемых специфических субстанций - холестерина, желчных кислот и билирубина изменялось при этом в гораздо меньшей степени. Кроме того, оказалось, что все ингибиторы гиалуронидазы значительно угнетают поступление в желчь эндогенной гиалуронидазы. Это торможение специфическое проявляется снижением гиалуронидазной активности в желчи.

Действие ингибиторов гиалуронидазы на желчеотделение сохранялось и в условиях пищевой секреции желчи. Отделение желчи на такие пищевые раздражители как мясо или молоко значительно усиливалось после введения гепарина, пипольфена или аскорбиновой кислоты. Колеретический эффект этих веществ при пищевом желчеотделении зачастую протекал без заметного увеличения или даже со снижением секреции холатов и билирубина, что свидетельствует, по нашему мнению, об угнетении процессов специфического синтеза в гепатоцитах. В опытах с пищевой секрецией желчи было показано также, что все ингибиторы способны угнетать выделение в желчь эндогенной печеночной гиалуронидазы, что проявлялось

значительным снижением гиалуронидазной активности желчи, по сравнению с контрольными опытами.

В серии острых опытов на крысах также было показано влияние неспецифических ингибиторов гиалуронидазы на желчеотделительную функцию печени. Снижение процессов реабсорбции доказывалось также значительным повышением концентрации в желчи ионов калия и жидкой фазы желчи. Секретция холатов уменьшалась на протяжении всех часов эксперимента. Гиалуронидазная активность значительно снижалась после введения всех ингибиторов. В острых опытах на крысах введение тестикулярной гиалуронидазы приводило к значительному снижению количества образующейся желчи и содержания в ней ионов калия. Подобное явление объяснимо только с позиций повышения реабсорбции в желчных протоках. Значительное повышение гиалуронидазной активности желчи после нагрузки гиалуронидазой свидетельствовало также о проникновении экзогенной гиалуронидазы в просвет желчевыносящих путей и ее способности изменять проницаемость стенки желчного дерева.

Из гистохимических исследований кислых мукополисахаридов печени в различные сроки после введения гиалуронидазы и её ингибиторов становится совершенно очевидным, что субстратом действия этих веществ является гиалуроновая кислота. Накопление гиалуронатов в стенке желчных протоков после введения ингибиторов гиалуронидазы свидетельствует в пользу снижения проницаемости последних, а следовательно уменьшения процессов реабсорбции. Наоборот, после введения гиалуронидазы количество мукополисахаридов межклеточного вещества протоков и интерцеллюлярных пространств

гепатоцитов значительно снижается, что в значительной степени способствует повышению реабсорбционных процессов. Данные гистохимических исследований подтвердили предположение об участии ферментно - тканевой системы гиалуроновая кислота - гиалуронидаза в интимных механизмах желчеотделения.

Вполне понятным является то, что остается много неясных вопросов при рассмотрении конкретных путей участия этой системы в механизмах желчеотделения. Выяснение их является задачей последующих исследований.

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, пипольфен и аскорбиновая кислота), как правило, усиливают спонтанное и пищевое желчеотделение преимущественно за счет жидкой фазы желчи.

4. Формирование секретируемых субстанций желчи (холаты, холестерин, билирубин) после введения ингибиторов гиалуронидазы тормозится. Содержание фильтруемых компонентов желчи (калий, натрий) 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 желчевыводящих 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 веществе гепатоцитов.

9. Система гиалуроновая кислота - гиалуронидаза принимает участие в интимных механизмах желчеобразования, регулируя процессы реабсорбции составных частей желчи при её прохождении по системе желчевыводящих путей.

УКАЗАТЕЛЬ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алавердян М.И. Ферментно-тканевая система гиалуронидаза-гиалуроновая кислота. Дисс. докт. мед. наук, 1961, 1, Томск.
2. Арбузова М.С. Некоторые данные о внутридольковом кровообращении в печени собаки. Сб. научн. работ Каз. мед. института, 1960, т. 10, с. 375.
3. Арбузова М.С. Некоторые новые данные о механизме продвижения крови через печень. Сб. научн. трудов Каз. мед. институт, 1964, т. 714, с. 79.
4. Бабулин В.П. Внешняя секреция пищеварительных желез. 1927, М.
5. Баев А.А. Влияние аскорбиновой кислоты и биофлаваноидов на активность гиалуронидазы (в животном организме). Биохимия, 1960, т. 25, №2, с. 328.
6. Баев А.А. (мл.) Биохимическая характеристика гиалуронидазы тканей животного организма. ДАН, серия биол., 1967, т. 172, №3, с. 720.
7. Балицкий К.П. Влияние "фактора проницаемости" на основное аргирофильное вещество. Арх. патол., 1950, т. 12, №3, с. 66.
8. Березовская Н.Н. Исследование ингибирующего действия биофлаваноидов и аскорбиновой кислоты на гиалуронидазу. Вопр. мед. химии, 1967, т. 13, вып. 2, с. 141.
9. Беэ В.А. О механизме кровообращения в печени, 1863, Киев. В кн. Беэ В.А.: Анатомические и гистологические исследования (Избр. труды), 1950, М.

10. Браунгендлер В.С. Влияние продуктов переваривания белков на ток желчи в желчном протоке. Физиол. ж. СССР, 1932, т. 15, 1/2, с. 23.
11. Бычков С.М. Гиалуроновая кислота и её физиологическое значение. Усп. совр. биол., 1948, т. 25, вып. 1, с. 1.
12. Бычков С.М. Мукополисахариды и мукопротеины и их роль в физиологии и патологии животного организма. Усп. биол. хим., 1950, т. 1, с. 456.
13. Бычков С.М. Новые данные о гликозаминогликанах (мукополисахаридах). Усп. совр. биол., 1968, т. 65, вып. 3, с. 323.
14. Виноградов В.В.
Фукс В.Б. Схема дифференциального гистохимического анализа мукополисахаридов. Изв. Сиб. отд. АН СССР, 1960, № 9, с. 168.
15. Виноградов В.В.
Фукс В.Б. Дифференциальное гистохимическое выявление мукополисахаридов. Арх. патол., 1961, т. 23, № 2, с. 74.
16. Волынский З.М. Влияние аскорбиновой кислоты на функции печени в углеводном обмене при экспериментальных её поражениях. В. кн.: Воен.-мор. мед. акад. труды, Л., 1947, т. 8, с. 70.
17. Волынский З.М. О влиянии аскорбиновой кислоты на состояние печени. Дисс. докт. мед. наук, 1947, Л.
18. Гейман Е.Я. Ферментная система гиалуронидаза - гиалуроновая кислота в физиологии и патологии животного организма. Усп. совр. биол., 1947, т. 23, вып. 3, с. 323.

19. Гейнак Л.А. Влияние стрептогиалуронидазы на секрецию желчи и химический состав. Вр.дело, 1968, №9, с.28.
20. Гинецдинский А.Г. Роль системы гиалуроновая кислота - гиалуронидаза в процессе реабсорбции воды в почечных канальцах. Иванова Л.Н. ДАН АН СССР, 1958, т.119, вып.5, с.1048.
21. Гинецдинский А.Г. Влияние ингибиторов гиалуронидазы на мочеотделение. Васильева В.Ф. Бюл.эксп. биол. и мед., 1961, т.52, №7, с.3.
22. Гинецдинский А.Г. Локализация секреции гиалуронидазы в нефроне. Васильева В.Ф. Наточин Ю.В. ДАН СССР, 1961, т.141, №2, с.502.
23. Гинецдинский А.Г. Влияние гиалуронидазы и её ингибиторов на функцию почки. Васильева В.Ф. Физиол.з. СССР, 1963, т.49, №5, с.519.
24. Гинецдинский А.Г. Физиологические механизмы водно-солевого равновесия. 1964, изд. Наука, Л., с.309.
25. Губарев Е.А. К механизму действия гистамина и антигистаминных препаратов на проницаемость гисто-гематических барьеров. Фармакол. и токсикол., 1964, т.27, №5, с.603.
26. Губарев Е.А. Изменение проницаемости гисто-гематических барьеров органов и содержание в них аскорбиновой кислоты под влиянием гистамина и антигистаминных препаратов. Фармакол. и токсикол., 1966, т.29, №5, с.562.
27. Губарь А.В. Влияние аскорбиновой кислоты на желчеобразовательную функцию печени. Бюл.эксп.биол. и мед., 1941, т.12, вып.5/6, с.307.

28. Жданов Д.А. Общая анатомия и физиология лимфатической системы. 1952, Л.
29. Запрудская З.Н. Влияние препарата гиалуроновой кислоты на регенерацию тканей. Бюлл. эксп. биол. и мед., 1953, вып. 3, №35, с. 60.
30. Зильбер Л.А. Основы иммунологии. 1958, М., с. 46.
31. Зубкова С.Р.
Диденко И.С. Система гиалуроновая кислота - гиалуронидаза и её значение в изменении проницаемости гисто-гематических барьеров. В кн.: Гисто-гематические барьеры. 1961, М., с. 57.
32. Игнатова М.С. Роль ферментной системы гиалуроновая кислота - гиалуронидаза в физиологии и патологии животного организма. Педиатрия, 1957, №1, с. 73.
33. Казначеев В.П.
Лозовой В.П. Гепарин, гистамин и система гиалуроновая кислота - гиалуронидаза. Мат. 2 плен. Сиб. фил. общ. патофизиол., 1958, Чита, с. 153.
34. Казначеев В.П. Гепарин и система гиалуроновая кислота - гиалуронидаза. Мат. 2 плен. Сиб. фил. ВСесоюзного общ. патофизиол., Чита, с. 155.
35. Каминский Л.С. Статистическая обработка лабораторных и клинических данных. 1964, Л., изд. 2-ое.
36. Карупу В.Я. О так называемых периваскулярных пространствах Диссе. Врач. дело, 1957, №1, с. 47.
37. Кисилев В.Н. Влияние рентгеновых лучей на изменения проницаемости и барьерные свойства тканей организма и роль нервной системы в этих изменениях. В кн.: Биол. действ. иониз. излучений, дозиметрия и прим. рад. вещ. с леч. целью, 1954, М., с. 5.

38. Ковалевский Н.О. О кровеносной системе печени.
Варш. съезд естествоисп. и врачей, 1876
В кн.: Тр. проф. Н.О.Ковалевского,
1860-1890, изд. Имп. Казанского
университета, 1895.
39. Ковалевский Н.О. К учению о механических услови-
ях при образовании и движении желчи.
В кн.: Тр. проф. Н.О.Ковалевского,
1860-1890, изд. Имп. Каз. ун-та,
1895.
40. Колачевский С.Н. О нервах печени.
Унив. известия, Киев, 1872, №3, с. 1.
41. Кост Е.А. Руководство по клиническим
Смирнова Л.Г. лабораторным исследованиям, осн. В.И.
Предтеченским, изд. 6-ое, 1964,
с. 222, с. 584 "Медицина"
42. Коштоянц Х.С. Об участии энзиматического
"фактора проницаемости" в явлениях
нервного возбуждения.
ДАН СССР, 1948, т. 60, №6, с. 1105.
43. Коштоянц Х.С. Белковые тела, обмен веществ и
нервная регуляция. 1951, АМН СССР, с. 60.
44. Курцин И.Т. Механорецепторы желудка и рабо-
та пищеварительного аппарата. 1952,
изд. АН СССР.
45. Лукьянов С.М. О межклеточных веществах.
Тр. У съезда врачей в память Н.И. Пи-
рогова, 1894, т. 1, с. 216.
46. Могилевский М.Ш. Влияние электролитов на вязкость
гиалуроновой кислоты.
Биохимия, 1948, вып. 13, №5, с. 417.
47. Могильницкий В.Н. Роль фактора распространения в
Шехонин В.П. процессах проницаемости кровеносных
капилляров.
В кн. Вопр. проницаемости кровенос-
ных капилляров в патологии,
1949, т. 1, с. 25, изд. АМН СССР.

48. Могильницкий В.Н. Изменение основного аргирофильного вещества в связи с нарушением проницаемости при некоторых патологических процессах. В кн. Вopr. проницаем. кровен. капилл в патологии, 1949, т.1, с.197, изд. АМН СССР, М.
49. Мхитарова Г.Б. Желчеотделение, желчевыделение и влияние минеральной воды Кармадон на эти процессы. Дисс. кан. мед. наук, 1966, Л.
50. Наточин Ю.В. Модификация вискозиметрического метода для микроопределения глутаронидазной активности в биологических жидкостях. Бюлл. эксп. биол. и мед., 1959, т. 48, №8, с.118.
51. Нестеровский М.Г. О нервах печени. Унив. извест. (Київ), 1872, №6, с.1, Цитир. по В.П. Шехоницу, 1949.
52. Петровский Ю.А. Внешняя секреция печени. 1947, Л.
53. Пронина Н.Н. Габанова И.Х. Мхитарова Г.Б. Влияние новокаина и питуитрина на секрецию желчи и желудочного сока. Матер. 14-ой конф. физиолог. Юга РСФСР, Краснодар, 1962, с.267.
54. Рапопорт С.Я. Герчикова К.А. Взаимозависимость между гликогенообразованием, желчеобразованием и дыханием печени. Сообщ.1. Влияние асфиксии на гликогенообразование и желчеобразование в печени. В кн. Труды научно-иссл. ин-та Наркомпроса, 1936, т.2, с.245.
55. Рывкина Д.Е. Изменение активности "фактора проницаемости" при действии веществ, связанных с нервным возбуждением. Биохимия, 1952, т.17, №1, с.25.

56. Руммель А.Г.
Баженова А.Ф. Методика определения содержания калия и натрия в биологических жидкостях. В кн.: Кортикостероидная регуляция водно-солевого гомеостаза, 1967, с.234, Новосибирск.
57. Сабуров Г.Е. О влиянии ваготомии на желчеотделительную функцию печени. Физиол. ж. СССР, 1961, т.47, №5, с.624.
58. Сабуров Г.Е. О нервной регуляции желчеобразовательной функции печени. 1965, дисс. докт. мед. наук, Л.
59. Саратиков А.С.
Лапик А.С. К биоэнергетике желчеобразования. Бюлл. эксп. биол. и мед., 1958, №3, с.64.
60. Саратиков А.С. Значение некоторых ферментных систем в механизме холереза. В кн.: Сб. докл. II науч. конф. физиол., биох. и фармакол. Западно-Сиб. объединения, 1961, с.129, Томск.
61. Саратиков А.С. Желчеобразование и желчегонные средства. 1962, Томск.
62. Смирнова Л.Г. Биохимические основы фактора проницаемости. Усп. совр. биол., 1947, т.1, с.302.
63. Смирнова Л.Г. Гиалуроновая кислота и гиалуронидаза и значение их в биологии и медицине. Клини. мед., 1957, т.35, №6, с.22.
64. Смирнова -Замкова А.И. О значении основного аргирофильного вещества в норме и патологии. Арх. патол., 1946, т.8, вып. 5/6, с.3.
65. Соловьев В.С. К вопросу о влиянии фенил-альфа-аланина на желчеобразовательную функцию печени. Физиол. ж. СССР, 1969, т.55, №4, с.496.

66. Спиро П.

Материалы для изучения образования желчи.

В кн.: Тр. Зап. Новороссийского об-ва естествоисп., 1880, т. 7, № 1, с. 1.

67. Стрелков Р. В.

Метод вычисления стандартной ошибки и доверительных интервалов средних арифметических величин с помощью таблицы. 1966, Сухуми, "Алашара".

68. Сушко А. А.

Есть ли лимфатические сосуды в дольки печени?

В кн.: Актуальные вопросы хирургии, 1962, с. 144, Киев.

69. Топчибаев М. В.

Гацалиев А. К.

К вопросу о желчеобразовании в печени.

Журн. теор. и практ. медицины, 1980, т. 4, кн. 1, с. 183, Баку.

70. Успенский Ю. Н.

Влияние аскорбиновой кислоты на секреторную деятельность желудочных желез и желчеобразование при кислородном голодании. Бюлл. эксп. биол. и мед., 1948, т. 26, № 3, вып. 2, с. 102.

71. Фельдман Л. В.

К вопросу о желчеотделении.

Дисс., 1915, М.

72. Фрадкин Г. Е.

О роли агрегатного состояния межклеточного вещества в проницаемости тканей и капилляров.

В кн.: Очерки по сосудистой проницаемости, 1956, М., с. 27.

73. Шехонин В. П.

Проницаемость барьерных систем организма и функции активной соединительной ткани.

В кн.: Вопр. прониц. кров. капил. в патологии, 1949, АМН СССР, М., т. 1, с. 19.

74. Шумкова

Турбина К. Г.

К морфологии печени. Казань, 1910.

75. Andrews W. Excretory function of the liver; a re -
assessment.
Lancet, 1955, 2, 166-169.
76. Aranson N.N., Lysosomal Hyaluronidase.
Davidson E.A. J. Biol. Chem., 1965, 240, 7, 3222.
77. Armstrong P.B. Function in the developing liver.
Fed. Proc., 1947, 6, 70.
78. Ashworth C.T., Anatomic pathway of bile formation.
Sanders E. Am. J. Physiol., 1960, 37, 3, 343.
79. Balazs E.A., The Amino Sugars.
Jeanloz R.W. Acad. Press., 1965, 4.
80. Barbera A.E. L'elimination de la bile dans le jeune
et apres differents genres d'aliments.
Arch. Hel. de Biologie, 1895, 23, 165.
81. Beiler J.M., Inhibitory action of Vitamin P compounds
Martin G.I. on hyaluronidase.
J. Biol. Chem., 1947, 171, 2, 507,
82. Biozzi G., Action remarquable de l'antihistaminique
Mene G., 3277 R.P. (Phenergan) sur la granulopexie
Ovary L. des petits vaisseaux.
Compt. rend. Soc. Biol., 1950, 144, 7, 503.
83. Bizard G., Cholereses et choleretiques.
Paris I. Rev. intern. hepatol., 1957, 7, 6, 437.
84. Богдан М., Взаимосвязь между выделением витамина
Груба Ф. С с желчью и его уровнем в крови и
печени. Вопр.питания, 1960, т.19, №5, с.42.
85. Богдан М., Выделение витамина С печенью крыс.
Груба Ф. Вопр.питания, 1960, т.19, №4, с.45.
86. Brann-Falco O., Zur Frage des antihyaluronidasischen
Weber G. Effektes von Antihistamin-Substanzen.
Arch. f. Dermat. u. Syph., 1952, 194, 4,
392.
87. Brauer R., Mechanics of bile secretion. Effects of
Leong G., perfusion pressure temperature on bile
Holloway R. flow and bile secretion pressure.
Amer. J. Physiol., 1954, 177, 103.
88. Brauer R., Dependence of biliary BSP excretion on
Shill O., route of administration (Hepatic artery
Krebs J. or portal vein).
Fed. Proc., 1957, 16, 284.
89. Brauer R.W. Mechanism of bile secretion.
J. Amer. med. ass., 1959, 169, 13, 1462.

90. Brauer R.W. Liver circulation, liver function, and liver integrity.
Transactions a. Studies College Physicians Philadelphia, 1961, 29, 2, 49.
91. Brauer R.W. Hepatic blood supply and the secretion of bile.
In: The biliary system, edited par W.Taylor, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1965,
92. Braunsteiner H.,
Fellinger K.,
Pakesch F. Ergebnisse und Probleme histologischer Untersuchungen in Elektronmikroskop.
Klin. Wschr., 1953, 31, 357.
93. Brokaw R.,
Penrod K. Bromsulphalein removal rates during hypothermia in the dog.
Am. J. Physiol., 1949, 159, 365.
94. Chain E.,
Duthie E.S. Identity of hyaluronidase and spreading factor.
Brit. J. Exp. Pathol., 1940, 21, 324.
95. Chapman N. a.oth. Studies in isolated organ physiology: bromsulphalein clearance in the isolated perfused bovine liver.
Surgery, 1960, 48, 111.
96. Chendorovitch J.,
Phocas E.C.,
Rautureau M. Notions classiques et experiences nouvelles sur la cholereuse.
Rev. med.-chir. malad. foie, 1963, 1, 29.
97. Chendorovitch J. Le role des voies biliaires dans les mecanismes de la cholereuse.
Rev. Med. Chir. Mal. Foie, 1966, 4, 155.
98. Chendorovitch J. Stop-flow analysis of bile secretion.
Amer. J. Physiol., 1968, 214, 1, 86.
99. Claude A.,
Duran-Reynals F. On the existence of a factor increasing tissue permeability in organs other than testicle.
J. Exp. Med., 1934, 60, 457.
100. Coltorti M.,
Ovari L.,
Rossi-Espagnet A. Absence d'action des antihistaminiques de Syntese sur l'effect diffuseur de l'hyaluronidase.
Compt. rend. Acad. Sci., 1951, 232, 12, 1266.
101. Cook D.,
Hambourger W.,
Green D. Studies on mechanism of bile formation.
Fed. Proc., 1951, 10, 28.
102. Cook D. a. oth. Mechanism of bile formation.
Amer. J. Physiol., 1952, 171, 62.
103. Dalgaard-Mikkelsen S.,
Klorning S.A. Viscosimetric estimation of hyaluronidase (hyaluronic acid preparations).
Acta Pharm. Toxic., 1948, 4/2, 169.

104. Daubeumerke W. Viscosimetrie method for comparing the activities of hyaluronidase and Strandorol. Acta Pharm. et toxicol., 1956, 12, 1, 65.
105. Daubeumerkel W. Viscosimetrie method for comparing the activities of hyaluronidase and Strandarol. Acta Pharm. et toxicol., 1957, 13, 1, 1.
106. Day T. The nature of the spreading effects occasional by hyaluronidase in subcutaneous connective tissue. Brit.J. Exptl. Pathol., 1957, 38, 326.
107. Disse J. Über die Lymphbahnen der Säugetierlunge. Arch. mikr. Anat., 1890, 36, 203.
108. Duesberg J.R. Absence d'inhibition de l'effect de la diffusion de la hyaluronidase par le phenergen. Arch. intern. Pharmacodyn., 1952, 92, 1, 39.
109. Duran-Reynals F. Exaltation de l'activite du Virus vaccinal par les extrait de certains organes. C. R. Soc. Biol., 1928, 99, 6.
110. Duran-Reynals F. Les "facteurs de 'diffusion" et leur Significations. Ann. Inst. Pasteur, 1936, 57, 597.
111. Duran-Reynals F. A general permeability increasing effect of a factor from mammalian testicle on blood capillaries. Yale J. Biol. a. Med., 1938-39, 11, 602.
112. Edlünd V.,
Hanzon V. Demonstration of the close relationship between bile capillaries and sinusoid walls. Acta anat., 1953, 17, 105.
113. Elias H. A Re-examination of the Structure of the mammalian liver. Amer. J. Anat., 1949, 84, 311.
114. Elias H. A re-examination of the Structure of the mammalian liver. II. The hepatic lobule and its relation to the vascular and biliary systems. Amer. J. Anat., 1949a, 85, 379.
115. Elias H.,
Sokol A. Dependence of the lobular architecture of the liver on the porto-hepatic blood pressure gradients. Anat. Record., 1953, 115, 71.
116. Elias H. Segments of the liver. Surgery, 1954, 36, 950.
117. Elias H.,
Cohen T. Geometrical analysis of inclusion in rat liver cells asseen in electromicrograms. Lellf., 1955, 41, 407.

118. Elstner S.K.,
Freeman M.E.,
Lowry E.L. The action of tripeleminamine on hyaluronidase in the albino rat.
J. Pharmacol. a. exper. Ther., 1949, 96,
3, 332.
119. Eppinger H. Die Leberkrankheiten. Springer. Wien. 1937.
120. Erlinger S. Les mecanismes de la secretion biliaire.
Rev. d'Hepatology, 1968, 1, 18, 1.
121. Favilli Y. Effects of natural and Artificial spreading Factor.
Nature, 1940, 145, 866.
122. Fawcett H D.W. Cytological observation on liver with the electron microscope.
Anat. Rev., 1954, 118, 422.
123. Фишер А. Физиология и экспериментальная патология печени, Будапешт, 1961.
124. Forsgren E. Anatomical qualities of liver during various stages of its functional activities.
J. Morphol., 1929, 47, 519.
125. Forsgren E. Vierundzwanzig-stunden-variationen der Gallensecretion.
Skand. Arch. Physiol., 1930, 59, 217.
126. Gossel L. Elektronen mikroskopische Untersuchungen zur Ultrastruktur der menschlichen Leber.
Habil. Schrift, Leipzig, 1960.
127. Gossel L. Beitrag zur submikroskopischen Morphologie des Stoffaustausches und intrazellulären Stofftransportes in der Leber.
Acta hepato-splenol., Stuttgart, 1961, 8, 264.
128. Gossel L. Über den submikroskopischen Zusammenhang der interzellulären Räume und Sinusoide in der Leber.
Ztschr. Zellforsch., 1962, 58, 76.
129. Gossel L. Über neue, durch die Elektronenmikroskopie gewonnene morphologische. Grundlagen zur Physiologie und Pathologie der Leber.
Ztschr., arzte Fortbild., 1963, 19, 1082.
130. Gould B.S.,
Wassner J.F. Biosynthesis of collagen. The influence of ascorbic acid on the proline, hydroxyproline, glycine and collagen content of regenerating guinea pig skin.
J. Biol. Chem., 1957, 226, 1, 289.
131. Grossfield H. Production of hyaluronic acid in tissue culture by fibroblast growing from intestinal, stomach, liver and kidney explants.
Proc. soc. exp. biol., 1957, 96, 144.

132. Grossfeld H. Studies on production of hyaluronic acid in tissue culture; the presence of hyaluronidase in embryo extract.
Exp. cell. res., 1958, 14, 2, 213.
133. Greif St.,
Wennig F. Hyaluronidase und Antihyaluronidase als Permeabilitäts faktoren.
Wien. Med. Wschr., 1953, 103, 19/20, 353.
134. Hadberg H.,
Moritz Y. Biosynthesis of hyaluronic acid in tissue cultures of human sinovial membrane.
Proc. Soc. exp. Biol., 1958, 98, 1, 84.
135. Hadidian L.,
Murphy M.,
Mahler I.R. Studies of inhibitors of bacterial and other hyaluronidases. II. Heparin and other nonspecific inhibitors.
J. Bact., 1957, 73, 4, 491.
136. Halpern B.N.,
Ducrot R. Recherches Experimentales sur une nouvelle serie chimique de corps doues de proprietes antihistaminiques puissantes: les derives de la thiodiphihylamine.
Compt. rend. Soc. Biol., 1946, 140, 11-12, 361.
137. Hampton J.C. An electron microscope study of the hepatic uptake and excretion of submicroscopic particles injected into the blood stream and into the bile duct.
Acta Anat., 1958, 32, 362.
138. Hanzon V. Liver cell secretion under normal and pathologic conditions studies by fluorescence microscopy on living rats.
Acta Physiol. Scand., 1952, 101, 1.
139. Haywood C. The passage of inulin through the liver of the Toadfish, with and without choleretics.
J. cell. comp. Physiol., 1946, 28, 381.
140. Höber R. Studies concerning the nature of the secretory activity of the isolated Ringer-perfused frog liver.
J. Gen. Physiol., 1939, 23, 185.
141. Höber R.,
Moore E. Studies concerning the nature of the secretory activity of the isolated Ringer-perfused frog liver.
II. The inhibitory and the promoting influence of organic electrolytes and non-electrolytes upon the secretion of dyes-tuffs.
J. Gen. Physiol., 1939, 23, 191.
142. Hyman C.,
Chambers Effect of adrenal cortical compounds on edema formation of frogs hind limbs.
Endocrinology, 1943, 32, 4, 310.
143. Jan K. Current views on the microscopic structure

- of the liver.
Acta med. polona, 1967, 7, 2, 185.
144. Jeanloz R. Recherches recentes sur la chimie des polyosides complexes contenant des sucres amines.
Bull. Soc. Chim. Biol., 1960, 42, 303.
145. Kelentel B. Studies of the haematoencephalic barrier; IV. The role of the sympathetic nervous system in the passage of antibiotics through the blood brain cerebrospinal-fluid barrier.
Acta physiol. Acad. Sci. Hungary, 1955, 8, 2, 165.
146. Kjellgren K. Biliary secretion of relation to the liver temperature and the blood pressure.
Acta. Soc. Med. Upsaliensis, 1955, 3/4, 172.
147. Knisely M.H., Bloch E.H., Warner L. Selective phagocytosis. I. Microscopic observations concerning the regulation of the blood flow through the liver and other organs and the mechanism and rate of phagocytic removal of particles from the blood.
Biol. Strifter, Copenhagen, 1948, 4, 7.
148. Kondo Sh. Morphological studies on the mechanism of bile secretion. I. Functional morphology of the secretory granule and Golgi apparatus.
Med. J. Osaka Univer., 1960, 11, 3, 279.
149. Kuudsen P.I., Koefoed I. Viscometric determination of hyaluronidase activity in biological fluids.
Scand. J. Clin. a. Labor. Investig., 1961, 13, 4, 673.
150. Kupfer C. Ueber Sternzellen der Leber.
Arch. Mikr. Anat., 1876, 12, 353.
151. Kupffer C. Über die sogenannten Sternzellen der Säugetierleber.
Arch. mikr. Anat., 1890, 54, 254.
152. La Manna S. Über die sogenannte Cholangitis lenta.
Virchows Arch. Path. Anat., 1936, 298, 515.
153. Laurent T. a.oth. The Interaction between Polysaccharides and other Macromolecules.
Biochem. J. 1963, 89, 249.
154. Laurent T., Persson H. The Interaction between polysaccharides and other macromolecules. VII. The Effect of various polymers on the sedimentation rates of serum albumin and I-crystallin.
Biochem. et Biophys. acta, 1964, 83, 141.

155. Lee F.C. On the lymph vessels of the liver.
Contrib. Embryol., 1925, 74, 65.
156. Levis A.E. The concept of hepatic clearance.
Am. J. clin. path., 1948, 18, 789.
157. Lotmar R. Hyaluronidase-Hemmung durch Phenylbutazon,
Prednisolon, Adrenalin und natürliche
Moorsubstanzen.
Ztschr. Rheumatoforsch., 1960, 19, 1/2, 1.
158. Madinaveitia J., Quibell T. Studies on deffusing factors. The action
of testicular extracts on the viscosity
of vitreous humour preparations.
J. Biochem., 1940, 34, 625.
159. Madinaveitia J., Quibell R. Substracts for hyaluronidase.
Biochem. J., 1940, 38, 5, 413.
160. Madinaveitia J., Studies on diffusing Factors. Active pre-
parations from mammalian testicle and
their biological assau.
Bioch. J., 1938, 32, 1806.
161. Mann T., Lutwak-Mann C. Non-oxidative enzymes.
Ann. Rev. Biochem., 1944, 13, 25.
162. Mallory F.B. Pathological Technique, Philadelphia,
Saunders, 1938.
163. Martin G., Mapren T. Биохимия биофлаваноидов.
В кн.: Биофлаваноиды и проницаемость
капилляров. М., 1957, с.23.
164. Mc Clean D. A factor in culture filtrates of certain
pathogenic bacteria which increases the
permeability of the tissues.
J. Path. Bacter., 1936, 42, 447.
165. Mc Clean D. The in vivo decapsulation of streptococci
by hyaluronidase.
J. Path. Bacter., 1942, 54, 284.
166. Mc Clean D. Methods of assay of hyaluronidase and
their correlation with skin diffusing
activity.
Biochem J., 1943, 37, 169,.
167. Mc Clean D., Hale C. Studies on diffusing factors. The hyalu-
ronidase activity of testicular extracts,
bacterial culture filtrats and other a
agents that increase permeability.
Biochem. J., 1944, 35, 159.
168. Mc Clean., Rowlands J. Role of hyaluronidase in fertilisation.
Nature, 1942, 150, 627.
169. Mc Guske R.S. A dynamic and Static Study of hepatic
arterioles and hepatic sphincters.
Am. J. Anat., 1966, 119, 3, 455.

170. Mac Gillavry T.H. Zur Anatomie der Leber.S
Sitzungsb. Akad. Wiss. Math. Naturw., cl.
Wien., 1864, 1.
171. Mc Manus J.F.A. Histological and Histochemical Uses of
Periodic Acid, Stain Technol., 1948, 23, 99.
172. Meyer K., Vitreous humour polysaccharide.
Palmer Y. J. Biol. Chem., 1934, 107, 629.
173. Meyer K., Isolation of mucopolysaccharide from
Smyth E., synovial fluid.
Dawson M. J. Biol. Chem., 1939, 128, 319.
174. Meyer K. a. oth. Hyaluronidases of bacterial and animal
origin.
J. Exp. Med., 1941, 73, 309.
175. Meyer K., The mucopolysaccharides of skin.
Chaffee E. J. Biol. Chem., 1941, 138, 491.
176. Meyer K. The Biological Significance of Hyaluronic
Acid and Hyaluronidase.
Physiol. Rev., 1947, 27, 3, 335.
177. Mejer R., Über die Bedeutung der Nebennieren und der
Gross F., Nebennierenzindersteroiden für den Ablauf
Dessaules K. entzündlicher Reaktionen.
Klin. Wschr., 1951, 39/40, 653.
178. Meyer K. Gold. Spr. Harb. Symp. quant. Biol., 1938,
6, 91.
179. Meyer K., Hydrolysis of polysaccharide acid of
Dubous R., vitreous humour of umbilical cord and strep-
Smyth E. tococcus by autolytic enzyme of pneumo-
coccus.
J. Biol. Chem., 1937, 118, 71.
180. Myers J.D., An estimation of portal venous pressure
Taylor W.J. by occlusive catheterization of an hepatic
venule.
J. Clin. Invesig., 1951, 30, 662.
181. Morton T.H. An acidophil lining in bile capillaries.
Anat. Rec., 1939, 73, 359.
182. Mosbach E.H., Tracer studies of glucuronic acid biosyn-
thesis.
King C.G. J. Biol. Chem., 1950, 185, 491.
183. Moynahan E.J., Failure of antihistamine drugs to inhibit
Watson D. hyaluronidase in vitro.
Nature, 1949, 163, 4135, 173.
184. Murakami O. Influence of ascorbinic acid upon liver
function and mutual relation between Vita-
mins B and C; influence of ascorbinic
acid upon pigment excreting function of
liver.
Jap. J. Gastroenterol., 1939, 11, 1.

185. Müller H. Kolloidchemische untersuchungen zur Eisen hydroxydsolreaction.
Act. Histochem., 1964, 17, 1/4, 61.
186. Münch O. Methoden der histochemischen Differenzierung saurer Mukopolysaccharide.
Ztschr. f. med. Labortechnik., 1965, 6, 4, 201.
187. Nakata K.,
Leong G.F.,
Brauer R.W. Direct Measurment of Blood Pressures in the Minute vessels at the Liver.
Am.J. Physiol., 1961, 200, 1181.
188. Ohkita H. a. oth. Medical J. of Osaka Univ., 1961, 12, 1/2, 75.
189. Okada S. The humoro-neural regulation of gastric, pancreatic and biliary Secretion.
Refr. Berichte Physiol., 1929, 48, 75.
190. Opsahl J.C. The influence of hormones from the adrenal cortex on the dermal spread of india ink with and without hyaluronidase: preliminary report.
Yale J. Biol. a. Med., 1949, 21, 1, 255.
191. Palade G.E. Fine structure of mitochondria.
Anat. Rec., 1952, 52, 114, 427.
192. Pavel I.,
Teitel-Bernard A. Morphologie et relation du canalicule biliaire.
Sem. Hop. Paris, 1948, 24, 2679.
193. Pearse A.G.E. Гистохимия теоретическая и прикладная, 1962, изд-во И.Л., Москва.
194. Пири А. и Р. ван-Гейнингген. Биохимия глаза. Пер. с англ., М., 1968.
195. Popper H.L.a.oth. Bile secretion and blood supply of the liver.
Am.J. Physiol., 1955, 181, 435.
196. Popper H.,
Schaffner F. Die Leber, Struktur und Funktion.
Stuttgart, Thieme, 1961, XVI, 837.
197. Preston,
Davies M.,
Ogston A. The Composition and Physicochemical Properties of Hyaluronic Acids prepared from Ox Synovial Fluid and from a lase of Mesothelioma.
Biochem. J. 1965, 96, 449.
198. Reppert E.,
Donegan J.,
Hines L.E. Ascorbinic Acid and Hyaluronidase in Hyaluronic Acid Reaction.
Proc. Soc. Exp. Biol., 1951, 77, 2, 318.
199. Русняк И. и др. Физиология и патология лимфообращения. Бухарест, 1957.
200. Roniller G. Les canalicules Biliaires. Etude an microscope electronique.
C.R. Soc. Biol., Paris, 1954, 148, 2008.

201. Roniller C. Les canalicules biliares. Etude au microscope electronique.
Acta Anatomica, 1956, 26, 94.
202. Saudson J. a.oth. Isolation of hyaluronsteoprotein from human synovial fluid.
J. Clin. Invest., 1962, 41, 1817.
203. Schaffner F. Morphologic studies on bile secretion.
Am. J. digest. dis., 1965, 10, 2, 99.
204. Schanker L.S.,
Hogben C.A.M. Biliary secretion of inulin, Sucrose and mannitol; analysis of bile formation.
Am. J. Physiol., 1961, 200, 1087.
205. Seifter J.,
Baeder D.H.,
Dervini S. Alteration in Permeability of Some Membranes by Hyaluronidase and Inhibition of this Effect by Steroides.
Proc. Soc. Exp. Biol., 1949, 72, 1, 136.
206. Smahel O. The Relation of hyaluronidase, histamine and antihistamines drugs.
Acta allergol., 1960, VII, 497.
207. Sperber J. Secretion of organic anions in the formation of urine and bile.
Pharmacol. Rev., 1959, 11 (1), 109.
208. Starling E.H. The influence of mechanical factors on lymph production.
J. Physiol., 1894, 16, 224.
209. Steiner J.W.
a. oth. Some aspects of the ultra-structural pathology of the liver.
In: Progress in liver diseases Vol.2., edite par H. Popper et F. Schaffner Grune and Stratton.
New-York et Londres, 1965.
210. Takeuchi J.
a. oth. Autoregulation of hepatic circulation.
Jap. Heart J., 1966, 7, 2, 168.
211. Topper Y.I.,
Lipton M.M. The biosynthesis of a streptococcal capsular polysaccharide.
J. Biol. chem., 1953, 203, 135.
212. Swyer G.I.M. Antihistamine effect of sodium salicylate and its bearing upon the skin diffusing activity of hyaluronidase.
Biochem. J., 1948, 42, 1, 28.
213. Vanlerenberghe J. Etude de l'intervention de quelques facteurs enzymatiques dans la cholereuse.
These de Doctorates Sciences, Lille, 1959.
214. Vanlerenberghe J.,
Guerrin F.,
Robelet A.,
Milbled G. Essai de composés choleretiques chez le Rat. Modes d'expression de la reponse secretoire.
C. r. Soc. Biol., 1960, 154.

215. Velican C. Problems d'interpretation microscopique
dans l'histochemie des glucides.
Ann. histochem., 1966, 11, 1, 87.
216. Wassermann F. The structure of the wall of the hepatic
sinusoids in the electron microscope.
L. Leßforsch., 1958, 49, 13.
217. Wheeler H.O., Determinants of the flow and composition
Ramos O.L. of bile in the unanesthetized dog during
constant infusions of sodium taurocholate.
J. Clin. Investig., 1960, 39, 1, 161.
218. Wheeler H.O. Electrolyte transport and bile formation.
Med. Clin. North. Am., 1963, 47, 3, 607.
219. Wood R.L. Evidence of species differences in the
ultrastructure of the hepatic sinusoid.
Ztsch. f. Leßforsch. u. mikroskop. Anat.,
1963, 58, 5, 679.

Приложение 1.

Изменение содержания гликогена в
гепатоцитах после внутрибрюшинного введения
гепарина (1 000 ЕД/кг веса).

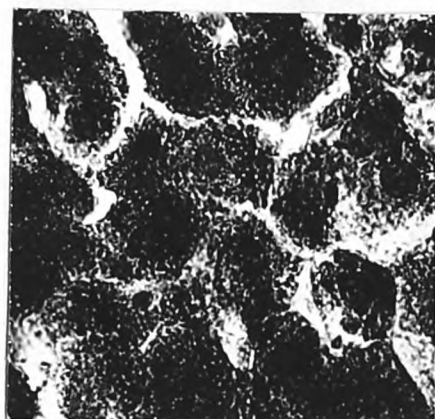


Фото 1

Стадия опыта 1 час,
накопление гликогена в
гепатоцитах.

Фиксация: жидкость Пейса-
ховича.

Окраска: периодат - Шифф
реакция.

Увеличение: об. 90; ок. 7.

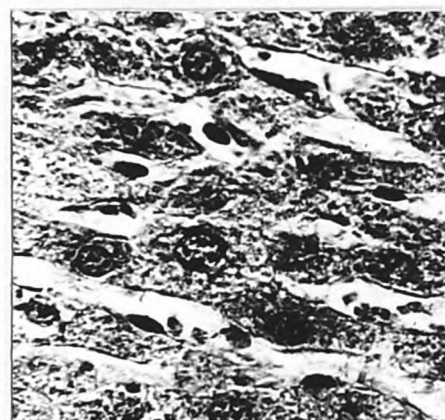


Фото 2

Внутрибрюшинное вве-
дение 0,9% хлористого
натрия (контрольная серия)
стадия опыта 1 час.

Распределение гликогена в
гепатоцитах.

Фиксация: жидкость Пейса-
ховича.

Окраска: периодат - Шифф
реакция.

Увеличение: об. 90; ок. 7.

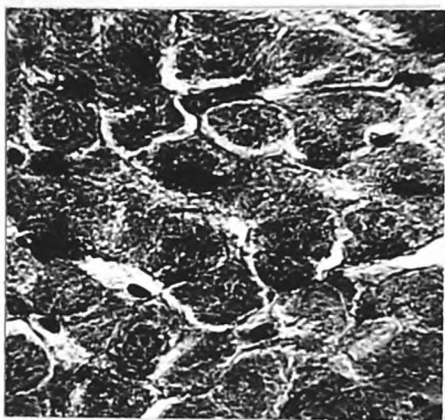


Фото 3

Введение гепарина,
стадия опыта 1 час. Пред-
варительная обработка среза
диастазой.

Фиксация: жидкость Пейса-
ховича.

Окраска: периодат - Шифф
реакция.

Увеличение: об. 90; ок. 7.

Приложение П.

Изменение содержания РНП в гепатоци-
тах после внутрибрюшинного введения гепарина
(1 000 ЕД/кг веса).

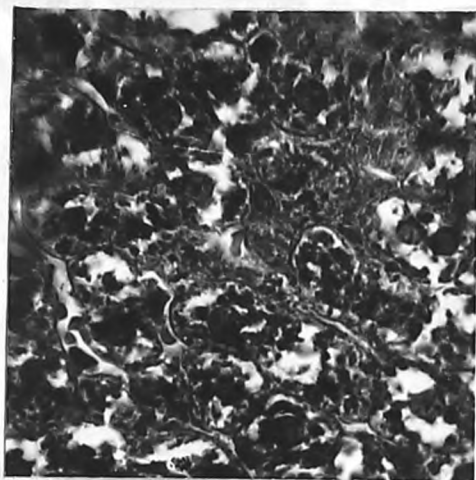


Фото 1

Стадия опыта 1 час,
незначительное содержа-
ние гранул РНП в гепа-
тоцитах.

Фиксация: жидкость
Карнуа.

Окраска: метиловый зеле-
ный - пиронин
по Браше.

Увеличение: об. 90, ок. 10

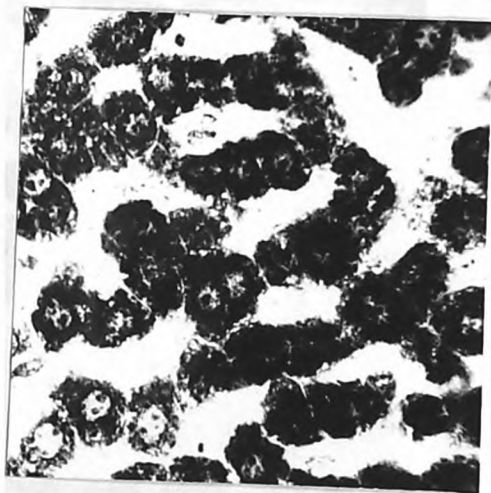


Фото 2

Внутрибрюшинное вве-
дение 0,9% хлористого
натрия (контрольная се-
рия), стадия опыта 1 час
Распределение РНП в ге-
патоцитах.

Фиксация: жидкость
Карнуа.

Окраска: метиловый
зеленый - пиронин по
Браше.

Увеличение: об. 90, ок. 10

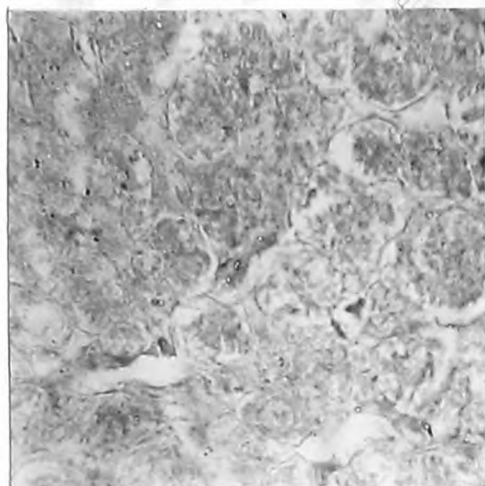


Фото 3

Введение гепарина,
стадия опыта 1 час.

Предварительная обработ-
ка среза лизоцимизирован-
ной рибонуклеазой.

Фиксация: жидкость Карнуа

Окраска: метиловый зеленый
-пиронин по Браше.

Увеличение: об. 90, ок. 10.

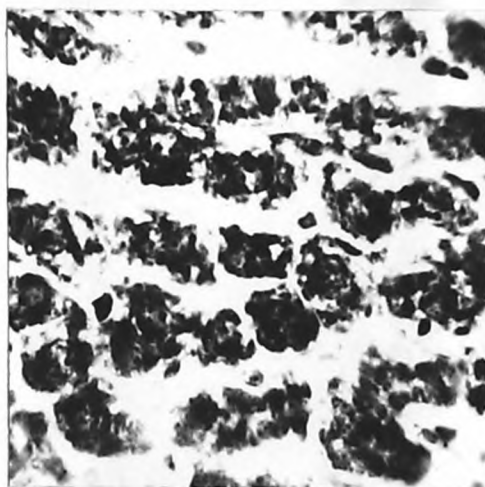


Фото 4

Введение гепарина,
стадия опыта 2 часа.

Секреторные гранулы и
зерна Берга в цитоплазме
гепатоцитов.

Фиксация: жидкость Карнуа.

Окраска: метиловый зеле-
ный-пиронин по Браше.

Увеличение: об. 90, ок. 10.

Приложение III.

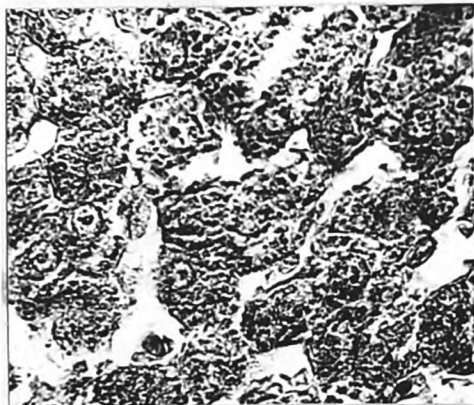
1. 1940 г.
в 1-й половине года
в 2-й половине года
в 3-й половине года
в 4-й половине года
в 5-й половине года
в 6-й половине года
в 7-й половине года
в 8-й половине года
в 9-й половине года
в 10-й половине года
в 11-й половине года
в 12-й половине года

2. 1941 г.
в 1-й половине года
в 2-й половине года
в 3-й половине года
в 4-й половине года
в 5-й половине года
в 6-й половине года
в 7-й половине года
в 8-й половине года
в 9-й половине года
в 10-й половине года
в 11-й половине года
в 12-й половине года

3. 1942 г.
в 1-й половине года
в 2-й половине года
в 3-й половине года
в 4-й половине года
в 5-й половине года
в 6-й половине года
в 7-й половине года
в 8-й половине года
в 9-й половине года
в 10-й половине года
в 11-й половине года
в 12-й половине года

Распределение гиалуроновой кислоты в гепатоцитах, межклеточных пространствах и желчных протоках после внутрибрюшинного введения гепарина (1 000 ЕД/кг веса).

Фото 1



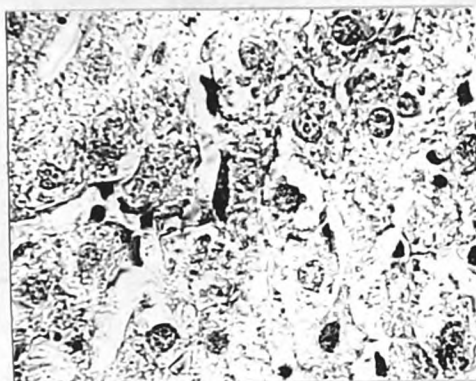
Стадия опыта 1 час, распределение гиалуроновой кислоты в гепатоцитах и межклеточных пространствах.

Фиксация: 4%-ый раствор основного уксуснокислого свинца (ОУС) на 8% р-ре формалина.

Окраска: реакция связывания коллоидального железа по Хейлу в модификации Мюллера.

Увеличение: об. 90, ок. 7.

Фото 2



Стадия опыта 1 час, ферментирование среза тестикулярной гиалуронидазой.

Фиксация: 4% р-р ОУС на 8% р-ре формалина.

Окраска: связывание коллоидального железа по Хейлу в модификации Мюллера.

Увеличение: об. 90; ок. 7.

Фото 3



Введение гепарина, стадия опыта 2 часа.

Накопление хромотропных субстратов (а) в просвете мелких желчных протоков.

Фиксация: жидкость Карнуа.

Окраска: толуидиновый синий при $\text{pH}=4,6$.

Увеличение: об. 90, ок. 7.

Приложение 17.

**Изменение содержания гликогена в
печеночных клетках и желчных протоках
после внутрибрюшинного введения аскорби-
новой кислоты (54 мг/кг веса).**

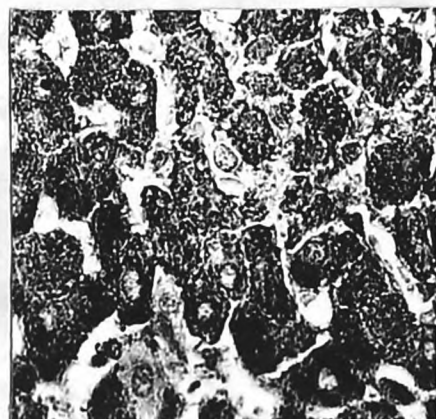


Фото 1.

Стадия опыта 30 м
минут. Накопление гликогена
в гепатоцитах, переход пе-
ченочных клеток в ассимиля-
торную фазу.

Фиксация: жидкость Пейсахо-
вича.

Окраска: периодат -Шифф
реакция.

Увеличение: об. 90, ок. 10.

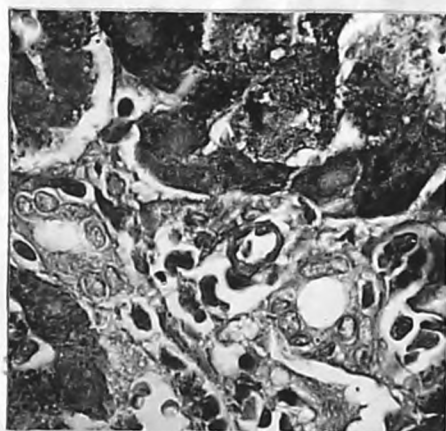


Фото 2.

Стадия опыта
2 часа.

Распределение гликогена в
печеночных клетках.

Фиксация: жидкость Пейса-
ховича.

Окраска: периодат Шифф-реа-
кция в модификации
Мак Мануса.

Увеличение: об. 90, ок. 10.



Фото 3.

Стадия опыта
1 час.

Распределение несп-цифиче-
ского субстрата (а) в эпи-
телии стенки желчного про-
тока.

Фиксация: жидкость Пейсахо-
вича.

Окраска: периодат -Шифф
реакция.

Увеличение: об. 90, ок. 10.

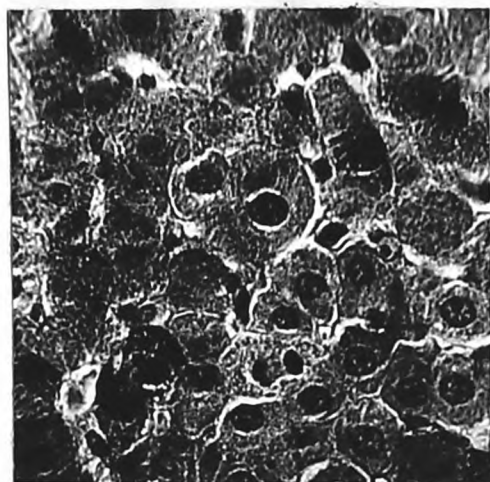


Фото 4.

Стадия опыта 2 часа.
Отсутствие гранул гликогена в эпителиальной выстилке крупных желчных протоков (а) и их ветвей.

Фиксация: жидкость
Пейсаховича.

Окраска: периодат -
Шифф реакция.

Увеличение: об. 90, ок. 10

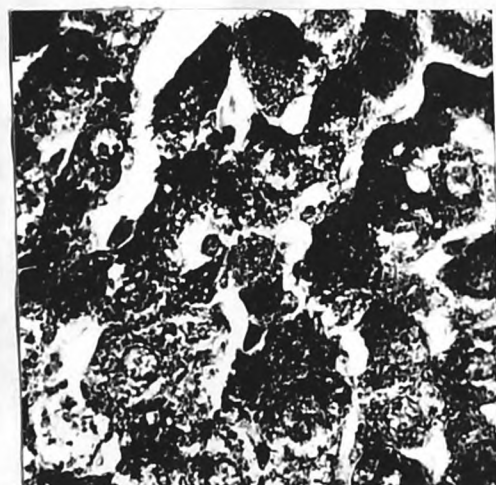


Фото 5.

Стадия опыта 4 часа.
Восстановление содержания гликогена в гепатоцитах и исходному уровню.

Фиксация: жидкость
Пейсаховича.

Окраска: периодат -
Шифф реакция.

Увеличение: об. 90, ок. 10

Приложение У.

1. 0000
2. 0000
3. 0000
4. 0000
5. 0000
6. 0000
7. 0000
8. 0000
9. 0000
10. 0000

1. 0000
2. 0000
3. 0000
4. 0000
5. 0000
6. 0000
7. 0000
8. 0000
9. 0000
10. 0000

Изменение содержания РНП в гепатоцитах
после внутривенного введения аскорбиновой
кислоты (54 мг/кг веса).

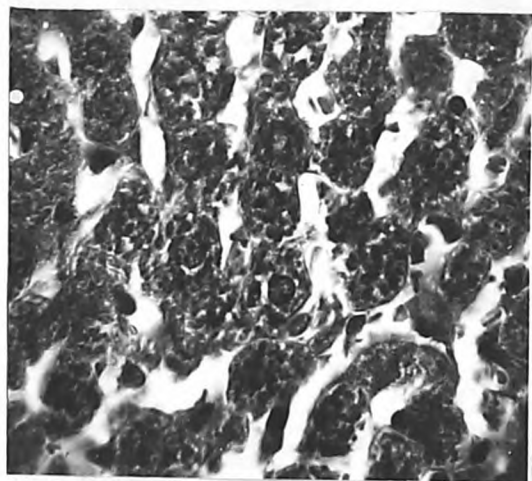


Фото 1.

Стадия опыта 30 мин.
Незначительное содержа-
ние гранул РНП в гепато-
цитах.

Фиксация: жидкость Кар-
нуа.

Окраска: метиловый зеле-
ный -пиронин по Браше.

Увеличение: об. 90, ок. 10.

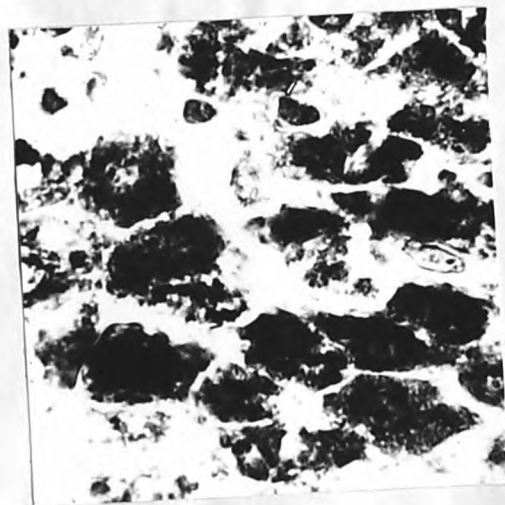


Фото 2.

Стадия опыта 1 час.

Секреторные гранулы и зер-
на Берга в цитоплазме пе-
ченочных клеток.

Фиксация: жидкость
Карнуа.

Окраска: метиловый зеле-
ный -пиронин по Браше.

Увеличение: об. 90, ок. 10.

Приложение У1.

Динамика содержания хромотропных субстратов в цитоплазме гепатоцитов и межклеточных пространствах под воздействием аскорбиновой кислоты (54 мг/кг веса).

Фото 1.



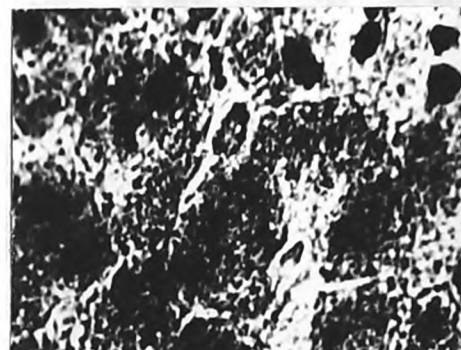
Стадия опыта 30 мин.
Накопление гранул метакро-
матического субстрата в цитоплазме гепа-
тоцитов. Межклеточные
щели блокированы гиалу-
роновой кислотой.

Фиксация: жидкость
Карнуа.

Окраска: толуидиновый
синий при $\text{pH} =$
4,6.

Увеличение: об. 90, ок. 10.

Фото 2.

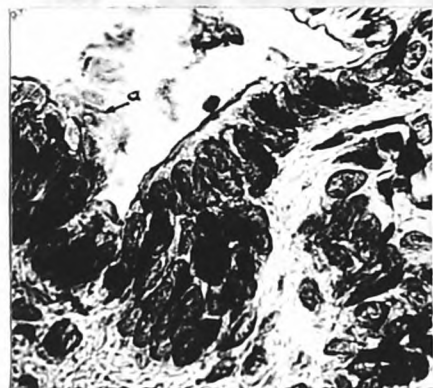


Стадия опыта 1 час.
Уменьшение гранул метакро-
матического субстрата в
цитоплазме гепатоцитов.
Снижение количества гиалу-
роновой кислоты в меж-
клеточных щелях.

Фиксация: жидкость Карнуа.
Окраска: толуид.синий при
 $\text{pH} = 4,6$

Увеличение: об. 90, ок. 10.

Фото 3.



Стадия опыта 1 час.
Хромотропный субстрат в
просвете крупного жел-
чного протока. Формирова-
ние каймы метакромати-
ческого субстрата по
поверхности эпителиальной
выстилки (а).

Фиксация: жидкость Карнуа
Окраска: толуид.синий при
 $\text{pH} = 4,6$

Увеличение: об. 90, ок. 10.

Приложение УП.

Динамика содержания Хейл-веществ
в стенке желчных протоков после введения
аскорбиновой кислоты (54 мг/кг веса).

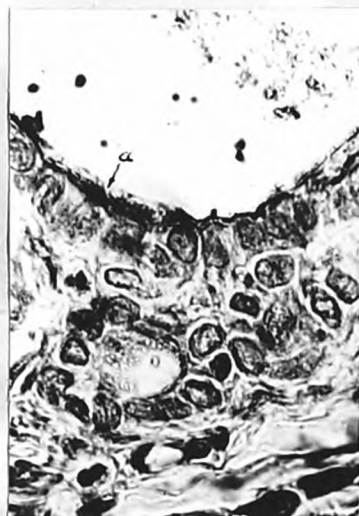


Фото 1.

Стадия опыта

15 минут.

Формирование Хейл-
позитивной каймы по
поверхности эпителиа-
льной выстилки (а)
общего желчного про-
тока.

Фиксация: 4% ОУС на 8%
р-ре формалина.

Окраска: связывание кол-
лоидального желе-
за по Хейлу в
модификации Мюл-
лера.

Увеличение: об. 90, ок. 7.



Фото 2.

Стадия опыта 2 часа.
Накопление Хейл-позитивного субстрата в
эпителии (а) и прос-
ветах (б) желчных
протоков.

Фиксация: 4% ОУС на
8% р-ре формалина

Окраска: связывание
коллоидального
железа по Хейлу в
модификации Мюллера

Увеличение: об. 90, ок. 7.

Приложение УШ.

Изменение содержания гликогена в цитоплазме печеночных клеток после внутрибрюшинного введения пипольфена (50 мг/кг веса).

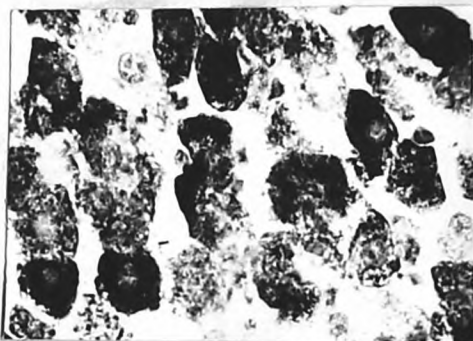


Фото 1.

Стадия опыта 30 мин.
Накопление гранул гликогена в цитоплазме гепатоцитов.

Фиксация: жидкость Пейсаховича.

Окраска: периодат-Шифф реакция.

Увеличение: об. 90, ок. 7.

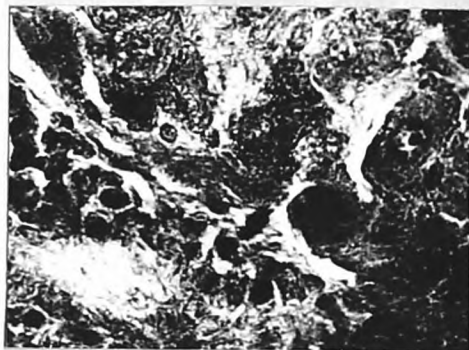


Фото 2.

Стадия опыта 1 час.
Уменьшение содержания гликогена в гепатоцитах.

Фиксация: жидкость Пейсаховича.

Окраска: периодат-Шифф реакция.

Увеличение: об. 90, ок. 7.

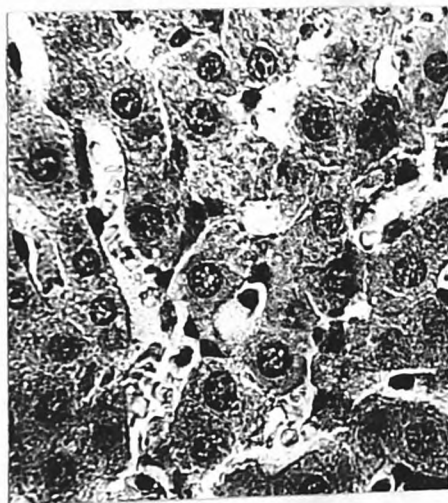


Фото 3.

Стадия опыта 2 ч
са. Снижение синтетической активности гепатоцитов. Отсутствует гранул гликогена в печеночных клетках.

Фиксация: жидкость
Пейсаховича

Окраска: периодат-
Шифф-реакция

Увеличение: об. 90, ок. 7

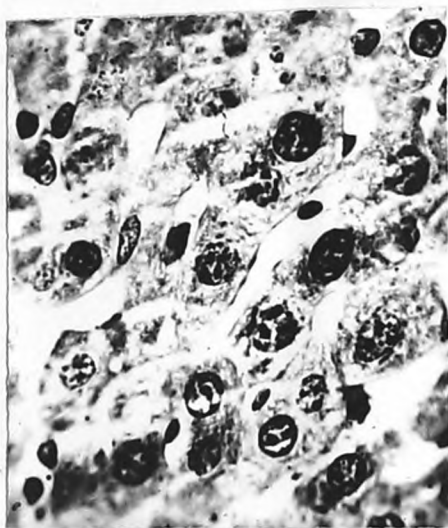


Фото 4.

Стадия опыта 5 час
Стабильное угнетение синтетической деятельности гепатоцитов, отсутствие гранул гликогена в их цитоплазме

Фиксация: жидкость
Пейсаховича

Окраска: периодат-
Шифф-реакция

Увеличение: об. 90, ок. 7

Приложение 1X.

Изменение в содержании РНП в гепатоцитах
под влиянием пипольфена (50 мг/кг).

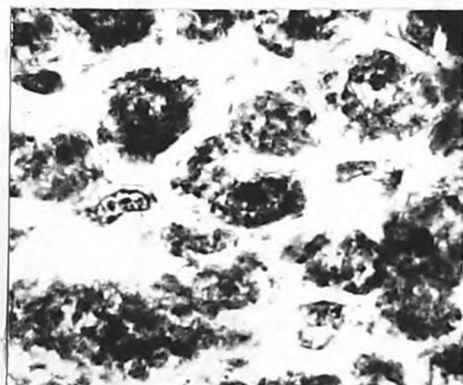


Фото 1.

Стадия опыта 30
минут.

Незначительное содержание
гранул РНП в гепатоцитах.

Фиксация: жидкость Карнуа.
Окраска: метиловый зеле-
ный-пиронин по Браше.

Увеличение: об. 90, ок. 7.

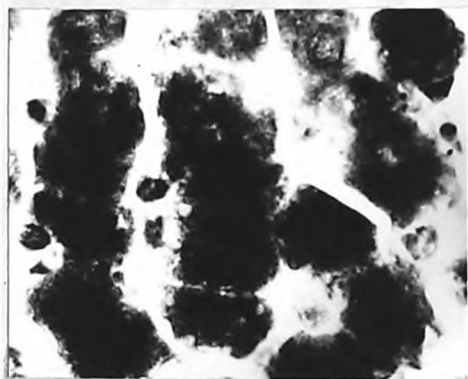


Фото 2.

Стадия опыта 1 час.
Увеличение содержания
гранул РНП в гепатоцитах.
Вступление печеночных
клеток в секреторную фазу.
Фиксация: жидкость Карнуа.
Окраска: метиловый зеленый
и -пиронин по Браше.
Увеличение: об. 90, ок. 7.

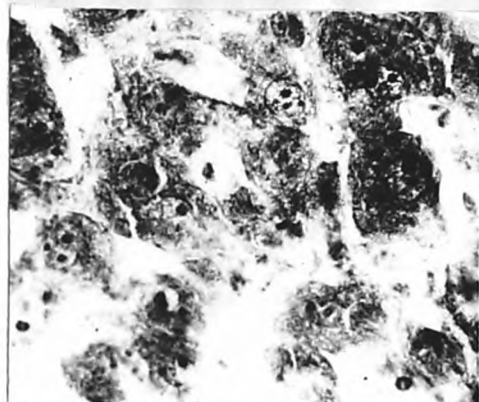


Фото 3.

Стадия опыта 5 часов.
Малое содержание РНП в ци-
топлазме гепатоцитов.
Истощение лабильного аппа-
рата белкового синтеза.
Фиксация: жидкость Карнуа.
Окраска: метиловый зеленый
-пиронин по Браше.
Увеличение: об. 90, ок. 7.

Приложение X.

Динамика в содержании мукополисахаридов в гепатоцитах и межклеточных пространствах после введения пипольфена (50 мг/кг).

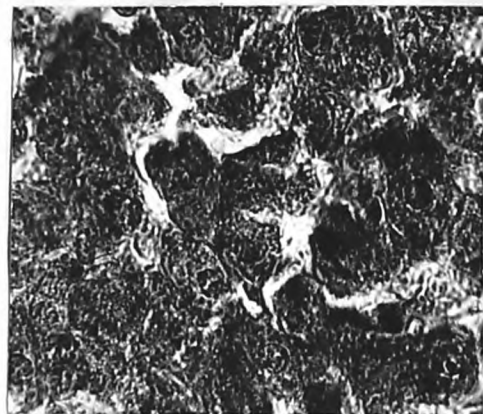


Фото 1.

Стадия опыта 30 мин.
Значительное содержание гранул Хейл-положительного вещества в цитоплазме гепатоцитов и в межклеточных пространствах.

Фиксация: 4% ОУС в 8% р-ре формалина.

Окраска: связывание коллоидального железа по Хейлу в модификации Миллера.

Увеличение: об. 90, ок. 7.

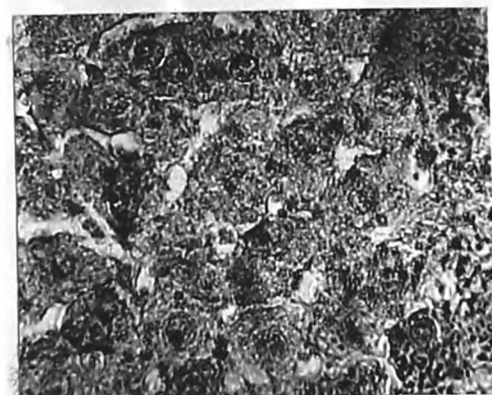


Фото 2.

Стадия опыта 2 часа.
Значительное снижение гранул Хейл-позитивного субстрата в цитоплазме гепатоцитов и в межклеточных пространствах.

Фиксация: 4% ОУС на 8% р-ре формалина.

Окраска: связывание коллоидального железа по Хейлу в модификации Миллера.

Увеличение: об. 90, ок. 7.

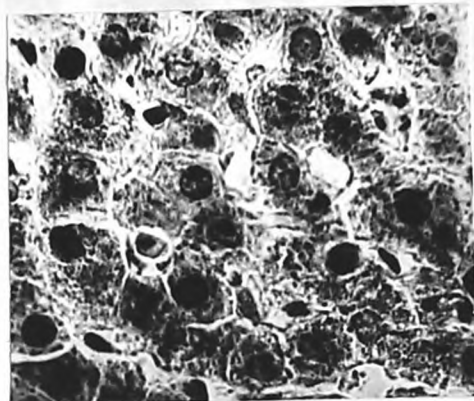


Фото 3.

Стадия опыта 2 часа.
Отсутствие гранул метакроматического субстрата в перикелллярных пространствах гепатоцитов.

Фиксация: жидкость Карнуа.
Окраска: толуид. синий при $\text{pH}=4,3$

Увеличение: об. 90, ок. 7.

Приложение X1.

Влияние гиалуронидазы на содержание Шик-положительных веществ в гепатоцитах и желчных протоках на ранних стадиях опыта (25 000 ЕД/кг веса интраперитонеально).

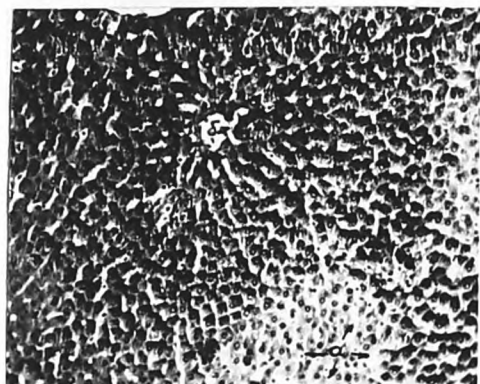


Фото 1.

Стадия опыта 1 час
Распределение гликогена в гепатоцитах, находящихся в стадии: а) -секреции, б) -ассимиляции.
Фиксация: жидкость Пейсаховича.
Окраска: периодат-Шифф реакция.
Увеличение: об.20, ок.7.

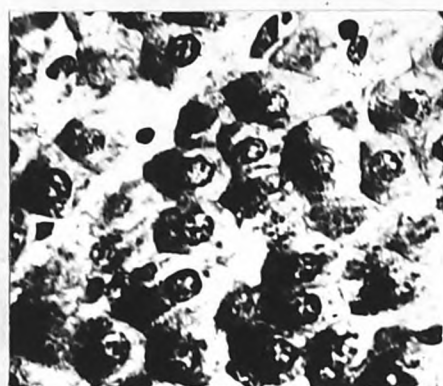


Фото 2.

Стадия опыта 1 час. Содержание гликогена в гепатоцитах, находящихся на различных стадиях ассимиляторной фазы.
Фиксация: жидкость Пейсаховича.
Окраска: периодат-Шифф реакция.
Увеличение: об.60, ок.7.

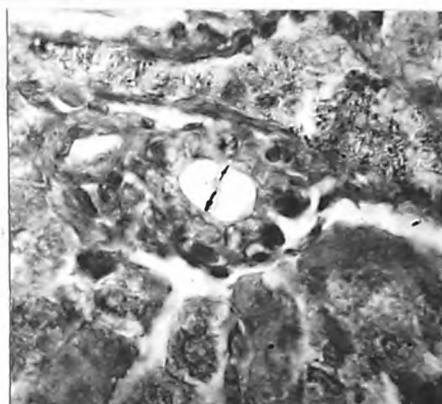


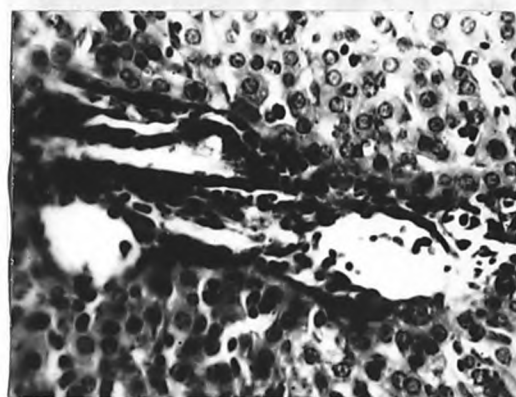
Фото 3.

Стадия опыта 1 час. Незначительное содержание Шик-позитивного субстрата в стенке и эпителиальной выстилке желчных протоков.
Фиксация: жидкость Пейсаховича.
Окраска: периодат - Шифф реакция.
Увеличение: об.60, ок.7.

Приложение XII.

Влияние гиалуронидазы на распределение Шик- и Хейл-положительных субстратов в гепатоцитах, стенке желчных протоков и междольковых кровеносных сосудов (25 000 ЕД/кг веса).

Фото 1.



Стадия опыта 4 часа, отсутствие гранул гликогена в цитоплазме гепатоцитов. Высокое содержание Шик-положительных субстратов в компонентах стенок междольковых вен, артерий и желчных протоков.

Фиксация: жидкость Пейсаховича.

Окраска: периодат-Шифф реакция.

Увеличение: об.40, ок.7.

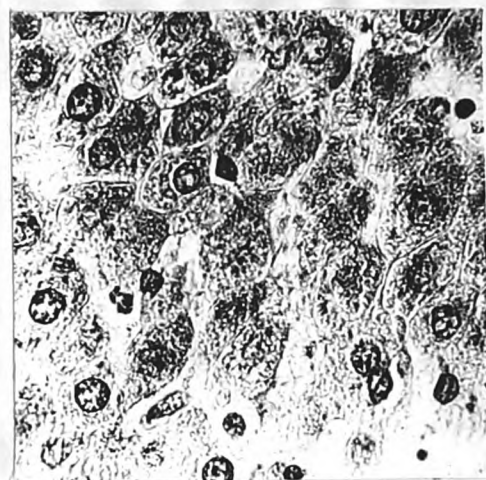


Фото 2.

Стадия опыта 1 час. Содержание Хейл-положительного субстрата в цитоплазме гепатоцитов и перичеселлюлярных пространствах.

Фиксация: 4% ОВС на 8% р-ре формалина.

Окраска: связывание коллоидального железа по Хейлу в модификации Миллера.

Увеличение: об.90, ок.7.

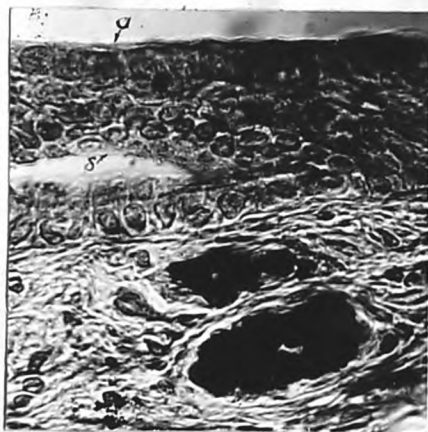


Фото 3.

Стадия опыта 1 час.
Накопление метакроматических субстратов в просвете желчных протоков (а) и их желез (б).

Фиксация: жидкость Карнуэ

Окраска: толуидиновый
синий при $\text{pH}=4,6$

Увеличение: об. 40, ок. 7.

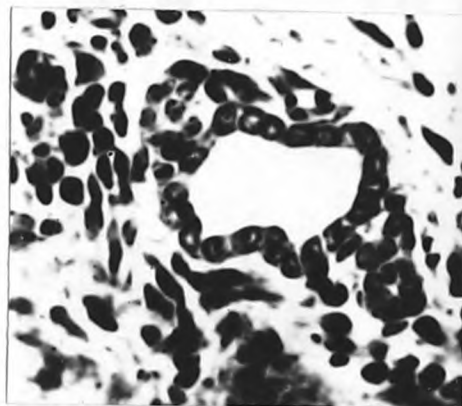


Фото 4.

Стадия опыта 4 часа.
Отсутствие Хейл-позитивного субстрата в просветах желчных протоков.

Фиксация: 4% ОУС на 8%
р-ре формалина.

Окраска: реакция связывания коллоидального железа по Хейлу в модификации Мюллера.

Увеличение: об. 40, ок. 7.