

Я. И. Карбач, О. Я. Сливка, Л. Т. Шевченко

ХОЛАТООБРАЗОВАНИЕ И КОНЪЮГАЦИЯ ЖЕЛЧНЫХ КИСЛОТ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ КАМЕННОМ И ХРОНИЧЕСКОМ БЕСКАМЕННОМ ХОЛЕЦИСТИТАХ

Кафедра биохимии Винницкого медицинского института им. Н. И. Пирогова

Число заболеваний желчных путей повсюду неуклонно возрастает. В первую очередь это относится к холелитиазу, который в Центральной и Западной Европе, США и Южной Америке встречается у 15—18% взрослых лиц (а по материалам вскрытий, почти у 20%). Самая распространенная патология желчных путей — это хронический холецистит (47—58% всех заболеваний данной группы) [12]. Поэтому становится понятным тот большой интерес, проявляемый практическими врачами и экспериментаторами к изучению этиологии и патогенеза, а также разработке методов лечения этих заболеваний.

Нами изучены количественный и качественный состав желчных кислот, концентрация билирубина, холестерина, лецитина в желчи и рН желчи больных хроническим калькулезным (43 человека) и хроническим бескаменным (20 человек) холециститами. Возраст больных от 20 до 70 лет.

По поводу затрагиваемых в нашей работе вопросов в литературе имеются противоречия. Противоречивы, например, данные о величине соотношения концентрации гликохолатов и таурохолатов в пузырной желчи здоровых людей. Приводимые разными авторами значения колеблются в пределах 6—0,8 [8—10, 17, 18, 21, 22]. Весьма различаются и данные содержания холестерина в желчи здоровых людей — от 50 до 900 мг% [11, 12, 14, 15].

Сведения об изменениях упомянутых и других показателей при болезнях печени и желчевыводящих путей еще более разноречивы. Особенно это касается концентрации отдельных желчных кислот, соотношения между ними, величины рН пузырной желчи [9, 11, 13, 14, 20, 22]. Противоречивость этих результатов объясняется трудностью получения пузырной желчи, тем, что для этого применяют различные раздражители, а также и различием методов исследования.

В своих исследованиях мы использовали пузырную желчь, взятую во время холецистэктомии. Контролем служила пузырная желчь здоровых людей (15 человек), полученная при хромодиагностическом дуоденальном зондировании с использованием питуитрина Р, который вводили внутримышечно (по 5 ед.) после взятия порции А желчи. Возраст обследованных контрольной группы 20—45 лет. С целью стандартизации всех результатов исследования полученные данные мы относили к 100 г сухой желчи. Кроме того, вычисляли процентное содержание отдельных желчных кислот (ЖК) — их «спектр». Последнему показателю мы придаем большое значение, так как он не зависит от концентрации желчи и дает представление о состоянии синтетической и конъюгирующей функций печени.

Методика исследования

Содержание ЖК мы определяли по методу Я. И. Карбача [3, 4] с некоторыми дополнениями, которые заключаются в следующем.

1. Для того чтобы условия хроматографии контрольной и опытной проб были одинаковыми, это исследование проводили на одной полоске хроматографической бумаги не в двух цилиндрах, а в одном. Хроматографическую бумагу делили на две половины по 14 мм каждая, для чего в ней вырезали полоску шириной 1 мм и длиной от линии старта до линии финиша.

2. Перед анализом бумагу ФН-11 промывали в течение 3 сут в смеси растворителей, состоящей из дихлорэтана, ледяной уксусной кислоты, 85% муравьиной кислоты и мета-

нола в соотношении 7,5 : 2,5 : 1 : 1. Бумагу высушивали вначале под тягой, затем в течение 10 мин при 100°.

3. Желчь очищали от липидов и пигментов. С этой целью ее разбавляли в 2 раза 0,1 н. раствором NH_4OH , наносили (около 0,06 мл) на кусочек хроматографической бумаги, пропитанной BaCl_2 . Липиды и часть пигментов экстрагировали на протяжении 10 мин диэтиловым эфиром, а ЖК элюировали с этой же бумаги этанолом в аппарате, описанном при изложении способа определения уровня холестерина. Этанол выпаривали, а сухой остаток растворяли в бутаноле (0,2—0,4 мл) и наносили на очищенную полоску хроматографической бумаги.

4. Для разделения свободных ЖК и гликодезоксихолевой (ГДОХ), которая движется вместе с холевой (Х), использовали ранее описанную систему растворителей [3], а для разделения парных ЖК — подобранную нами систему, состоящую из дихлорэтана, ледяной уксусной кислоты, 85% муравьиной кислоты и метанола в соотношении 7,5 : 1 : 1,2 : 0,75. В этой системе растворителей гликохолевая кислота (ГХ) движется вместе с гликохенодезоксихолевой (ГХДОХ), таурохолевая (ТХ) — вместе с тауродезоксихолевой (ТДОХ), а таурохолевая (ТХ) — отдельным пятном.

После хроматографии одну из полос проявляли и при ультрафиолетовом освещении находили пятна ЖК, места положения которых отмечали на непроявленной полоске бумаги. Отмеченные места вырезали и ЖК элюировали в 1 см³ этанола на протяжении 15 мин в приборе для экстракции (см. ниже).

Благодаря примененному нами способу определения содержания ди- и триоксихолановых кислот в смеси путем разделения их общего спектра в реакции Петтенкофера на составные [2, 5] мы определяли следующие желчные кислоты: ГХ, Х, ГХДОХ, ГДОХ, ТХ, ГХДОХ вместе с ТДОХ и дезоксихолевую кислоту (ДОХ) вместе с хенодезоксихолевой (ХДОХ). Определение экстинкции ЖК проводили на спектрофотометре СФ-4А при длине волн 520 и 576 мкм против контрольной пробы.

Уровень холестерина определяли по методу Girard и Assous [16] в нашей модификации (из пробы желчи предварительно удалили ЖК, мешающие проведению реакции Златкиса). С этой целью 0,5 мл желчи, разведенной в 2 раза 0,1 н. раствором NH_4OH , наносили на всю площадь полоски хроматографической бумаги размером 30 × 70 мм, одну из коротких сторон которой клиновидно срезали. Бумагу предварительно пропитывали 0,02 н. раствором BaCl_2 , а затем высушивали. После нанесения на бумагу пробы желчи ее высушивали, вставляли в аппарат для экстракции, состоящий из приемника (стеклянная пробирка 15—20 × 150 мм) и воздушного холодильника (стеклянная трубка 10—15 × 500 мм), соединенных между собой шлифом. Бумагу с пробой сворачивали по форме цилиндра и $\frac{1}{5}$ ее длины вставляли в шлиф воздушного холодильника заостренным концом наружу. В приемник наливали 2,5 мл диэтилового эфира, не содержащего примесей этилового спирта и перекиси (свежий эфир «для наркоза»), соединяли его с воздушным холодильником, в просвете которого находилась вставленная бумага с нанесенной пробой желчи, и экстрагировали холестерин в течение 20 мин на водяной бане при 50°. Время элюции считывали с момента скапывания эфира с клиновидно заостренного конца бумаги. Эфир выпаривали, а с сухим остатком проводили реакцию Златкиса.

Уровень билирубина определяли по методу Jendrassik и Cleghorn [19], лецитин извлекали из желчи смесью Блора, затем в экстракте после предварительной минерализации определяли количество неорганического фосфора по Briggs. Показатель рН желчи определяли рН-метром ЛПУ-01 с применением насадки для микроопределений.

В результате усовершенствований хроматографического метода определения ЖК [4, 5] полученные в настоящем исследовании данные о составе пузырной желчи у здоровых людей несколько отличаются от приводившихся нами ранее [6, 7]. Особенно это касается соотношения уровней гликохолатов и таурохолатов, которое равно 1,26, а также триоксихолановых и диоксихолановых кислот, равное 0,8 (против 3,0 и 0,6 в прежних сообщениях). Свободные ЖК обнаружены у здоровых только в виде следов на отдельных хроматограммах. Результаты проведенных нами исследований состава и соотношения ЖК пузырной желчи здоровых людей согласуются с данными, полученными Shioda и соавт. [21].

Пробы желчи больных хроническим калькулезным холециститом в зависимости от содержания ЖК в граммах на 100 г сухой желчи мы разделили на три группы. В 1-ю входили пробы с высоким содержанием ЖК (50,85 ± 5,00 г), во 2-ю — с средним содержанием ЖК (35,00 ± 4,69 г), в 3-ю — с низким содержанием ЖК (13,95 ± 3,00 г).

Показатели, характеризующие изменение абсолютного содержания и процентного соотношения желчных кислот пузырной желчи больных хроническим камненным и хроническим бескаменным холециститом, приведены в таблице.

Содержание ЖК в 100 г сухой желчи больных хроническим бескаменным холециститом составляло $34,55 \pm 3,50$, а здоровых — $44,96 \pm 4,14$ г.

Достоверное снижение концентрации ЖК в пузырной желчи больных хроническим калькулезным и хроническим бескаменным холециститом наблюдалось только в половине случаев. В связи с этим можно допустить, что застой желчи наблюдается также у 50% этих больных. Если принять во внимание тот факт, что понижение концентрации ЖК происходит не только в результате их всасывания в желчном пузыре при застое желчи, но и за счет угнетения их синтеза, то нужно будет сделать вывод, что упомянутый процент окажется еще ниже. В связи с этим мы полагаем, что застой желчи и уменьшение концентрации ЖК не являются главными причинами камнеобразования в желчных путях.

Содержание ЖК в пузырной желчи (в г) у больных хроническим калькулезным и хроническим бескаменным холециститом

Пробы желчи	Показатель	ТХ	ТХДОХ ± ГДОХ	ГХ	ГХДОХ	ГДОХ	Х	ДОХ ± ХДОХ	Сумма	Гликохолаты/таурохолаты	Триоксихолаты/диоксихолаты	
Контроль <i>n</i> =15	<i>M</i>	8,60	11,21	11,63	8,01	5,51	0	0	44,96	1,26	0,81	
	$\pm m$	1,10	1,10	1,40	2,00	1,04	0	0	4,14			
	%	19,10	24,90	25,80	16,90	13,30	0	0	100,00			
Группа больных:												
	1-я (<i>n</i> =13)	<i>M</i>	4,24	8,02	11,14	1,58	21,40	0,62	3,85	50,85	2,78	0,45
		$\pm m$	0,70	0,90	1,80	0,54	3,70	0,25	1,05	5,00		
		%	8,50	15,75	21,24	3,09	42,00	1,22	7,60	100,00		
<i>P</i>	0,01	0,05	0,5	0,01	0,001							
2-я (<i>n</i> =15)	<i>M</i>	5,00	5,00	8,28	0,86	14,14	0,64	1,08	35,00	2,32	0,66	
	$\pm m$	0,67	0,95	0,60	0,30	2,00	0,24	0,30	4,69			
	%	14,30	14,30	23,60	2,50	40,40	1,80	3,10	100,00			
<i>P</i>	0,02	0,001	0,05	0,001	0,01							
3-я (<i>n</i> =15)	<i>M</i>	1,10	2,10	3,98	0,74	5,80	0,10	0,13	13,95	3,18	0,59	
	$\pm m$	0,55	0,85	1,18	0,20	1,00	0,05	0,04	3,00			
	%	7,88	15,05	28,53	5,30	41,59	6,72	0,93	100,00			
<i>P</i>	0,001	0,001	0,01	0,001	0,5							
Желчь больных хроническим бескаменным холециститом (<i>n</i> =20)	<i>M</i>	4,16	4,29	7,60	5,57	11,00	0	1,93	34,55	2,85	0,52	
	$\pm m$	0,75	1,10	1,33	1,00	1,00	0	0,30	3,50			
	%	12,00	12,30	22,00	16,10	32,00	0	5,60	100,00			
<i>P</i>	0,01	0,001	0,05	0,1	0,01							

Примечание. *P* дано по отношению к контролю.

Изменение количественного состава и процентного соотношения ЖК характерно для всех трех групп желчи больных хроническим калькулезным холециститом (см. таблицу). При этом достоверно уменьшается абсолютное и процентное содержание растворимых таурохолатов (особенно в 3-й группе) и ГХДОХ. Достоверное увеличение количества ГДОХ наблюдается в 1-й и 2-й группах больных калькулезным холециститом, но процентное содержание ее одинаково в желчи всех трех групп (42,00, 40,40 и 41,59% против 13,30% в норме). В желчи 2-й и 3-й групп наблюдается понижение содержания ГХ, но достоверно оно только в 3-й группе, процентная же доля ГХ для всех трех групп остается приблизительно одинаковой (21,84, 23,60 и 28,53). В норме ГХ составляет 25,80% количества всех кислот. В желчи больных холециститом появляются свободные ЖК, особенно ДОХ в сумме с ХДОХ, а у больных калькулезным холециститом и Х. Сходный характер изменений содержания ЖК наблюдали и в желчи больных хроническим бескаменным холециститом, за исключением ГХДОХ, абсолютное содержание которой уменьшается незначительно, и менее выраженного увеличения абсолютного содержания ($11,00 \pm 1,00$ г) и процентной доли (32%) ГДОХ.

Коэффициент гликохолата/таурохолата для всех трех групп желчи больных хроническим калькулезным и желчи больных хроническим бескаменным холециститом соответственно составляет 2,78, 2,32, 3,18 и 2,85 (у здоровых 1,26), а отношение триоксихолановых кислот к диоксихолановым — 0,45, 0,66, 0,59 и 0,52 (у здоровых 0,81).

Показатель рН пузырной желчи, обследованных больных калькулезным холециститом сдвинут в щелочную сторону ($8,20 \pm 0,42$). Это согласуется с данными Н. А. Скуя [14].

У здоровых людей содержание билирубина, выраженное в граммах на 100 г сухой пузырной желчи, составляет $1,12 \pm 0,26$, общего холестерина — $3,30 \pm 0,27$, свободного холестерина — $1,9 \pm 0,20$, лецитина — $18,20 \pm 1,92$.

Достоверное увеличение содержания холестерина и билирубина наблюдается в желчи 1-й группы больных хроническим калькулезным холециститом (общий холестерин — $8,05 \pm 0,50$, свободный — $4,60 \pm 0,47$, билирубин — $2,49 \pm 0,17$). Во всех трех группах желчи достоверно понижается содержание лецитина. При хроническом же бескаменном холецистите в пузырной желчи увеличивается содержание общего холестерина, свободного холестерина и билирубина почти в 2 раза по сравнению с нормой. Содержание лецитина имеет тенденцию к снижению.

Полученные данные показывают, что в пузырной желчи больных хроническим калькулезным холециститом снижается содержание первичных ЖК, а также количество конъюгатов ЖК с таурином и частично с глицином. При этом в желчи увеличивается концентрация свободных ЖК и значительно возрастает процент труднорастворимой ГДОХ. Понижение суммарной концентрации ЖК в пузырной желчи наблюдается не во всех обследованных группах больных.

Подобные изменения содержания ЖК, но в менее выраженной форме характеризуют и пузырную желчь больных хроническим бескаменным холециститом. Кроме того, в пузырной желчи больных хроническим бескаменным и бескаменным холециститом наблюдаются уменьшение содержания лецитина, увеличение содержания общего и свободного холестерина и билирубина, а также сдвиг рН в щелочную сторону.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бочаров В. Я. Арх. анат., 1961, т. 41, с. 9.— 2. Владимиров Ю. А., Литвинов Ф. Ф. Фотобиология и спектральные методы исследования. 1964, в. 8, с. 77.— 3. Карбач Я. И. Биохимия, 1961, в. 2, с. 305.— 4. Карбач Я. И. Лабор. дело, 1967, № 2, с. 104.— 5. Карбач Я. И. Укр. биохим. ж., 1961, № 3, с. 420.— 6. Карбач Я. И., Звершановский Ф. А. Врач. дело, 1971, № 3, с. 56.— 7. Они же. Тер. арх., 1970, в. 12, с. 62.— 8. Кипшидзе Н. И., Лежава Д. И. Там же, 1971, № 4, с. 61.— 9. Лежава Д. И. В кн.: Сборник трудов Научно-исслед. ин-та экспериментальной и клинической терапии Министерства здравоохранения Грузинск. ССР. Тбилиси, 1968, т. 4, с. 173.— 10. Лежава Д. И. Лабор. дело, 1969, № 1, с. 38.— 11. Лейтес С. М., Лаптева Н. Н. Врач. дело, 1936, № 6, с. 641.— 12. Ногаллер А. М. Заболевания желчного пузыря и желчных путей. М., 1969.— 13. Ногаллер А. М., Быков В. Б. Клин. мед., 1971, № 8, с. 10.— 14. Скуя Н. А. Хронические заболевания желчных путей. Л., 1972.— 15. Уголев А. И., Иезуитова Н. Н., Масевич Ц. Г. и др. Исследование пищеварительного аппарата у человека (Обзор современных методов). Л., 1969, с. 215.— 16. Giscard U., Assous E., Ann. Biol. chim., 1962, v. 20, p. 235.— 17. Haslewood G. A. D., Bile Salts. London, 1967.— 18. Encrantz J., Sjovall J., Acta chem. scand., 1957, v. 11, p. 1093.— 19. Jendřassik L., Cleghorn R. A., Biochem. L., 1936, Bd 289, S. 1.— 20. Pavel I., Die Gallenblase und die ableitenden Gallenwege. Bukarest, 1962.— 21. Shioda R., Wood P. D. S., Kinsell L. W., J. Lipid. Res., 1969, v. 10, p. 546.— 22. Sjovall J., Clin. chim. Acta, 1960, v. 5, p. 33.

Поступила 30/VI 1973 г.

CHOLATE FORMATION AND CONJUGATION OF BILE ACIDS IN CHRONIC CALCULOUS AND NONCALCULOUS CHOLECYSTITIS

Ya. I. Karbach, O. Ya. Slioka, L. T. Shevchenko

Summary

The authors studied gall bile of patients with chronic calculous and chronic noncalculous cholecystitis obtained immediately from the gall bladder in cholecystectomy. In the gall bile of patients with calculous cholecystitis there were revealed changes of the absolute value and percentage ratio of some bile acids which manifested themselves in the increased amount of taurocholate, rise in the level of glycocholates and appearance of free fatty acids. The mentioned not less marked changes are characteristic of the gall bile of patients with chronic noncalculous cholecystitis. The authors also revealed a decrease of lecithin, increase of the content of free cholesterol and bilirubin and a shift of pH towards alkaline.

УДК 616.633.164.1

Канд. мед. наук С. Ш. Уманский

ТРИ ПЕРИОДА КЛИНИЧЕСКОГО ИЗУЧЕНИЯ УРОПЕСИНОВОГО ТЕСТА

Научно-исследовательская лаборатория физиологии и психологии труда (зав.— канд. мед. наук С. Ш. Уманский) ЦНОТиУ Министерства легкой промышленности Эстонской ССР, Таллин

В настоящее время уропепсиновый тест прочно вошел в практику клинических и экспериментальных исследований.

Хотя этому тесту посвящен ряд монографий (В. Н. Туголуков, 1965, 1972; М. С. Туркельтауб и О. Н. Ганич, 1965; Г. Ф. Коротько, 1971) и обзорных статей (О. Грегор, 1959; Strehler, 1954; Rolandi-Ricci и Queigolo, 1961; Rapino и соавт., 1962; Buchs, 1971), мы сочли целесообразным дать краткий исторический обзор развития наших знаний об уропепсине с целью выделения важнейших этапов изучения этого теста и указать наметившиеся в настоящее время новые пути исследования протеолитических свойств мочи.

Протеолитическая активность мочи была открыта Brücke в 1861 году. Это открытие привлекло внимание многих исследователей (Ф. А. Василевский, 1887; Grützner, 1874; Sahli, 1886, и др.), так как позволило хотя бы косвенно судить о переваривающей силе желудочного сока. Муа и Belfanti (1886) назвали пепсин мочи уропепсином.

Уже первые исследования уропепсина обнаружили, что он в малом количестве содержится у истощенных людей (Ф. А. Василевский, 1887), у больных раком желудка и «атрофическим катаром желудка» (В. Брунер, 1890; Troller, 1899; Takeda, 1910, и др.). Takeda (1910) и Strauss (1912) показали, что пепсин из главных клеток желудка поступает двумя путями: в просвет желудка и непосредственно в кровь. Fuld и Hirayama (1910) отдали предпочтение определению уропепсина перед зондированием желудка, основываясь на древней заповеди врачей — *primum nihil nocere* (прежде всего врач не должен вредить). При этом авторы исходили из идеи И. П. Павлова, высказанной им в 1901 году (И. П. Павлов и С. В. Парашук, 1904), о единстве действия пепсина и химозина, а именно, что расщепление белка и свертывание молока осуществляются одним и тем же ферментом. Эти исследования И. П. Павлова и агронома С. В. Парашука впоследствии блестяще подтвердились на практике и легли в основу разработки новых методов исследования уропепсинового теста (Sylvest, 1949; West и соавт., 1952, и др.).

В докторской диссертации Н. Н. Мещерина (1912) как бы подводятся итог первого этапа развития наших знаний об уропепсине, полученных в основном русскими и немецкими учеными. Автор отметил, что при помощи уропепсинового теста можно судить о функции главных клеток слизистой