

УДК 616.316-037:616.386-002.547.931

Я. И. Карбач, О. Я. Сливка, А. Я. Фищенко

**ЖЕЛЧНЫЕ КИСЛОТЫ
У БОЛЬНЫХ КАЛЬКУЛЕЗНЫМ ХОЛЕЦИСТИТОМ**

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

В последнее время отмечается увеличение числа случаев поражений желчевыведительной системы, в особенности холелитиаза (В. Х. Василенко). Однако пусковой механизм камнеобразования в большинстве случаев остается нерешенным. Многие авторы в образовании желчных камней первостепенное значение придают изменению химизма желчи, особенно

нарушению метаболизма желчных кислот (А. М. Ногаллер; Н. А. Скуя; Temesue и Juniper, и др.).

В связи с этим мы сопоставили содержание желчных кислот в пузырной желчи и желчных камней (работ по этому вопросу в литературе мы не нашли) у 63 больных хроническим калькулезным холециститом в возрасте от 20 до 70 лет. Желчь и желчные камни брали из желчного пузыря во время холецистэктомии. Пробы исследуемой желчи были разделены на 3 группы в зависимости от состава желчных камней: 1-я — пробы желчи с камнями, содержащими больше 95% холестерина ($n=20$), 2-я — содержащими меньше 95% холестерина ($n=28$) и 3-я — состоящими преимущественно из пигментов ($n=15$). Контролем служила желчь 15 практически здоровых лиц приблизительно того же возраста, полученная при дуоденальном зондировании с применением питуитрина Р, который вводили внутримышечно после взятия порции А.

В желчи и желчных камнях мы определяли следующие желчные кислоты (ЖК): таурохолевую (ТХ), таурохенодезоксихолевую + тауродезоксихолевую (ТХДОХ + ТДОХ), гликохолевую (ГХ), гликодезоксихолевую (ГДОХ), дезоксихолевую + хенодезоксихолевую (ДОХ + ХДОХ), гликохенодезоксихолевую (ГХДОХ) и холевую (Х). Данные анализов выражали в граммах на 100 г сухой желчи и желчных камней. Кроме абсолютных значений желчных кислот, находили их процентное соотношение.

Желчные кислоты определяли по методу Я. И. Карбача (1961, 1967) с некоторыми дополнениями. Для одинаковых условий хроматографирования контроля и опыта этот процесс проводили на одной полоске бумаги и в одном цилиндре. Хроматографическую бумагу разрезали на две половины полосками шириной 1 мм и длиной от линии старта до линии финиша. Бумагу ФН-11 перед анализом очищали путем нисходящей хроматографии на протяжении 3 суток в смеси растворителей, состоявшей из дихлорэтана, ледяной уксусной кислоты, 85% муравьиной кислоты и метанола в соотношении 7,5 : 2,5 : 1 : 1. Бумагу высушивали вначале под тягой, затем в течение 10 мин. при 100°. Желчь очищали от липидов и пигментов. С этой целью желчь, разбавленную в 2 раза 0,1 н. раствором NH_4OH , наносили (около 0,06 мл) на сухую хроматографическую бумагу, предварительно пропитанную 0,02 н. раствором BaCl_2 и высушенную, одна из коротких сторон которой клиновидно была срезана. После нанесения на бумажку пробы желчи ее высушивали, вставляли в аппарат для экстракции, состоящий из приемника (стеклянная пробирка 15—20×150 мм) и воздушного холодильника (стеклянная трубка 10×150 мм), соединенных между собой шлифом. Бумагу с пробой сворачивали в форме цилиндра и $\frac{1}{6}$ ее длины вставляли в шлиф воздушного холодильника заостренным концом наружу. Сначала на протяжении 10 мин. экстрагировали диэтиловым эфиром липиды и часть пигментов. Желчные кислоты с этой же бумажки экстрагировали этанолом. Этанол выпаривали, сухой остаток растворяли в *n*-бутаноле (0,2—0,4 мл) и наносили на очищенную полоску хроматографической бумаги. Для разделения свободных желчных кислот и ГДОХ, которая движется вместе с холевой, применяли систему растворителей (Я. И. Карбач, 1961); для разделения парных желчных кислот использовали подобранную нами систему, состоящую из дихлорэтана, ледяной уксусной кислоты и метанола в соотношении 7,5:1,0:1,2:0,75. В этой системе растворителей ГХ движется вместе с ГХДОХ, ТХДОХ — вместе с ТДОХ, ТХ — отдельным пятном.

После хроматографирования одну из полос проявляли в насыщенном хлороформном растворе SbCl_3 и в ультрафиолете находили пятна желчных кислот, места положения которых отмечали на непроявленной полоске бумаги. Отмеченные места вырезали с непроявленной полоски хроматографической бумаги и элюировали желчные кислоты в 1 мл этанола на протяжении 15 мин. в описанном аппарате для экстракции. Этанол выпаривали, сухой остаток использовали для определения концентрации желчных кислот по модифицированной реакции Петтенкофера (Я. И. Карбач, 1961). Количественное содержание желчных кислот рассчитывали путем разложения спектра смеси на составные (Ю. А. Владимирова и Ф. Ф. Литвинов). Фотометрирование проводили на СФ-4А при длине волн 520 мкм для диоксихолановых и 576 мкм для триоксихолановых кислот.

Полученные при холецистэктомии желчные камни промывали дистиллированной водой и высушивали на воздухе, затем тщательно растирали в ступке. Навеску порошка (50 мг) помещали в центрифужную пробирку и кипятили 5 мин. с 2 мл 0,05 н. раствора NH_4OH , охлаждали до комнатной температуры и доливали дистиллированной водой до 2 мл, прибавляли 2 мл химически чистого хлороформа, закрывали пробирку капроновой пробкой и содержимое взбалтывали в течение 5 мин., после чего центрифугировали при 3000 об/мин 10 мин. При этом холестерин переходил в хлороформ, а желчные кислоты хорошо растворялись в водяной фазе, которую использовали для хроматографического разделения желчных кислот. Все остальные процессы, связанные с хроматографированием и определением желчных кислот, проводились по описанной выше методике.

Желчные кислоты желчи и желчных камней у больных хроническим калькулезным холециститом (в г на 100 г сухой желчи)

Желчные кислоты

Группа проб	Статистический показатель	Желчные кислоты							сумма
		ТХ	ТХДОХ+ ТДОХ	ГХ	ГХДОХ	ГДОХ	Х	ДОХ+ ХДОХ	
Контроль n=15	M	8,60	11,21	11,63	8,01	5,51	0	0	44,96
	±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
Желчные кислоты: желчи n=20	M	3,40	5,00	9,80	1,00	12,60	0,56	2,38	34,74
	±m	0,64	1,31	2,44	0,50	3,00	0,24	0,86	4,17
	%	9,80	14,40	28,00	2,50	36,90	1,60	6,80	100,00
	P	<0,001	<0,001	>0,5	<0,001	<0,02	0	0	
	M	0,01	0,01	0,16	0,01	0,18	0	0	0,37
	±m	0,003	0,003	0,05	0,004	0,05	0	0	0,10
2,70	2,70	43,25	2,70	2,70	48,65	0	0	100,00	
желчных камней n=20	M	4,40	4,30	7,00	0,70	12,10	0,60	0,80	29,90
	±m	0,80	1,17	1,24	0,37	2,27	0,25	0,37	4,75
	%	14,72	14,38	23,41	2,34	40,47	2,00	2,68	100,00
	P	<0,01	<0,001	<0,05	<0,01	<0,01			
	M	0,09	0,09	0,24	0,04	0,45	0,08	0,05	1,04
	±m	0,03	0,02	0,09	0,01	0,09	0,03	0,02	0,29
8,65	8,65	23,10	3,84	43,26	7,69	0,05	4,81	100,00	
желчных камней n=28	M	2,80	8,20	9,40	3,60	29,00	1,10	3,30	57,40
	±m	0,57	0,80	2,33	1,04	3,96	0,45	1,04	5,12
	%	5,00	14,30	16,30	6,20	50,50	1,90	5,80	100,00
	P	<0,01	<0,05	<0,2	<0,05	<0,001			
	M	0,50	0,58	0,65	0,12	1,09	0,02	0,10	3,06
	±m	0,10	0,10	0,18	0,02	0,20	0,01	0,04	0,80
16,33	19,00	21,24	3,90	35,62	0,65	0,05	3,26	100,00	
желчи n=15	M	2,80	8,20	9,40	3,60	29,00	1,10	3,30	57,40
	±m	0,57	0,80	2,33	1,04	3,96	0,45	1,04	5,12
	%	5,00	14,30	16,30	6,20	50,50	1,90	5,80	100,00
	P	<0,01	<0,05	<0,2	<0,05	<0,001			
	M	0,50	0,58	0,65	0,12	1,09	0,02	0,10	3,06
	±m	0,10	0,10	0,18	0,02	0,20	0,01	0,04	0,80
16,33	19,00	21,24	3,90	35,62	0,65	0,05	3,26	100,00	
желчных камней n=15	M	2,80	8,20	9,40	3,60	29,00	1,10	3,30	57,40
	±m	0,57	0,80	2,33	1,04	3,96	0,45	1,04	5,12
	%	5,00	14,30	16,30	6,20	50,50	1,90	5,80	100,00
	P	<0,01	<0,05	<0,2	<0,05	<0,001			
	M	0,50	0,58	0,65	0,12	1,09	0,02	0,10	3,06
	±m	0,10	0,10	0,18	0,02	0,20	0,01	0,04	0,80
16,33	19,00	21,24	3,90	35,62	0,65	0,05	3,26	100,00	

Результаты наших исследований состава и соотношения желчных кислот пузырной желчи у здоровых лиц согласуются с данными Shioda и соавт. Так, отношение гликохолатов к таурохолатам составляет 1,26, а отношение триоксихолановых кислот к диоксихолановым — 0,8. Свободные желчные кислоты обнаружены в виде следов на некоторых хроматограммах.

Показатели, характеризующие изменение состава желчных кислот в литогенной желчи в зависимости от наличия в ней различных по составу желчных камней, представлены в таблице. Изменение состава и процентной доли желчных кислот является характерным для пузырной желчи больных хроническим калькулезным холециститом.

Независимо от состава желчных камней в желчи наблюдается достоверное уменьшение абсолютных значений и процентной доли таурохолатов, ГХДОХ и увеличение ГДОХ. Последняя в пробах желчи 3-й группы составляет 50,5%, тогда как в норме — 13,13%. Количество ГХ имеет тенденцию к понижению во всех 3 группах проб желчи ($9,8 \pm 2,44 \%$; $7 \pm 1,24 \%$; $9,4 \pm 2,33 \%$) по сравнению с $11,63 \pm 1,4$ в желчи здоровых. Процентное же соотношение ГХ уменьшается только в пробах желчи 3-й группы (16,3% против 25,8% в норме). В желчи больных хроническим калькулезным холециститом появляются свободные желчные кислоты.

Суммарная концентрация желчных кислот в литогенной желчи уменьшается только в пробах 1 и 2-й групп по сравнению с нормой.

Количество желчных кислот в желчных камнях зависит от состава последних. Самым низким содержанием желчных кислот характеризуются желчные камни, состоящие преимущественно из холестерина (1-я группа проб) — $0,37 \pm 0,1 \%$. В желчных кислотах этих камней преобладают ГХ (43,25%) и ГДОХ (48,65%).

Во 2-й группе проб желчных камней определено $1,04 \pm 0,29 \%$ холатов. На долю ГХ приходится 23,1%, а ГДОХ — 43,26% от общей суммы желчных кислот.

Суммарная концентрация холатов в 3-й группе проб желчных камней составляет $3,06 \pm 0,8 \%$. Эти результаты анализов согласуются с данными Накаџама.

Для проб желчных камней 3-й группы характерно увеличение количества таурохолатов (ТХ 16,33%; ТХДОХ + ТДОХ 19%). На долю ГХ приходится 21,24%, ГДОХ — 35,62%. ГДОХ является преобладающей в количественном отношении для всех анализируемых нами желчных камней.

Из полученных данных видно, что при хроническом каменном холецистите, независимо от состава желчных камней, происходят угнетение синтеза в печени первичных желчных кислот, понижение гидроксирования и конъюгации желчных кислот с таурином. При этом увеличивается концентрация свободных желчных кислот и труднорастворимой ГДОХ. Эти факторы способствуют понижению стабильности мицел желчи (Temesue и Jupireg). ГДОХ, выпадая из коллоидного раствора, способна раздражать слизистую оболочку желчного пузыря и вызывать асептический хронический холецистит (Agonsohn и Andrews). Это способствует образованию в желчи положительно заряженных мукоидных и белковых тел.

Таким образом, уже в самой печени вырабатывается литогенная желчь. Такие факторы, как алиментарный, малоподвижный образ жизни и др., являются вспомогательными в камнеобразовании.

В ы в о д ы

1. Независимо от состава желчных камней литогенная желчь характеризуется низким содержанием таурохолатов и повышенной концентрацией диоксихолановых кислот.
2. Труднорастворимая гликодезоксихолевая кислота количественно преобладает во всех анализированных желчных камнях.

3. При диагностике холелитиаза необходимо уделять внимание определению процентного состава желчных кислот, играющих важную роль в камнеобразовании.

ЛИТЕРАТУРА. Василенко В. Х. В кн.: Актуальные вопросы гастроэнтерологии. М., 1969, в. 2, с. 3. — Владимиров Ю. А., Литвинов Ф. Ф. Фотобиология и спектральные методы исследования. М., 1964, в. 8, с. 77. — Карбач Я. И. Биохимия, 1961, т. 26, в. 2, с. 305. — Карбач Я. И. Лабор. дело, 1967, № 2, с. 104. — Карбач Я. И. Укр. биохим. ж., 1961, № 3, с. 420. — Ногаллер А. М. Клин. мед., 1971, № 8, с. 10. — Скуя Н. А. Хронические заболевания желчных путей. Л., 1971. — Aronsohn H. J., Andrews E., Surg. Gynec. Obstet., 1938, v. 66, p. 748. — Nakajama F., J. Lab. clin. Med., 1968, v. 72, p. 602. — Shioda R., Wood P. D. S., Kinsell L. W., J. Lipid Res., 1969, v. 10, p. 546. — Temesue N., Juniper K., Gastroenterology, 1967, v. 52, p. 437.

Поступила 11/V 1973 г.

BILE ACIDS IN PATIENTS WITH CALCULOUS CHOLECYSTITIS

Ya. I. Karbach, O. Ya. Slivaka, A. Ya. Fischenko

Summary

The author studied the quantitative and qualitative composition of bile acids in relation to the composition of biliary calculi. Bile and biliary calculi were taken from the gall bladder during cholecystectomy. In cholelithiasis the conjugation, hydroxylation and the synthesis of primary bile acids in the liver decreased. At the same time there were found in the liver free acids; absolute and percentage content of hydroxicholeic acid increased. The latter prevailed in the composition of biliary calculi. In biliary calculi rich in pigments 3.06 g of bile acids per 100 g of dry calculi were found, the specific gravity of taurates being increased.

Both qualitative and quantitative changes of bile acids in the bile play an important role in lithogenesis and their determination is of prognostic and diagnostic significance.