

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ЖЕЛЧНЫХ КАМНЕЙ У БОЛЬНЫХ ЖЕЛЧНОКАМЕННОЙ БОЛЕЗНЬЮ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДА ИНФРАКРАСНОЙ СПЕКТРОМЕТРИИ

УДК 616.366–003.7–073.584

Поступила 23.12.2011 г.



А.В. Страхов, к.м.н., ассистент кафедры госпитальной хирургии имени Б.А. Королева;
А.С. Гордцев, д.х.н., профессор, зав. кафедрой общей химии

Нижегородская государственная медицинская академия, Н. Новгород, 603005, пл. Минина и Пожарского, 10/1

Цель исследования — разработка способа прижизненного определения химического состава камней желчного пузыря у больных желчнокаменной болезнью методом ИК-спектроскопии с позиций сравнительного анализа субстратов желчи и желчных камней.

Материалы и методы. Исследовали камни желчного пузыря и пузырную желчь 50 пациентов в возрасте 22–73 года после холецистэктомии и пузырную желчь (порция В) при дуоденальном зондировании у 12 молодых мужчин в возрасте 20–32 года без заболеваний желчновыделительной системы с использованием метода ИК-спектроскопии на приборах Specord 75 IR и Specord 80 IR.

Результаты. При желчнокаменной болезни холестериновые желчные камни встречаются у 83,7% пациентов, билирубиновые — у 16,3%. Условием литогенеза всех видов желчных камней является перенасыщение желчи холестерином (при ИК-показателе поглощения холестерина желчи более 58%). Уровень билирубина желчи у пациентов с билирубиновыми камнями (Me=34%) статистически значимо выше, чем у пациентов с холестериновыми камнями (Me=22%).

Ключевые слова: желчнокаменная болезнь, литогенез, инфракрасная спектроскопия.

English

Chemical composition analysis of gallstones in patients with cholelithiasis using infrared spectrometry

A.V. Strakhov, PhD, Tutor, the Department of Hospital Surgery named after B.A. Korolyov;
A.S. Gordetsov, D.Chem.Sc., Professor, Head of the Department of General Chemistry

Nizhny Novgorod State Medical Academy, Minin and Pozharsky Square, 10/1, Nizhny Novgorod, Russian Federation, 603005

The aim of the investigation is to develop the technique of life-time chemical composition analysis of gallstones in patients with cholelithiasis using infrared spectrometry, comparing bile and gallstone substrates.

Materials and methods. There were studied gallstones and cystic bile of 50 patients aged 22–73 years after cholecystectomy and cystic bile (B bile) in duodenal intubation of 12 young men aged 20–32 years without biliary tract diseases using infrared (IR) spectrometry (Specord 75 IR and Specord 80 IR).

Results. In cholelithiasis, 83.7% of patients have cholesterol gallstones, and 16.3% — calcium bilirubinate stones. The condition of lithogenesis of all type stones is the cholesterol oversaturation of bile (IR bile cholesterol absorption index >58%). The bile bilirubin level in patients with calcium bilirubinate stones (Me=34%) is statistically significantly higher than in those with cholesterol gallstones (Me=22%).

Key words: cholelithiasis, lithogenesis, infrared spectrometry.

В изучении причин развития желчнокаменной болезни (ЖКБ) исследование особенностей механизма литогенеза является определяющим. Для клинических целей традиционно желчные камни (ЖК) подразделяют на холестериновые и билирубиновые [1–3].

По данным В.А. Тарасова [4], в желчных конкрементах при холестериновом холецистолитиазе относи-

тельное содержание холестерина составляет 70–98%, билирубина — 0–5%; при билирубиновом холецистолитиазе — соответственно 10 и 35–40%.

D. Jungst с соавт. [3] обнаружили, что индекс насыщения холестерином пузырной желчи (соотношение свободных желчных кислот и лецитина желчи) у пациентов с холестериновыми ЖК — $1,68 \pm 0,12$, что статис-

Для контактов: Страхов Андрей Владимирович, тел. моб. +7 904-391-92-84; e-mail: straxoff@gmail.com

тически значимо выше, чем у пациентов с пигментными ЖК — $1,31 \pm 0,10$.

Установлена связь состава ЖК со спектром поглощения пузырной желчи при инфракрасной (ИК) спектrophотометрии. По данным С.Н. Крутикова и В.И. Окулова [5], желчи со спектрами поглощения 1550 и 1600 см^{-1} будут соответствовать холестериновые, пигментные либо холестериново-пигментные камни. А.М. Ногаллер с соавт. [2] определили, что в пузырной желчи больных ЖКБ при ИК-спектrophотометрии отмечается увеличение содержания холестерина (полосы поглощения 1450 и 1080 см^{-1}), в ЖК холестерину соответствуют полосы поглощения $3400\text{--}3000 \text{ см}^{-1}$.

В настоящее время предложены косвенные методики определения состава камней при исследовании физико-химических свойств пузырной желчи (порции В), полученной при дуоденальном зондировании [6].

Наиболее информативными являются физико-химические методы, применяющиеся в отношении ЖК и желчи, извлеченных при операции из желчного пузыря [7, 8].

Цель исследования — разработка способа прижизненного определения химического состава камней желчного пузыря у больных желчнокаменной болезнью методом ИК-спектrophотометрии с позиций сравнительного анализа субстратов желчи и желчных камней.

Материалы и методы. При макроскопическом исследовании камней, извлеченных из желчного пузыря при плановой холецистэктомии по поводу ЖКБ у 300 пациентов, выделяли две группы ЖК: холестериновые и билирубиновые. Для холестериновых камней были характерны цвет — от светло-серого до светло-коричневого, хрупкость при механическом воздействии, однородная мелкозернистая структура распила. Для билирубиновых — цвет от светло-коричневого до черного, пластичность при механическом воздействии, структура распила в виде рыхлых мелких гранул, иногда чередующихся с сотовидными пустотами.

В качестве специального метода исследования использовали метод ИК-спектrophотометрии, основанный на измерении частотных характеристик молекул сухого органического вещества — пузырной желчи и ЖК — при поглощении их электромагнитными волнами в ИК-диапазоне. В качестве материала исследования послужили камни желчного пузыря и пузырная желчь 50 пациентов в возрасте 22–73 года. Для сравнения использовалась пузырная желчь (порция В), забранная при дуоденальном зондировании у 12 молодых мужчин в возрасте 20–32 года без заболеваний желчновыделительной системы. Отсутствие воспалительных изменений желчи подтверждали оригинальным способом с использованием метода клиновидной дегидратации [9].

Пузырную желчь (желчные камни) в объеме 10 мл высушивали в чашке Петри при комнатной температуре в течение 48 ч, сухой остаток подвергали вибрационному размельчению. Из полученной массы готовили суспензию в вазелиновом масле, после чего проводили ИК-спектrophотометрический анализ.

Регистрация спектров поглощения выполнялась на приборах Specord 75 IR и Specord 80 IR (ф. Carl Zeiss, Германия) с фотометрической погрешностью 0,2%. Графическая регистрация исследования представляла собой двумерное изображение, где ось абсцисс — длина волны (см^{-1}), ось ординат — поглощение вещества (%). ИК-спектр анализировался по полосам поглощения с максимальным значением при длине волны 1080 см^{-1} (общий билирубин в вазелиновом масле) (рис. 1) и 1040 м^{-1} (холестерин в вазелиновом масле) (рис. 2), которые идентифицировались по эталонным образцам. В отличие от результатов исследований С.Н. Крутикова, В.И. Окулова (1991) и А.М. Ногаллера с соавт. (1986) [2, 5], мы считаем вышеуказанные полосы поглощения интегральными характеристиками содержания билирубина и холестерина как в желчи, так и в желчных камнях.

Коэффициент соотношения показателей поглощения билирубин/холестерин высчитывался делением значения высоты пика поглощения при 1080 см^{-1} на значение высоты пика поглощения при 1040 см^{-1} .

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica for Windows' 99. Указывали число объектов исследования (n), медиану (Me), минимальное и максимальное значение признака, интерквартильный размах (ИКР — значения 25-го и 75-го перцентилей). Использовали методы непараметрической статистики с соответствующими критериями значимости [10].

Результаты и обсуждение. При определении состава ЖК после плановой холецистэктомии по поводу ЖКБ выявлено, что холестериновые камни встречаются у 351 пациента (83,7%), билирубиновые — у 49 (16,3%). Холестериновые камни были одиночными (овоидной формы, размерами от 0,6 до 2 см) у 38 человек (12,7%) и множественными (строго равных размеров, от 0,2 до 1 см в диаметре и числом от 3 до 100) у 213 человек (71%).

Билирубиновые камни были также двух видов: одиночные (овоидной формы, от 1 до 1,5 см в комбинации с множественными мелкими пигментными, диаметром 0,2–3 см) у 8 человек (2,7%) и множественные (мелкие, равного размера от 0,2 до 1 см, нередко с гладкими «фасеточными» краями, числом от 8 до 100) — у 41 человека (13,6%).

При сравнении показателей поглощения компонентов пузырной желчи в ИК-спектре у пациентов с холестериновыми (n=30) и билирубиновыми (n=20) камнями (табл. 1) различий в относительном содержании холестерина не выявлено (Манна–Уитни, $p=1,0$) в отличие от результатов D. Jungst с соавт., показавших, что индекс насыщения холестерином выше у больных с холестериновыми ЖК [3]. При этом относительное содержание холестерина пузырной желчи у пациентов контрольной группы значительно меньше (Манна–Уитни, $p=0,0001$), чем в группах с холестериновыми и билирубиновыми камнями, что совпадает с расчетными показателями Е.Б. Выгоднера и соавт. [1].

По относительному содержанию билирубина в желчи все три сравниваемые группы относятся к разным

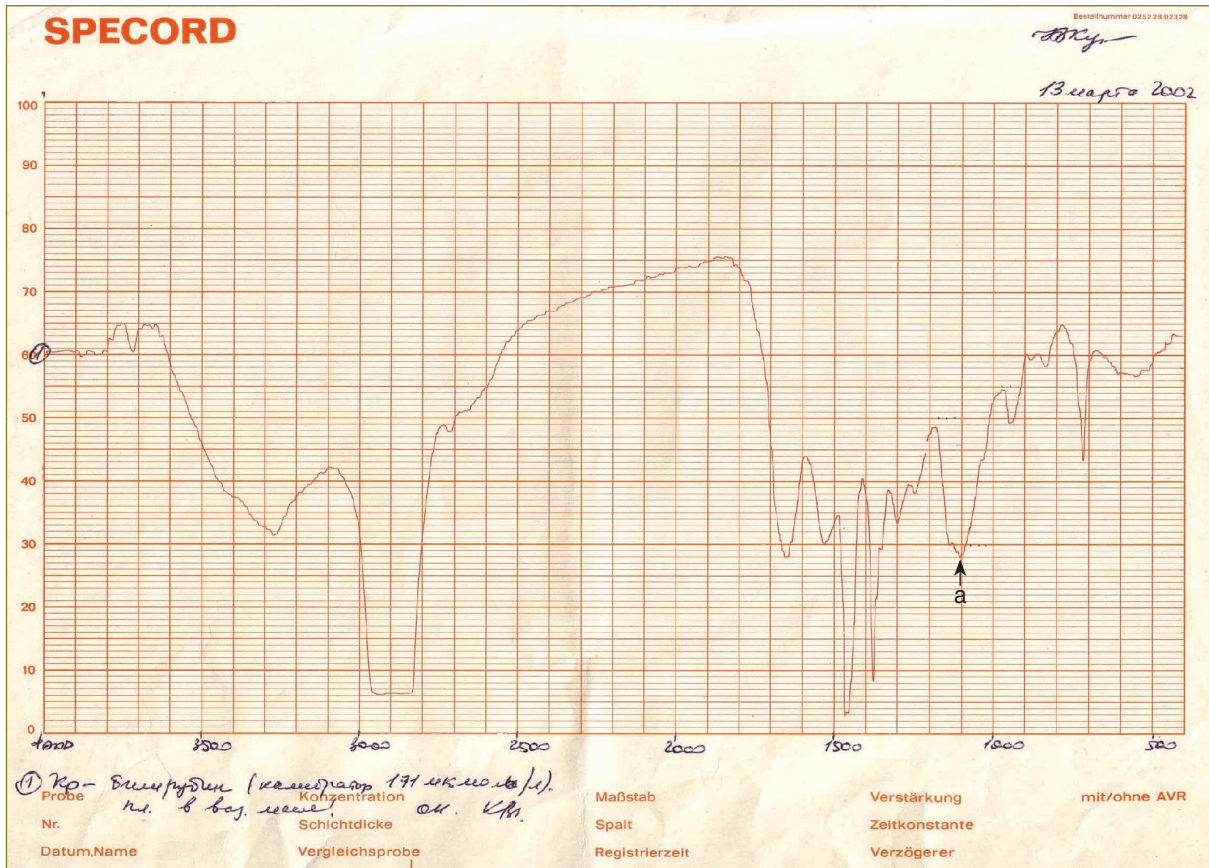


Рис. 1. ИК-спектрограмма эталонного образца билирубина: а — пик поглощения билирубина

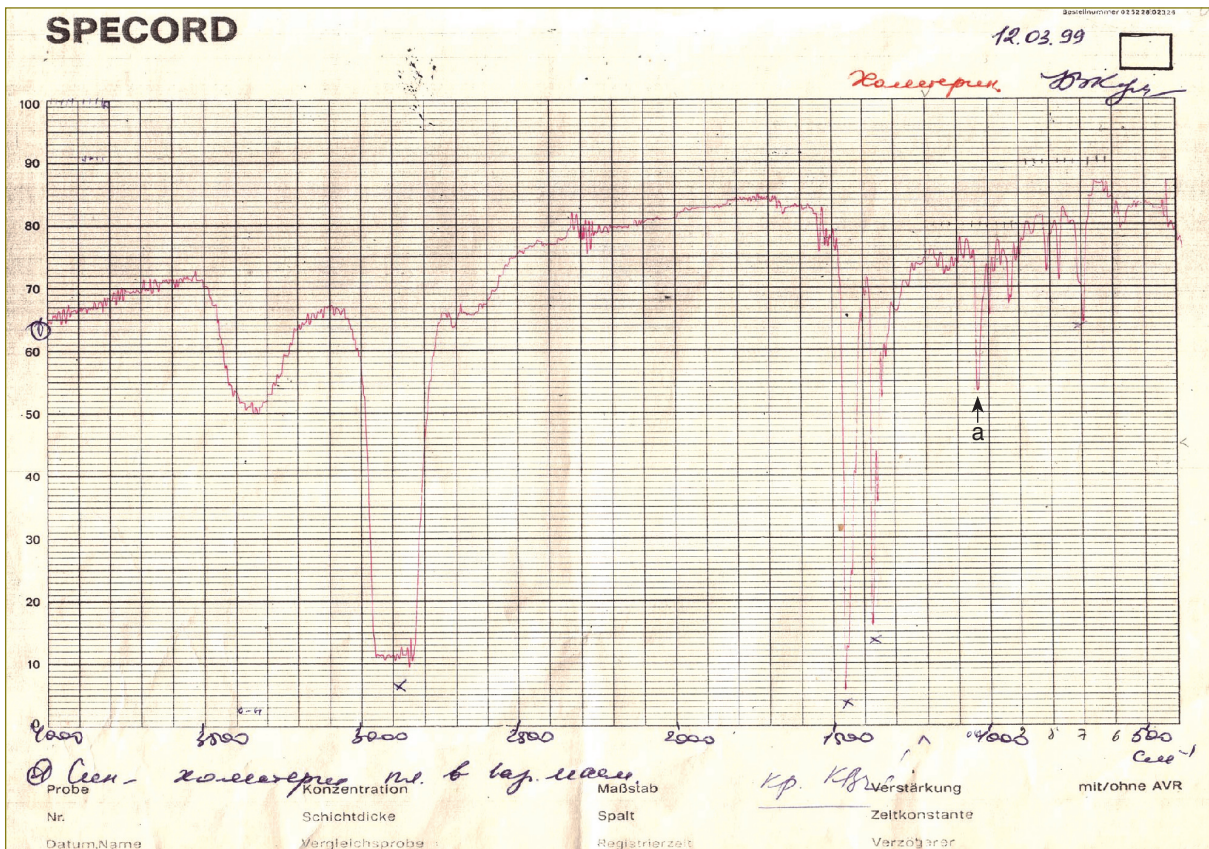


Рис. 2. ИК-спектрограмма эталонного образца холестерина: а — пик поглощения холестерина

Таблица 1

Показатели поглощения холестерина и билирубина при ИК-спектрометрии пузырной желчи пациентов с ЖКБ и в контрольной группе

Вид желчных камней	Холестерин (поглощение), %			Билирубин (поглощение), %		
	Me	Min-max	ИКР	Me	Min-max	ИКР
Холестериновые (n=30)	72	62-88	66-82	22	14-38	18-34
Билирубиновые (n=20)	70	58-89	62-84	34	21-46	28-42
Контроль (n=12)	33	21-45	26-38	26	15-42	20-33

генеральным совокупностям (ANOVA по Крускала–Уоллису, $p=0,0001$).

Исследования показали, что необходимым условием камнеобразования всех видов конкрементов желчного пузыря (билирубиновых и холестериновых) является перенасыщение желчи холестерином. Минимальный показатель поглощения в ИК-диапазоне холестерина в пузырной желчи, при котором желчь имеет литогенные свойства, — 58%.

Относительное содержание общего билирубина желчи у здоровых лиц и у пациентов с холестериновыми ЖК не имеет достоверных различий (Манна–Уитни, $p=0,91$), у пациентов с билирубиновыми ЖК (Me=34%) оно статистически значимо (Манна–Уитни, $p=0,028$) выше, чем у пациентов с холестериновыми ЖК (Me=22%).

Обнаружена также корреляция между относительным содержанием холестерина и билирубина в желчи и камне при ЖКБ ($p=1,0$).

При сравнительном анализе субстратов холестериновых и билирубиновых ЖК (желчь–желчь, камень–камень) (табл. 2) коэффициенты соотношения поглощений билирубин/холестерин для желчи (Манна–Уитни, $p=0,012$) и для камней (Манна–Уитни, $p=0,01$) имеют статистически значимые различия.

Учитывая результаты расчетной методики соотношения поглощения билирубина и холестерина в желчи и ЖК в ИК-спектре, полагаем, что у больных желчнокаменной болезнью при оценке состава конкремента значение конкремента $<0,25$ соответствует холесте-

риновым желчным камням, а $>0,25$ — билирубиновым желчным камням. В отличие от результатов исследования В.А. Тарасова [4] мы выявили более высокий уровень содержания билирубина как в холестериновых, так и в билирубиновых ЖК, что, возможно, связано с определением нами общего количества билирубина в структуре конкремента.

Заключение. При желчнокаменной болезни холестериновые желчные камни встречаются у 83,7% пациентов, билирубиновые — у 16,3%. Основным условием образования как холестериновых, так и билирубиновых конкрементов желчного пузыря является перенасыщение желчи холестерином при ИК-показателе поглощения холестерина желчи более 58%. Относительное содержание общего билирубина желчи у пациентов с билирубиновыми камнями (среднее значение показателя поглощения в ИК-спектре — 34%) статистически значимо выше, чем у пациентов с холестериновыми камнями. При оценке состава конкремента методом ИК-спектрометрии расчетному коэффициенту соотношения показателей поглощения билирубин/холестерин $<0,25$ соответствует холестериновый состав желчных камней, а $>0,25$ — билирубиновый состав. Выявление особенностей литогенеза имеет важное значение в выборе лечебной тактики при желчнокаменной болезни.

Литература

1. Выгоднер Е.Б., Куликов А.Г., Петропавловская Л.В. Изменение микроэлементов, простагландинов, циклических нуклеотидов желчи у больных в ранние сроки после холецистэктомии. Терапевтический архив 1989; 2: 55–58.
2. Ногаллер А.М., Иванченкова Р.А., Дорджин Г.С., Китаева Т.И. Состав желчи и желчных камней у больных холелитиазом при спектрофотометрии и дериватографии. Клиническая медицина 1986; 2: 17–24.
3. Jungst D., Del Pozo R., Christoph S. et al. Sedimentation of biliary sludge: effect on composition of gallbladder bile from patients with cholesterol, mixed, or pigment stones. Scand J Gastroenterol 1996; 31(3): 273–278.
4. Тарасов В.А. Патогенез и хирургическое лечение холелитиаза. Дис. ... докт. мед. наук. Л.; 1990.
5. Крутиков С.Н., Окулов В.И. Использование инфракрасной спектрофотометрии желчи для диагностики ЖКБ и прогнозирования химического состава конкрементов. Клиническая медицина 1991; 2: 3–5.
6. Максимов В.А., Чернышов А.Л., Тарасов К.М. Дуоденальное исследование. М: Медицинская газета; 1998; 192 с.
7. Loginov A.S., Chebanov S.M., Petrakov A.V. et al. Investigation of cholesterol, bilirubin and protein distribution in human gallstones by color cathodoluminescence scanning electron microscopy and transmission electron microscopy. Scanning 1998; 20(1): 17–22.
8. Abe A., Tsuchiya Y., Sugiura N. et al. Ultrastructure of cholest-

Таблица 2

Соотношение показателей поглощения билирубин/холестерин в ИК-спектре пузырной желчи и желчных камней у больных ЖКБ и в контрольной группе

Вид желчных камней	Субстрат	Коэффициент соотношения показателей поглощения билирубин/холестерин		
		Me	Min-max	ИКР
Холестериновые (n=30)	Желчь	0,145	0,06–0,18	0,13–0,15
	Камень	0,16	0,12–0,25	0,14–0,19
Билирубиновые (n=20)	Желчь	0,32	0,25–0,52	0,28–0,40
	Камень	0,34	0,26–0,59	0,30–0,38
Контроль (n=12)	Желчь	0,14	0,08–0,20	0,12–0,16
	Камень	—	—	—

terol gallstones as observed by electron microscopy after freeze-fracturing. *Tissue Cell* 1997; 29(2): 191–197.

9. Потехина Ю.П., Зубеев П.С., Страхов А.В., Бузоверя М.Э., Щербак Ю.П. Способ диагностики обострения хронического холецистита. Патент на изобретение РФ №2197728. 2003.

10. Гельман В.Я. Медицинская информатика. СПб: Питер; 2002; 480 с.

References

1. Vygodner E.B., Kulikov A.G., Petropavlovskaya L.V. *Ter Arh — Therapeutic Archive* 1989; 2: 55–58.

2. Nogaller A.M., Ivanchenkova R.A., Dordzhin G.S., Kitaeva T.I. *Klin Med — Clinical Medicine* 1986; 2: 17–24.

3. Jungst D., Del Pozo R., Christoph S. et al. Sedimentation of biliary sludge: effect on composition of gallbladder bile from patients with cholesterol, mixed, or pigment stones. *Scand J Gastroenterol* 1996; 31(3): 273–278.

4. Tarasov V.A. *Patogenez i khirurgicheskoe lechenie kholelitiaza*. Dis. ... dokt. med. nauk [Pathogenesis and surgical treatment of

cholelithiasis. Dissertation for the degree of Doctor of Medical Science]. Leningrad; 1990.

5. Krutikov S.N. *Klin Med — Clinical Medicine* 1991; 2: 3–5.

6. Maksimov V.A., Chernyshov A.L., Tarasov K.M. *Duodenal'noe issledovanie* [Duodenal examination]. Moscow: Meditsinskaya gazeta; 1998; 192 p.

7. Loginov A.S., Chebanov S.M., Petrakov A.V. et al. Investigation of cholesterol, bilirubin and protein distribution in human gallstones by color cathodoluminescence scanning electron microscopy and transmission electron microscopy. *Scanning* 1998; 20(1): 17–22.

8. Abe A., Tsuchiya Y., Sugiura N. et al. Ultrastructure of cholesterol gallstones as observed by electron microscopy after freeze-fracturing. *Tissue Cell* 1997; 29(2): 191–197.

9. Potekhina Yu.P., Zubeev P.S., Strakhov A.V., Buzoverya M.E., Shcherbak Yu.P. *Sposob diagnostiki obostreniya khronicheskogo kholestistita* [Diagnostic technique of chronic cholecystitis exacerbation]. Patent na izobretenie RF No.2197728. 2003 [Patent for invention RF No.2197728. 2003].

10. Gel'man V.Ya. *Meditsinskaya informatika* [Medical information technology]. Saint Petersburg: Piter; 2002; 480 p.