

КАРБОНАТЫ КАЛЬЦИЯ В ХОЛЕЛИТАХ

Машина Екатерина Валерьевна,

мл. науч. сотр. лаборатории экспериментальной минералогии ИГ Коми НЦ УрО РАН, Россия, 167982, Республика Коми, г. Сыктывкар, ул. Первомайская, д. 54. E-mail: borovkova@geo.komisc.ru

Макеев Борис Александрович,

канд. геол.-минерал. наук, науч. сотр. лаборатории структурной и морфологической кристаллографии ИГ Коми НЦ УрО РАН, Россия, 167982, Республика Коми, г. Сыктывкар, ул. Первомайская, д. 54. E-mail: mak@geo.komisc.ru

Филиппов Василий Николаевич,

ст. науч. сотр. лаборатории экспериментальной минералогии ИГ Коми НЦ УрО РАН, Россия, 167982, Республика Коми, г. Сыктывкар, ул. Первомайская, д. 54. E-mail: borovkova@geo.komisc.ru

Актуальность работы. Карбонат кальция в виде трех его полиморфных модификаций: кальцита, арагонита и ватерита, помимо природных систем, встречается в составе патогенных биоминеральных агрегатов, таких как холелиты. Решение вопроса генезиса карбоната кальция в холелитах имеет не только медицинское практическое значение, но и представляет большой интерес с точки зрения минералогического изучения. Исследования морфологических особенностей, возможного изоморфизма, условий образования карбоната кальция в холелитах позволят сравнить его с аналогами минералов, встречающихся в природных объектах, и тем самым наметить общую картину биоминералогенезиса.

Цель работы: изучить распространенность, особенности химического состава и морфологии карбоната кальция в холелитах жителей Республики Коми.

Методы исследования: рентгеноструктурный анализ (Shimadzu XRD-6000), электронный микроскоп JSM 6400, оснащенный энергодисперсионным спектрометром «Link».

Результаты. Изучение 50 образцов холелитов рентгеноструктурным анализом показало, что в 39 из них фиксировался карбонат кальция различной модификации. При этом ватерит обнаружен в 74 % проанализированных карбонатсодержащих холелитов, в 38 % он присутствовал в качестве единственной полиморфной модификации. Одновременно три полиморфные модификации карбоната кальция были зафиксированы только в 10 % случаях. Исследование морфологических особенностей карбоната кальция методом РЭМ показало, что карбонаты визуализировались в виде пластинчатых кристаллов, зерен ромбодрической, конусовидной, шаровидной, радиально-лучистой, гантелеобразной и неправильной формы. В составе рассматриваемых карбонатов фиксируются элементы-примеси: магний, марганец, железо и кремний, содержание которых не превышает 2 мас. %.

Выводы. Установлено, что ватерит является самой распространенной полиморфной модификацией карбоната кальция в исследуемых холелитах.

Ключевые слова:

Холелиты, карбонат кальция, морфология, полиморфные модификации, примеси, генезис.

Введение

Карбонаты кальция биогенного происхождения, как в природных условиях, так и в организме человека, присутствуют в виде трех полиморфных модификаций: кальцита, арагонита и ватерита. В отличие от кальцита и арагонита, ватерит мало распространен в природных минеральных системах. Однако в организме человека в составе патогенных конкрементов, таких как холелиты, обычно встречается ватерит [1, 2]. Спорадически попадают желчные камни, содержащие одновременно три модификации карбоната кальция и еще реже чисто карбонатные камни. Карбонатные камни чаще обнаруживают у детей, чем у взрослых [3]. Процессы осаждения карбоната кальция в биологических средах, в том числе и в желчной системе, весьма сложны, в них постоянно происходят изменения условий, что представляет собой неравновесную систему. Решение вопроса генезиса карбо-

ната кальция в патогенных конкрементах имеет не только медицинское практическое значение, но и представляет большой интерес с точки зрения минералогического изучения. Исследования морфологических особенностей, возможного изоморфизма, условий образования карбоната кальция в холелитах позволят сравнить его с аналогами минералов, встречающихся в природных объектах, и тем самым наметить общую картину биоминералогенезиса. Кроме того, выяснение устойчивости ватерита в холелитах, возможно, даст ключ к факторам его неустойчивости в геологической среде.

Методы и подходы

В работе приводятся результаты исследований о частоте встречаемости карбоната кальция в холелитах жителей Республики Коми. Рассмотрены особенности химического состава и морфологии карбоната кальция. В качестве методов использо-

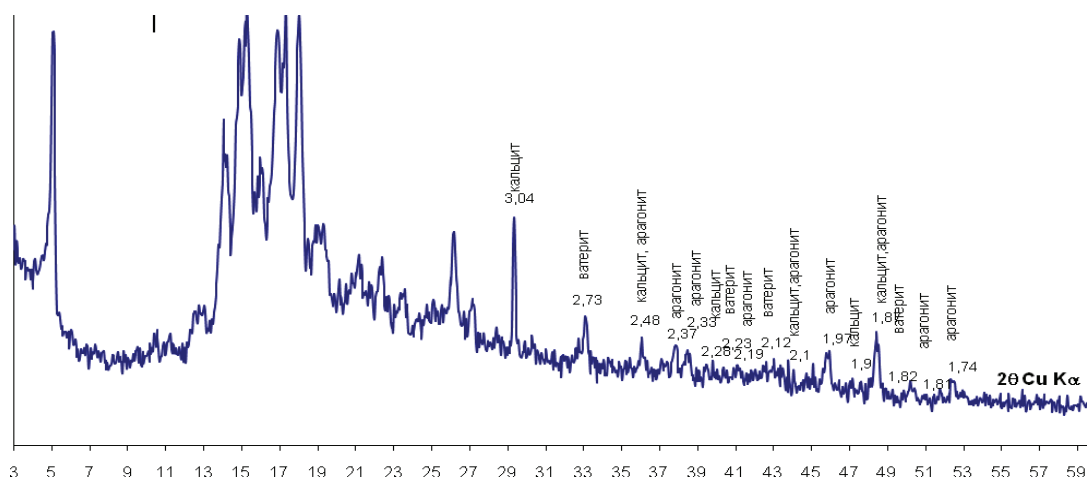


Рис. 1. Рентгенограмма холестеринового камня, содержащего три полиморфные модификации карбоната кальция: кальцит, арагонит и ватерит

Fig. 1. X-ray diagram of cholesterol stone containing three polymorphic modifications of calcium carbonate: calcite, aragonite and vaterite

вались рентгеноструктурный анализ (Shimadzu XRD-6000) и электронный микроскоп JSM 6400, оснащенный энергодисперсионным спектрометром «Link».

Результаты и обсуждение

На полученных рентгеновских дифрактограммах в 39 образцах из 50 фиксировался карбонат кальция различной модификации. При этом ватерит, арагонит, кальцит обнаружены в 74, 33, 33 % случаях соответственно, где в 38 % камней ватерит присутствовал в качестве единственной полиморфной модификации. Одновременно три полиморфные модификации карбоната кальция были зафиксированы только в 10 % случаях (рис. 1).

Рассчитаны параметры элементарной ячейки арагонита, кальцита и ватерита, которые приведены в таблице. Для ватерита значение параметра *a* меньше эталонного значения [4], это прослеживается также у Ф.В. Зузук [5] и Ю.А. Ефимова и др. [6]. Уменьшение параметра *a* может объясняться вхождением различных примесей в позицию кальция. Считается, что вхождение элементов-примесей неорганических ионов в структуру биогенных карбонатов носит сложный характер, зависящий от «биогенного фракционирования» [7]. Такие процессы в одних случаях могут стимулировать

вхождение примесей в карбонаты кальция, в других – тормозить их вхождение.

Исследование морфологических особенностей карбоната кальция было проведено в 5 образцах (1 пигментный и 4 холестериновых желчных конкремента). В холестериновых холелитах карбонаты кальция встречались в виде пластинчатых кристаллов, зерен ромбоэдрической (6 мкм), конусовидной (5 мкм), шаровидной (от 1 до 12 мкм), радиально-лучистой (15 мкм), гантелеобразной (30 мкм) и неправильной формы (рис. 2, а–ж).

В периферийной области одного из камней прослеживалась карбонатная зона, из которой наблюдался рост пластинчатого кристалла карбоната кальция размером 20 мкм (рис. 3, а, б). При этом на РЭМ снимках отчетливо прослеживалось, что данная зона по морфологии отличается от переслаивающегося с ней кристаллического холестерина и имеет гранулированный вид. В пигментном камне карбонаты кальция наблюдались в виде пластинчатых кристаллов порядка 3 мкм и зерен неправильной формы около 12 мкм. Также в образце выявлены карбонаты кальция и магния (биодоломит) размером 30 мкм, имеющие ромбоэдрический облик (рис. 2, з). В холестериновых камнях в составе карбоната кальция обнаружены элементы-примеси (мас. %): магний (0,72–1,54), марганец (0,33–2,08) и железо (2,22), в

Таблица. Параметры элементарной ячейки карбоната кальция в холелитах

Table. Parameters of calcium carbonate space unit in gallstones

Объект Object	Параметры элементарной ячейки, Å Parameters of a space unit, Å							Автор Author
	кальцит/calcite		арагонит/argonite			ватерит/vaterite		
	<i>a</i>	<i>c</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>a</i>	<i>c</i>	
Холелиты Gallstones	4,963–4,990	17,03–17,09	4,95	7,96	5,73	7,116–7,148	16,867–16,961	[5]
	4,989	17,061	4,962	7,96	5,74	7,147	16,917	[6]
	5,00	17,04	4,966	7,96	5,73	7,130–7,149	16,84–16,98	Наши данные Authors' data
Стандартное значение Standard value	4,991	17,06	4,95	7,96	5,74	7,151	16,935	[4]

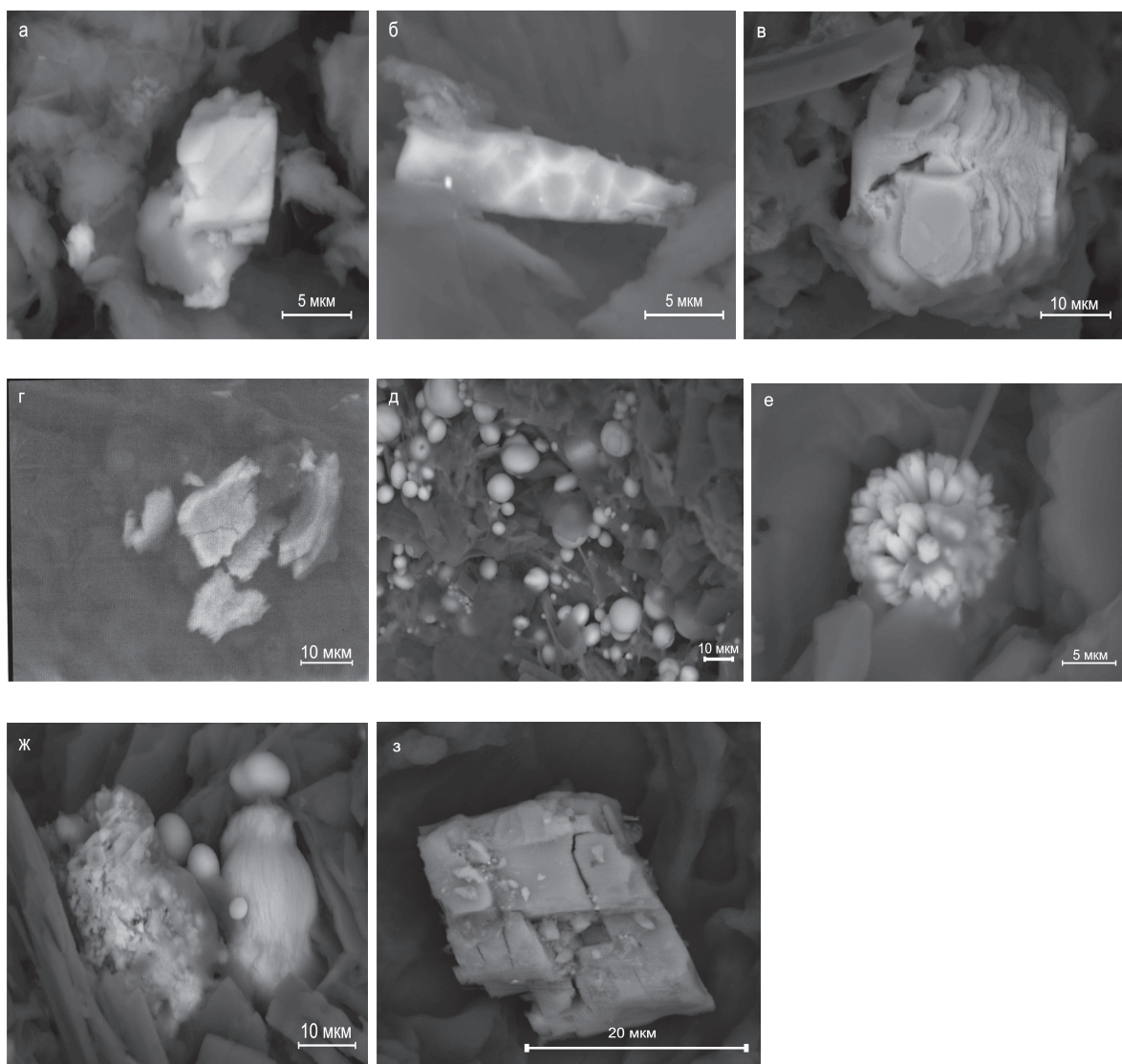


Рис. 2. Карбонаты кальция различной морфологии: ромбоэдрическая (а, з); конусовидная (б); пластинчатая (в, г); шарообразная (д); радиально-лучистая (е); гантелеобразная, неправильной формы (ж). РЭМ изображения – в упруго-отраженных электронах

Fig. 2. Calcium carbonates with different morphology: rhombohedral (a, z); cone-shaped (б); lamellar (в, г); spheric (д); radial fibrous (е); dumbbell, irregular (ж). SEM-images are in elastic backscattered electrons

пигментом холелите – кремний (0,53–1,89). В составе рассматриваемых карбонатов также фиксируются сера, фосфор, иногда хлор. Присутствие серы, вероятно, связано с белками и мукополисахаридами, а фосфора – с фосфолипидами. Сообщается, что кристаллические индивиды в желчных камнях отделены друг от друга прослойками органического вещества, в состав которого входит холевая кислота, белковые вещества и фосфолипиды [8].

На генезис карбоната кальция в желчных камнях существуют различные точки зрения. Так, по мнению [9], количество солей кальция в виде бикарбонатов всегда увеличивается при всех застойных и воспалительных явлениях в желчных протоках и желчном пузыре. Указывается, что повышенный уровень CO_2 в общем желчном протоке

также может способствовать образованию карбоната кальция в желчных камнях [10]. В детском возрасте появление карбонатных камней связывают с обструкцией пузырного протока, что способствует стимулированию секреции муцина (гликопротеин) с последующим осаждением карбоната кальция [3]. Известно, что в норме муцин постоянно секретруется слизистой желчного пузыря, однако отмечена его повышенная концентрация в литогенной желчи [11]. Сам муцин упакован в литогенные гранулы, содержащие высокие концентрации кальция. Механизм упаковки муцина в гранулах пока неизвестен [12]. Китайские исследователи предполагают, что инфекция *Clonorchis sinensis* способствует формированию карбоната кальция в холелитах [13]. Между тем считается,

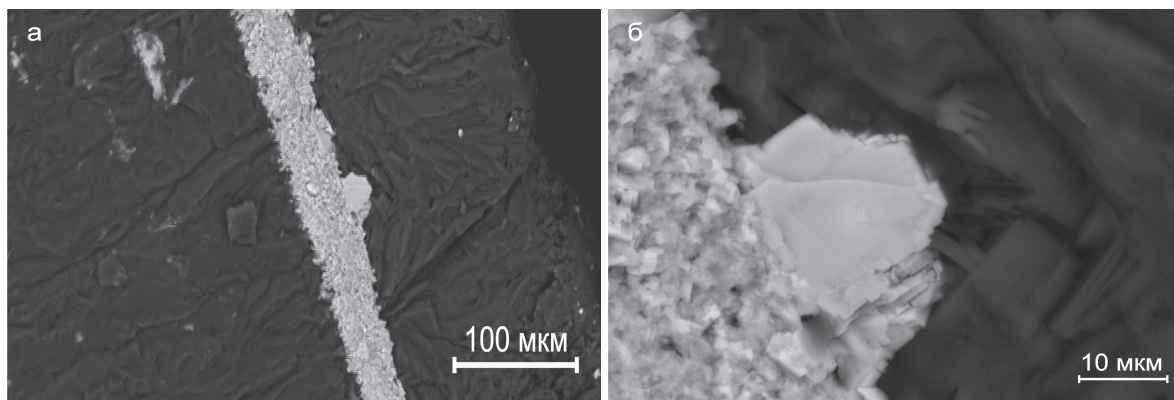


Рис. 3. РЭМ изображение фрагмента периферийной части холелита; светлая полоса на снимке – карбонатная зона (увеличенное изображение) (а), на котором виден пластинчатый кристалл карбоната кальция (б)

Fig. 3. SEM-images of a fragment of a gallstone periphery part; a light stripe is a magnified image of a carbonate zone (a) with a lamellar crystal of calcium carbonate (b)

что микроорганизмы вызывают не только повышение секреции муцина, но и могут быть центрами зарождения желчных конкрементов [14].

Результаты наших исследований подтверждают данные [1, 2], что ватерит является преобладающей модификацией карбоната в желчных камнях. Чем может быть обусловлена такая устойчивость ватерита в холелитах, пока точно не установлено. Экспериментально показано, что кристаллический холестерин представляет собой нерастворимую подложку, которая обуславливает гетерогенное зарождение ватерита [15]. Изучение различных зон двух образцов холелитов показало, что повышенное содержание железа фиксируется в составе ватерита [1]. Согласно [16], аминокислоты, являющиеся главными составляющими протеинов желчи, стабилизируют ватерит. Проведенные опыты показали, что присутствие в системе L-Cys формирует пластинчатый кальцит, а L-Тур, DL-Асп и L-Лус – ватерит сферической формы. Здесь следует отметить, что ватерит сферической формы может образовываться в результате бактериальной деятельности [17]. В модельных системах по кристаллизации карбонатов [18] присутствие аспарагиновой кислоты и холестерина стимулирует осаждение ватерита. Авторы [19], изучившие желчные конкременты, пришли к выводу, что центры кам-

ней представлены комплексом фибриллярных белков с желчными пигментами, фосфатами и карбонатами кальция. Помимо этого, в холестериновых холелитах обнаружили белки с различной молекулярной массой, причем белки с низкой молекулярной массой (менее 10 кДа) ингибировали осаждение карбоната кальция в пробирке [20]. Так или иначе, причины избирательной кристаллизации той или иной полиморфной модификации карбоната кальция в процессе патогенной минерализации носит сложный характер и во многом определяется спецификой среды образования.

Выводы

Таким образом, в результате проведенных исследований удалось установить, что карбонаты в исследуемых холелитах представлены кальцитом, арагонитом и ватеритом, из которых ватерит является самой распространенной полиморфной модификацией. В качестве примеси в карбонатах кальция присутствуют магний, марганец, железо и кремний. Морфология карбонатов кальция многообразна, от хорошо окристаллизованных ромбоэдрических зерен до весьма причудливых.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы фундаментальных исследований РАН (проект № 12-П-5-1011).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Palchik N.A., Moroz T.N. Polymorph modification of calcium carbonate in gallstone // *Crystal Growth*. – 2005. – V. 283. – № 3–4. – P. 450–456.
2. Sutor D.J. The composition of gallstones // *Hepatology*. – 1979. – V. 4. – P. 19–29.
3. Calcium carbonate gallstones in children / M.D. Stringer, R.D. Soloway, D.R. Taylor, K. Riyad, G. Toogood // *Pediatric Surgery*. – 2007. – V. 42. – № 10. – P. 1677–1682.
4. Кристаллографическая и кристаллохимическая база данных для минералов и их структурных аналогов. URL: <http://database.iem.ac.ru/mincryst> (дата обращения: 10.09.2014).
5. Зузук Ф.В. Мінералогія уролітів. Мінеральний та хімічний склад уролітів. – Луцьк: РВВ «Вежа» Волин. держ. ун-ту ім. Лесі Українки, 2003. – Т. 2. – 508 с.
6. Рентгенография желчных камней / Ю.А. Ефимова, Г.М. Кузьмичева, Е.А. Никитина, С.В. Орлова // *Вопросы биологической медицинской и фармацевтической химии*. – 2005. – № 2. – С. 36–49.
7. Фейцгер Я. Элементы-примеси и изотопы в осадочных карбонатах // *Карбонаты: Минералогия и химия*. – М.: Мир, 1987. – С. 329–370.
8. Кораго А.А. Введение в биоминералогию. – СПб: Недра, 1992. – 279 с.

9. Хирургия печени и желчевыводящих путей / А.А. Шалимов, С.А. Шалимов, М.Е. Ничитайло, Б.В. Доманский. – Киев: Здоровье, 1993. – 512 с.
10. Sutor D.J., Wilkie L.I. Calcium carbonate in human gallstones total CO₂ in bile // *Gut*. – 1978. – V. 19. – P. 220–224.
11. Желчнокаменная болезнь / С.А. Дадвани, П.С. Ветшев, А.М. Шулушко, М.И. Прудков. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 176 с.
12. Железная Л.А. Муцины – новый подкласс гликопротеинов // *Успехи биологической химии*. – 1997. – Т. 37. – С. 115–147.
13. Clonorchis sinensis eggs are associated with calcium carbonate gallbladder stones / Tie Qiao, Rui-hong Ma, Zhen-liang Luo, Liu-qing Yang, Xiao-bing Luoc, Pei-ming Zheng // *Acta Tropica*. – 2014. – V. 138. – P. 28–37.
14. Галеев М.А., Тимербулатов В.М. Желчнокаменная болезнь и холецистит. – Уфа: БГМУ, 1997. – 219 с.
15. Kanakis J., Dalas E. The crystallization of vaterite on fibrin // *Crystal Growth*. – 2000. – V. 219. – P. 277–282.
16. Crystal growth of calcium carbonate with various morphologies in different amino acid systems / A.J. Xie, Y.H. Shen, C.Y. Zhang, Z.W. Yuan, X.M. Zhu, Y.M. Yang // *Crystal Growth*. – 2005. – V. 285. – № 3. – P. 436–443.
17. Biomineralization induced by Myxobacteria / C. Jimenez-Lopez, F. Jroundi, M. Rodriguez-Gallego, J.M. Arias, M.T. Gonzalez-Muñoz // *Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology*. – 2007. – V. 1. – P. 143–154.
18. Франке В.Д., Бочаров С.Н., Трушина Ю.М. Влияние желатина и аспарагиновой кислоты на морфологию кристаллов карбоната кальция // *Минералогическая интервенция в микро- и макромире. Международный минералогический семинар*. – Сыктывкар, 2009. – С. 504–505.
19. Been J.M., Bills P.M., Lewis D. Microstructure of gallstones // *Gastroenterology*. – 1979. – V. 76. – № 3. – P. 548–556.
20. Isolation of an acidic protein from cholesterol gallstones, which inhibits the precipitation of calcium carbonate in vitro / S. Shimizu, B. Sabsay, A. Veis, J. Ostrow, R. Rege, L. Dawes // *Clinical Investigation* – 1989. – V. 84. – P. 1990–1996.

Поступила 17.09.2014 г.

UDC 549 + 548.5:612.357.64

CALCIUM CARBONATES IN GALLSTONES

Ekaterina V. Mashina,

IG Komi Science Centre, 54, Pervomaychkaya street, Syktyvkar, Republic of Komi, 167982, Russia. E-mail: borovkova@geo.komisc.ru

Boris A. Makeev,

Cand. Sc., IG Komi Science Centre, 54, Pervomaychkaya street, Syktyvkar, Republic of Komi, 167982, Russia. E-mail: mak@geo.komisc.ru

Vasily N. Filippov,

IG Komi Science Centre, 54, Pervomaychkaya street, Syktyvkar, Republic of Komi, 167982, Russia. E-mail: borovkova@geo.komisc.ru

Relevance of the research. Calcium carbonate, in the form of its three polymorphs: calcite, aragonite and vaterite, is included, beside natural systems, in composition of pathogenic biomineral aggregates, such as gallstones. The solution of the problem with calcium carbonate genesis in gallstones is not only of medical practical value, but it is also of a great interest from the point of view of mineralogical study. The study of morphological features, possible isomorphism, formation conditions of calcium carbonate in gallstones will allow comparing it with mineral analogues in natural objects, and thus, outlining the pattern of biomineral genesis.

The aim of research is to study the distribution, the features of chemical composition and morphology of calcium carbonate in the gallstones of inhabitants of Komi Republic.

Methods of research: X-Ray structural analysis (Shimadzu XRD-6000), electron microscope JSM 6400 with energy-dispersive spectrometer «Link».

Results. The study of 50 gallstones samples by X-ray structural analysis showed that 39 samples contained calcium carbonate of various modifications. Vaterite was detected in 74 % of the analyzed carbonate-containing gallstones and in 38 % of samples vaterite was as the only polymorph. Simultaneously three polymorphs of calcium carbonate were determined only in 10 %. The REM study of morphological features of calcium carbonate showed that the carbonates were visualized as lamellar crystals, rhombohedral, conical, dumbbell and irregular grains. The carbonates under study contain the admixtures: magnesium, manganese, iron and silicon, which content is less than 2 wt. %.

Conclusions. It was determined that vaterite is the dominant polymorph carbonate calcium in the studied gallstones.

Key words:

Gallstones, calcium carbonate, morphology, polymorphic modifications, admixtures, genesis.

The research was financially supported by the program of fundamental researches of the Russian Academy of Sciences (project no. 12-II-5-1011).

REFERENCES

1. Palchik N.A., Moroz T.N. Polymorph modification of calcium carbonate in gallstone. *Crystal Growth*, 2005, vol. 283. no. 3–4, pp. 450–456.
2. Sutor D.J. The composition of gallstones. *Hepatology*, 1979, vol. 4, pp. 19–29.
3. Stringer M.D., Soloway R.D., Taylor D.R., Riyad K., Toogood G. Calcium carbonate gallstones in children. *Pediatric Surgery*, 2007, vol. 42. no. 10, pp. 1677–1682.
4. *Kristallograficheskaya i kristallokhimicheskaya baza dannykh dlya mineralov i ikh strukturnykh analogov* [Crystallographic and crystal Database for minerals and their structural analogues]. Available at: <http://database.iem.ac.ru/mincryst> (accessed 10 September 2014).
5. Zuzuk F.V. *Mineralogiya urolitiv. Mineralny ta khimichny sklad urolitii* [Mineralogy of urinary stones. Mineral and chemical composition of urinary stones]. Lutsk, RVV «Vezha» Volin. derzh. un-tu im. Lesi Ukrainki Publ., 2003. No. 2, 508 p.
6. Efimova Yu.A., Kuzmicheva G.M., Nikitina E.A., Orlova S.V. Rentgenografiya zhelchnykh kamney [Radiography of gallstones]. *Voprosy biologicheskoy meditsinskoy i farmatsevticheskoy khimii*, 2005, no. 2, pp. 36–49.
7. Feytser Ya. Elementy-primesi i izotopy v osadochnykh karbonatakh [Trace elements and isotopes in sedimentary carbonates]. *Karbonaty: mineralogiya i khimiya* [Carbonates: mineralogy and chemistry]. Moscow, Mir Publ., 1987. pp. 329–370.
8. Korago A.A. *Vvedenie v biomineralogiyu* [Introduction to biomineralogy]. St. Petersburg, Nedra Publ., 1992. 279 p.
9. Shalimov A.A., Shalimov S.A., Nichitaylo M.E., Domansky B.V. *Khirurgiya pecheni i zhelchevyvodyashchikh putey* [Surgery of the liver and biliary tract]. Kiev, Zdorovye Publ., 1993. 512 p.
10. Sutor D.J., Wilkie L.I. Calcium carbonate in human gallstones total CO₂ in bile. *Gut*, 1978, vol. 19, pp. 220–224.
11. Dadvani S.A., Vetshev P.S., Shulutko A.M., Prudkov M.I. *Zhelchnokamennaya bolezn* [Cholelithiasis]. Moscow, GEOTAR-Media Publ., 2009. 176 p.
12. Zheleznaya L.A. Mutsiny – novy podklass glikoproteinov [Mucins is a new subclass of glycoproteins]. *Uspekhi biologicheskoy khimii*, 1997, no. 37, pp. 115–147.
13. Tie Qiao, Rui-hong Ma, Zhen-liang Luo, Liu-qing Yang, Xiao-bing Luoc, Pei-ming Zheng. Clonorcis sinensis eggs are associated with calcium carbonate gallbladder stones. *Acta Tropica*, 2014, vol. 138, pp. 28–37.
14. Galeev M.A., Timerbulatov V.M. *Zhelchnokamennaya bolezn i kholetsistit* [Cholelithiasis and cholecystitis]. Ufa, BGMU Publ., 1997. 219 p.
15. Kanakis J., Dalas E. The crystallization of vaterite on fibrin. *Crystal Growth*, 2000, vol. 219, pp. 277–282.
16. Xie A. J., Shen Y.H., Zhang C.Y., Yuan Z.W., Zhu X.M., Yang Y.M. Crystal growth of calcium carbonate with various morphologies in different amino acid systems. *Crystal Growth*, 2005, vol. 285, no. 3, pp. 436–443.
17. Jimenez-Lopez C., Jroundi F., Rodriguez-Gallego M., Arias J.M., Gonzalez-Muñoz M.T. Biomineralization induced by Myxobacteria. *Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology*, 2007, vol. 1, pp. 143–154.
18. Franke V.D., Bocharov S.N., Trushina Yu.M. Vliyanie zhelatina i asparaginovoy kisloty na morfologiyu kristallov karbonata kalt-siya [Effect of gelatin and aspartic acid on morphology of the calcium carbonate crystals]. *Mezhdunarodny mineralogicheskyy seminar «Mineralogicheskaya interventsiya v mikro- i nanomir»* [International Mineralogical Seminar. Mineralogical intervention in micro- and nanoworld]. Syktyvkar, 2009. pp. 504–505.
19. Been J.M., Bills P.M., Lewis D. Microstructure of gallstones. *Gastroenterology*, 1979, vol. 76, no. 3, pp. 548–556.
20. Shimizu S., Sabsay B., Veis A., Ostrow J., Rege R., Dawes L. Isolation of an acidic protein from cholesterol gallstones, which inhibits the precipitation of calcium carbonate in vitro. *Clinical Investigation*, 1989, vol. 84, pp. 1990–1996.

Received: 17 September 2014.