

<https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-198-2-54-63>

Особенности метаболизма желчных кислот у пациентов с желчнокаменной болезнью

Фоминых Ю. А.^{1,2}, Наджафова К. Н.¹, Родионов Г. Г.³, Шантырь И. И.³, Светкина Е. В.³, Горбачева И. А.²

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, 194100, ул. Литовская, д. 2, Россия

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6–8, Россия

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А. М. Никифорова» МЧС России, 197082, Санкт-Петербург, ул. Оптиков, д. 54, Россия

Для цитирования: Фоминых Ю. А., Наджафова К. Н., Родионов Г. Г., Шантырь И. И., Светкина Е. В., Горбачева И. А. Особенности метаболизма желчных кислот у пациентов с желчнокаменной болезнью. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2022;198(2): 54–63. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-198-2-54-63

✉ Для переписки:

Наджафова

Кямали Низамитдиновна
kyamalyok@yandex.ru

Фоминых Юлия Александровна, д.м.н., доцент; профессор кафедры факультетской терапии имени профессора В. А. Вальдмана; доцент кафедры внутренних болезней стоматологического факультета

Наджафова Кямали Низамитдиновна, ассистент кафедры факультетской терапии имени проф. В. А. Вальдмана

Родионов Геннадий Георгиевич, д.м.н., профессор кафедры терапии и интегративной медицины, заведующий научно-исследовательской лабораторией токсикологии и лекарственного мониторинга, ведущий научный сотрудник

Шантырь Игорь Игнатьевич, д.м.н., профессор, главный научный сотрудник, заведующий научно-исследовательским отделом биоиндикации

Светкина Екатерина Владимировна, врач клинической лабораторной диагностики, научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории токсикологии и лекарственного мониторинга

Горбачева Ирина Анатольевна, д.м.н., профессор, заведующая кафедрой внутренних болезней стоматологического факультета

Резюме

Несмотря на успехи медицины, проблема желчнокаменной болезни не теряет своей актуальности, распространенность заболевания постоянно растет, наблюдается его «омоложение». Ведущее место в патогенезе холелитиаза занимает избыток в желчи холестерина, недостаток желчных кислот и изменение их соотношения. Данная статья освещает роль желчных в отдельных звеньях метаболизма и особенности метаболизма желчных кислот при желчнокаменной болезни. В статье также приведены результаты оригинального исследования, в ходе которого были впервые одновременно определены уровни желчных кислот в плазме крови и в пузырной желчи пациентов с желчнокаменной болезнью методом хромато-масс-спектрометрии.

Ключевые слова: желчнокаменная болезнь, желчные кислоты, оригинальное исследование, хромато-масс-спектрометрия желчных кислот, плазма крови, пузырная желчь

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

<https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-198-2-54-63>

Features of bile acid metabolism in patients with cholelithiasis

Yu. A. Fominykh^{1,2}, K. N. Nadzhafova¹, G. G. Rodionov³, I. I. Shantyr³, E. V. Svetkina³, I. A. Gorbacheva²¹ Saint-Petersburg State Pediatric Medical University, 2, Litovskaya st., Saint Petersburg, 194100, Russia² Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, 6–8 L'va Tolstogo street, Saint Petersburg, 197022, Russia³ The Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, EMERCOM of Russia, 4/2 Akademika Lebedeva str., Saint Petersburg, 190044, Russia

For citation: Fominykh Yu. A., Nadzhafova K. N., Rodionov G. G., Shantyr I. I., Svetkina E. V., Gorbacheva I. A. Features of bile acid metabolism in patients with cholelithiasis. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2022;198(2): 54–63. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-198-2-54-63

Yuliya A. Fominykh, Doc of Sci, Associate Professor of internal diseases department; Professor of department of faculty therapy named after prof. V. A. Valdman; ORCID: 0000-0002-2436-3813

Kyamalya N. Nadzhafova, Member of teaching stuff of Department of faculty therapy named after prof. V. A. Valdman; ORCID: 0000-0002-8419-0272

Gennady G. Rodionov, Doc of Sci, Prof. of the Department of therapy and integrative medicine; Head of the Research laboratory of toxicology and drug monitoring, leading researcher; ORCID: 0000-0001-6237-7848

Igor I. Shantyr, Doc of Sci, Prof. Chief Researcher, Head of the Research department of bioindication; ORCID: 0000-0003-1840-5770

Ekaterina V. Svetkina, doctor of clinical laboratory diagnostics, a researcher at the Research laboratory of toxicology and drug monitoring; ORCID: 0000-0001-9540-5980

Irina A. Gorbacheva, Doctor of Science, MD, Professor, Head of internal diseases department of stomatological faculty

✉ *Corresponding author:*
Kyamalya N. Nadzhafova
kyamalyok@yandex.ru

Summary

Despite the success of medicine, the problem of cholelithiasis does not lose its relevance, the prevalence of the disease is constantly growing, it's "rejuvenation" is observed. The leading place in the pathogenesis of cholelithiasis is occupied by an excess of cholesterol in the bile, a lack of bile acids and a change in their ratio. This article discusses the role of bile acids in individual parts of the metabolism and the features of bile acid metabolism in cholelithiasis. The article also presents the results of an original study, during which the levels of bile acids in the blood plasma and in the cystic bile of patients with cholelithiasis were determined by chromatography-mass spectrometry.

Keywords: gallstone disease, bile acids, original research, chromatography-mass spectrometry of bile acids, blood plasma, cystic bile

Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest.

Введение

Желчнокаменная болезнь (ЖКБ) является одной из самых распространенных «болезней благополучия», которые В. Х. Василенко справедливо назвал «платой за долгую и счастливую жизнь». Распространенность ЖКБ демонстрирует постоянный рост и составляет в развитых странах 10–15% [1]. По прогнозам ВОЗ при сохранении современных темпов роста к 2050 году ЖКБ будет страдать 20% населения. В современном мире отмечается устойчивая тенденция к росту распространенности ЖКБ среди лиц молодого возраста. Уже не нонсенс выявление холелитиаза в детском возрасте с частотой около 5%. Также наблюдается изменение гендерного соотношения пациентов за счет увеличения количества заболевших мужчин. Если ранее соотношение женщин и мужчин составляло 5–6:1, то теперь оно составляет 2–3:1 [2]. Факторы риска и патогенез заболевания довольно хорошо изучены.

Однако некоторые аспекты метаболизма при ЖКБ по-прежнему вызывают дискуссии и требуют дальнейшего изучения. В нашей статье обсуждается роль различных желчных кислот (ЖК) и особенности их метаболизма при ЖКБ.

Как известно, желчь представляет собой сложную коллоидную систему, состоящую на 80% из воды, на 6% – из неорганических и на 14% – из органических компонентов. В сухом остатке желчи на долю холестерина приходится около 4%, фосфолипидов – 22%, желчных кислот – 67%, пигментов – 0,3–0,5%, белков – 4–5%. В настоящее время установлено, что обязательным условием камнеобразования является желчь, содержащая избыток холестерина и/или недостаток ЖК. ЖК являются основной составной частью желчи, на их долю приходится около 60% органических соединений желчи [3].

ЖК были открыты более 150 лет назад, с тех пор интерес к их роли в организме человека постоянно растет. Обусловлено это тем, что они вовлечены во многие физиологические процессы, нарушения которых способствует формированию широкого спектра гепатобилиарных и кишечных расстройств

[3]. Однако ЖК долго оставались малоизученными из-за методических трудностей количественного определения. Совершенствование методов исследования позволило получить новые сведения о ЖК, их метаболизме, энтерогепатической циркуляции, содержании в крови, тканях, желчи [4].

Роль желчных кислот в организме человека и некоторые аспекты их метаболизма

В желчи человека в основном содержатся холевая, дезоксихолевая и хенодезоксихолевая (ХДХК) кислоты, в небольшом количестве содержатся литохолевая кислота, а также аллохолевая и урсодезоксихолевая (УДХК) кислоты, являющиеся стереоизомерами холевой и ХДХК [3].

ЖК являются амфифильными соединениями, и на границе раздела двух сред их гидрофильная часть молекулы направлена в водную среду, а липофильная часть обращена в липидную среду. На этом основании их разделяют на гидрофобные и гидрофильные. К первой группе относятся холевая, дезоксихолевая и литохолевая, а ко второй – УДХК и ХДХК. Гидрофобные ЖК оказывают важные пищеварительные эффекты: участвуют в эмульсации жиров, стимуляции панкреатической липазы, образовании мицелл с жирными кислотами, также они стимулируют выход в желчь холестерина и фосфолипидов, снижают синтез альфа-интерферона в гепатоцитах, а также обладают выраженным детергентным свойством. Гидрофильные ЖК также обладают пищеварительными эффектами, при этом они снижают абсорбцию холестерина в кишечнике, его синтез в гепатоците и поступление в желчь. Кроме того, они уменьшают детергентное действие гидрофобных ЖК, стимулируют выработку альфа-интерферона гепатоцитами [3].

ЖК, синтезируемые из холестерина в печени, являются первичными. Вторичные ЖК образуются из первичных ЖК под влиянием кишечных бактерий. Третичные ЖК являются результатом модификации вторичных ЖК кишечной микрофлорой или гепатоцитами. Суммарное содержание

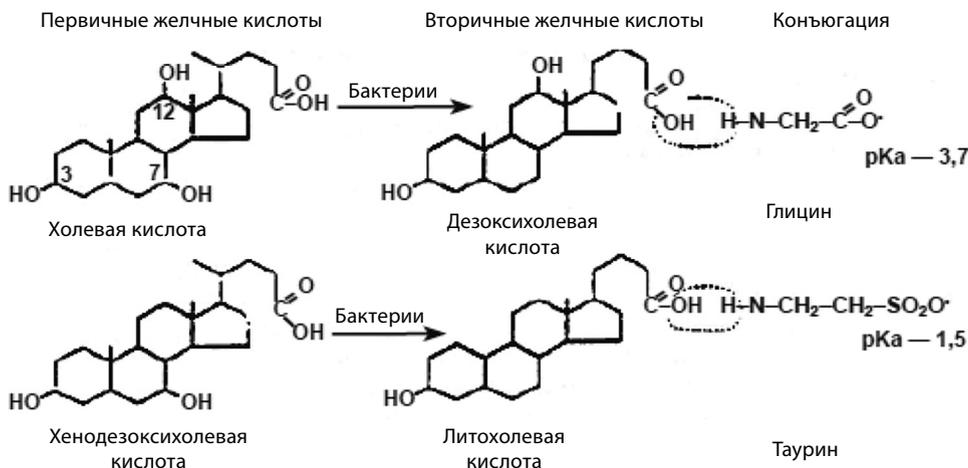
ЖК составляет: холевая – 35%, ХДХК – 35%, дезоксихолевая – 25%, УДХК – 4%, литохолевая – 1% [3]. В физиологических условиях свободные ЖК практически не встречаются и секретируются преимущественно в виде конъюгатов с глицином или таурином. При этом образуются гликохолевая, таурохолевая, а также гликохенодезоксихолевая и таурохенодезоксихолевая кислоты. (Рис. 1.) [5]

Именно ЖК ответственны за выполнение всех функций желчи, включающих элиминацию свободного и этерифицированного холестерина, гидрофобных метаболитов с молекулярной массой 300–500 Да, таких как билирубин и порфирины. Кроме того, ЖК способствуют выведению многих ксенобиотиков, лекарственных соединений и тяжелых металлов [5].

При приеме пищи желчь поступает в кишечник, и ЖК ускоряют липолизис и усиливают абсорбцию жирных кислот и моноглицеридов в тонкой кишке, где под воздействием липаз и при участии солей желчных кислот образуется эмульсия, состоящая из липоидно-желчных комплексов. Эти комплексы активно всасываются энтероцитами и там распадаются, при этом жирные кислоты и моноглицериды остаются в энтероците, а ЖК поступают обратно в просвет кишки и вновь принимают участие в обмене жиров. Такой механизм позволяет максимально эффективно использовать ЖК. ЖК влияя на синтез холестерина, при этом скорость синтеза холестерина в тонкой кишке зависит от концентрации желчных кислот в просвете кишечника [3].

Кроме того, ЖК участвуют в регуляции видового состава микробиома прямо и опосредованно, т.е. путем активации генов врожденного иммунного

Рисунок 1. Преобразования желчных кислот в энтерогепатическом цикле [10].



ответа в тонкой кишке [6]. Такие первичные ЖК, как холевая, таурохолевая и гликохолевая, могут стимулировать прорастание спор *C. difficile*, однако ХДХК может препятствовать их прорастанию [7]. Японские исследователи недавно доказали угнетающий эффект ЖК в отношении патогенных видов *Blautiacoc coides* и *Bacteroides thetaiotaomicron* [8].

Процесс желчеобразования непрерывен, за ночной период суток практически весь пул ЖК (около 4 г) находится в желчном пузыре. В то же время для нормального пищеварения в течении суток человеку необходимо 20–30 г ЖК. Это обеспечивается за счет энтерогепатической циркуляции ЖК. ЖК, синтезированные в гепатоците, через систему желчных протоков попадают в двенадцатиперстную кишку, где принимают активное участие в процессах метаболизма и всасывания жиров. Большая часть ЖК всасывается преимущественно в дистальных отделах тонкой кишки в кровь и через систему воротной вены вновь доставляется в печень, где реабсорбируются гепатоцитами и вновь выделяются с желчью, заканчивая энтерогепатический кругооборот. В зависимости от характера и количества принятой пищи количество энтерогепатических циклов в течение суток может достигать 5–10 [3].

С ЖК эффективно взаимодействует ряд рецепторов, рассмотрим немного подробнее роль некоторых из них. Фарнезоид-Х-рецептор (FXR) обнаружен в 1999 г. в ядрах энтероцитов подвздошной кишки. Впоследствии выяснилось, что связывание ЖК с этим рецептором активирует экспрессию гена фибробластного фактора роста (FGF 15/19), который в свою очередь, действуя на гепатоциты, репрессирует синтез ЖК, глюконеогенез, но активирует синтез белков и гликогена [9]. Являясь типичным ядерным рецептором, FXR при связывании с ЖК и/или их агонистами активирует транскрипцию специфических генов ДНК клеток-мишеней, что приводит к изменению метаболизма и функций этих клеток [10]. Метаболические эффекты FXR помимо печени и кишечника необходимы для регуляции функций сердечно-сосудистой системы, почек и поджелудочной железы. Многочисленные работы последних лет выявили ключевое значение нарушений функций FXR при ожирении [11], сердечно-сосудистой патологии [12], неалкогольной жировой болезни печени [13], метаболическом синдроме [14],

сахарном диабете 2-го типа [15]. Следует отметить, что FXR является многообещающей мишенью для фармакологических исследований по поиску лекарственных лигандов, способных направленно изменять экспрессию и регуляторную активность этого рецептора.

Сравнительно недавно в экспериментах на животных, а затем и при исследовании образцов органов и тканей людей были выявлены новые мембранные рецепторы, сопряженные с функционированием специфического G-белка, получили название Такеда-рецепторов (Takeda Gprotein-coupled receptor 5, TGR5) в честь японского автора, впервые их описавшего [16]. TGR5-рецепторы с высокой степенью интенсивности экспрессируются в желчном пузыре, эпителии желчевыводящих путей, белых и бурых адипоцитах, скелетных мышцах, кишечнике, почках, плаценте и в головном мозге [17]. Клинические исследования, проведенные в 2013 г. на большой группе испытуемых, показали, что ген рецептора TGR5 весьма активен в адипоцитах подкожной жировой клетчатки, причем уровень экспрессии положительно коррелирует с развитием ожирения и снижается по мере потери массы тела при использовании диеты [18].

Прегнан-Х-рецептор (PXR) был изначально идентифицирован как «мастер» ксенобиотической сенсорики [5]. Он управляет экспрессией белков, участвующих в транспорте, метаболизме и элиминации ксенобиотиков и ряда эндогенных веществ. В частности, обнаружено, что литохолевая кислота и ее 3-кетопроизводное активируют PXR человека и мыши [19]. При этом 3-кето-литохолевая признана более мощным лигандом PXR, чем литохолевая, в то время как холевая, дезоксихолевая и ХДХК только слегка активируют PXR. PXR признан в качестве рецептора литохолевой кислоты, ответственного за детоксикацию этой гепатотоксичной и потенциально канцерогенной желчной кислоты посредством индукции ферментов ее метаболизма. PXR образуется главным образом в печени, кишечнике (подвздошной кишке) и почках. Этот рецептор также регулирует энтерогепатическую циркуляцию, модулирует регенерацию печени, процессы воспаления [20]. Таким образом, изучение рецепторов ЖК и их роли в организме человека продолжает представлять интерес для исследователей.

Данные исследований о содержании желчных кислот в биосубстратах при ЖКБ

ЖК при накоплении в организме в высоких концентрациях, как и любые другие соединения, начинают проявлять свой токсический эффект [21]. К примеру, желчный гастральный или эзофагеальный рефлюктат может провоцировать злокачественное перерождение клеток желудка и пищевода [22]. Известен цитотоксический эффект ЖК в отношении гепатоцитов, энтероцитов, каналоцитов почек и других клеток. Вероятнее всего, этот эффект связан с детергентным действием ЖК на мембранные фосфолипиды и включением программ апоптоза клеток [23]. Так, литохолевая кислота является вторичной ЖК, образующейся

при дегидроксилировании хенодезоксихолевой кислоты ферментами микробов кишечника. Она токсична и канцерогенна, поэтому должна эффективно обезвреживаться в печени [24].

У здоровых людей концентрация ЖК в крови весьма низкая и меняется в микромолярном диапазоне в зависимости от фазы пищеварения, возраста, пола, физиологического статуса [25]. При развитии холестаза, независимо от его происхождения, уровни ЖК в крови резко возрастают, в этих случаях токсические свойства желчных кислот проявляют себя в полной мере [26]. Концентрация ЖК в гепатоцитах здоровых людей в 100–1000 раз

ниже, чем в желчи [27]. Трудности распознавания их побуждают искать более надежные и достаточно информативные методы их диагностики. В связи с этим количественное определение ЖК в сыворотке крови приобретает большое значение в целях диагностики и оценки эффективности лечения патологии гепатобилиарной системы.

З. Ш. Минуллина и соавт. определяли содержание неконъюгированных ЖК в сыворотке крови здоровых людей методом газожидкостной хроматографии. По их данным концентрация холевой кислоты составила $2,85 \pm 0,008$ мг/мл, ХДХК – $2,79 \pm 0,01$ мг/мл, литохолевой – $3,09 \pm 0,009$ мг/мл, дезоксихолевой – $1,33 \pm 0,01$ мг/мл, УДХК – $0,3 \pm 0,005$ мг/мл, суммарно – $10,36 \pm 0,03$ мг/мл [28].

А. А. Бурка и В. С. Неборачко исследовали содержание ЖК в сыворотке крови больных острым холециститом с целью выявления степени вовлеченности печени в патологический процесс. Они изучали в динамике содержание отдельных, связанных, свободных ЖК и их общее количество в сыворотке крови 148 больных в возрасте от 24 до 76 лет. У больных острым холециститом в сыворотке крови зарегистрировано повышение содержания всех ЖК. Это повышение достигало максимальных величин в предоперационном периоде и в первые 3–7 дней после операции. Также авторами выявлено, что структура холацидемии при холециститах характеризуется значительным увеличением содержания гликохолевой по сравнению с таурохолевой кислотой, а среди свободных ЖК – дезоксихолевой в сумме с ХДХК [29].

Исследования, проводимые в отделе патологии желчных путей Центрального научно-исследовательского института гастроэнтерологии, показали, что у пациентов с холестериновым холецистолитиазом в 42,9% выявляется холестероз желчного пузыря. Частое обнаружение конкрементов с высоким содержанием холестерина у пациентов с холестерозом желчного пузыря обосновывает единый механизм развития этой патологии [30], в то время как механизмы формирования пигментного холецистолитизакардинально отличаются. Исследователи определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии спектр желчных кислот (УДХК, холевой, ХДК, дезоксихолевой, литохолевой) в операционной желчи при различных типах холелитиаза. Группу больных с холестерино-ассоциированной патологией желчного пузыря составили 15 больных с холестериновыми камнями, 6 больных полипозно-сетчатой формой холестерожа желчного пузыря, 15 – с холестериновым холецистолитиазом в сочетании с сетчатой формой холестероза желчного пузыря. Контрольную группу составили 6 пациентов, оперированных по поводу аденоматозных и фиброзно-аденоматозных полипов желчного пузыря при отсутствии конкрементов. Во всех группах с холестерино-ассоциированной патологией желчного пузыря отмечено достоверное повышение уровня холестерина и фосфолипидов и снижение уровня ЖК. Вследствие этого индекс насыщенности желчи холестерином у больных указанных групп был также достоверно выше, чем в группе с пигментными камнями. Значения указанного

показателя в группе с пигментным холецистолитиазом и группе контроля были сопоставимы по своему значению [31].

Я. И. Карбач и соавт. [32] сопоставили содержание ЖК в пузырной желчи и в желчных камнях у 63 больных хроническим калькулёзным холециститом в возрасте от 20 до 70 лет. Желчь и желчные камни брали из ЖП во время холецистэктомии. Из полученных данных оказалось, что при хроническом каменном холецистите, независимо от состава желчных камней, происходит угнетение синтеза в печени первичных ЖК, понижение гидроксилирования и конъюгации ЖК с таурином. При этом увеличивается концентрация свободных ЖК и труднорастворимой гликодезоксихолевой.

Ю. Тонких и В. Цуканов изучали спектр ЖК желчи, полученной при дуоденальном зондировании. Анализ спектра холатов желчи методом газожидкостной хроматографии проведено у 164 европеоидов и 152 эвенков. У европеоидов с ЖКБ было выявлено более низкое содержание первичных ЖК и более высокое – вторичных холатов в сравнении с таковыми у пациентов без патологии. При этом у европеоидов с ЖКБ наблюдалась достоверно более высокая концентрация дезоксихолевой кислоты и более низкая – ХДХК в сравнении с таковой у здоровых лиц. У эвенков определялось умеренное увеличение содержания дезоксихолевой и дегидрохолевой кислоты при холелитиазе, а снижение содержания холевой кислоты и ХДХК носило характер тенденции [33].

В. Н. Клименко и соавт. исследовали образцы желчи на содержание ЖК с помощью жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией. У больных ЖКБ имеет место увеличение содержания конъюгированных форм ЖК: гликохолевой кислоты – в 2 раза, таурохолевой кислоты – в 1,57 раза по сравнению с практически здоровыми лицами. У больных ЖКБ соотношение содержания таурохолевой и гликохолевой кислот (0,95 против 1,27), а также гликохолодезоксихолевой и гликодезоксихолевой кислот (1,11 против 1,58) достоверно меньше, чем у практически здоровых лиц. У каждого второго больного ЖКБ не обнаруживалась в желчи УДХК [34].

Есть исследователи, изучавшие содержание ЖК методом масс-спектрометрии в желчи больных неалкогольной жировой болезнью печени и ЖКБ [35]. Авторами было зарегистрировано однонаправленное изменение спектра ЖК при обоих видах патологии: снижение общего количества свободных ЖК (холевой, дезоксихолевой, ХДХК) и увеличение содержания конъюгированных ЖК (гликохолевой, гликодезоксихолевой, таурохолевой, тауродезоксихолевой, УДХК), наиболее выраженное у больных с неалкогольной жировой болезнью печени.

Определение ЖК в биосубстратах методом хроматографии и масс-спектрометрии является достаточно информативным. Полученные данные можно использовать для дифференциации различной патологии печени и желчевыделительной системы. А также для изучения клиренса желчных кислот в нагрузочных пробах [28]. В случае ЖКБ точное определение содержания ЖК в сыворотке крови приобретает важное значение, в том числе для оценки эффективности литолитической терапии и профилактики камнеобразования.

Данные оригинального исследования

Нашим коллективом выполнено исследование, в ходе которого впервые одновременно определены уровни ЖК в плазме крови и в пузырной желчи пациентов с ЖКБ методом хромато-масс-спектрометрии (ХМСМ). В исследовании участвовало 26 пациентов возрастом 18–45 лет с ЖКБ (камни в желчном пузыре), которым выполнялась плановая лапароскопическая холецистэктомия на базе 3 хирургического отделения СПб ГБУЗ «Елизаветинская больница». У части пациентов (9 человек) по данным липидограммы имели место изменения липидного спектра крови – группа ЖКБ + ДЛ (дислипидемия), у остальных (17 человек) был нормальный липидный профиль крови – группа ЖКБ. Для исследования использованы образцы плазмы крови, забранной у пациентов перед проведением оперативного вмешательства. Образцы желчи были эвакуированы из желчного пузыря, удаленного в ходе плановой лапароскопической холецистэктомии.

Выполнение ХМСМ ЖК проводилось на базе ФГБУ ВЦЭРМ им. А. М. Никифорова МЧС России. Для выполнения данного лабораторного исследования использовалась хроматографическая колонка Zorbax SB-C18 150 мм x 2.1 мм x 5 мкм, режим элюирования – градиентный, скорость потока – 0,2 мл/мин, подвижная фаза А – 10 mM ацетат аммония + 0,1% муравьиной кислоты – 30%, подвижная фаза В – метанол HPLC grade или аналогичный – 70%; с 10 по 15 минуту фаза А – 80%, фаза В – 20%; с 20 по 23 минуту фаза А – 10%, фаза В – 90%, с 30 по 40 минуту фаза А – 30%, фаза В – 70%. Аналитические сигналы обрабатывались при помощи программного обеспечения хромато-масс-спектрометра, с использованием градуировочных зависимостей,

рассчитываемых методом наименьших квадратов, учета и коррекции фона, при необходимости – учета взаимного влияния измеряемых веществ (рис. 2).

Референсные значения уровней ЖК в плазме крови определены при исследовании методом ХМСМ 56 плазмы крови здоровых лиц молодого возраста и приведены в табл. 1. Что касается уровней ЖК в желчи здоровых лиц, референсные значения не разработаны, в имеющихся источниках в основном отражены процентные соотношения ЖК, абсолютные величины описаны для небольшого числа наблюдений в единичных источниках мировой литературы [34, 36].

Полученные нами результаты содержания ЖК в плазме крови и желчи приведены в табл. 2.

Максимальные уровни холевой кислоты в плазме крови оказались и превышали норму в 5,6 раз в группе ЖКБ и в 1,4 раз в группе ЖКБ + ДЛ, дезоксихолевой – в 3,9 и 3,3 раз, гликохолевой – в 3,6 и 2,9 раз, литохолевой – в 9,4 и 3,2 раз, УДХК – в 15 и 5,6 раз соответственно. Таким образом, уровни перечисленных кислот в обеих группах превышали норму, при этом максимальным содержание их в плазме крови было в группе больных ЖКБ без нарушений липидного спектра крови, а наиболее заметной разницы в группах оказалась по содержанию УДХК.

Уровни таурохолевой кислоты оказались максимальными в группе ЖКБ + ДЛ, превысив норму в 6 раз, в группе ЖКБ – в 3,8 раз. Что касается ХДХК, у части пациентов в обеих группах имело место снижение ее уровня в 10 раз ниже минимальных нормальных значений. В группе ЖКБ+ДЛ максимальные значения ХДХК не доходили до верхней границы нормы, в то время как в группе ЖКБ у части

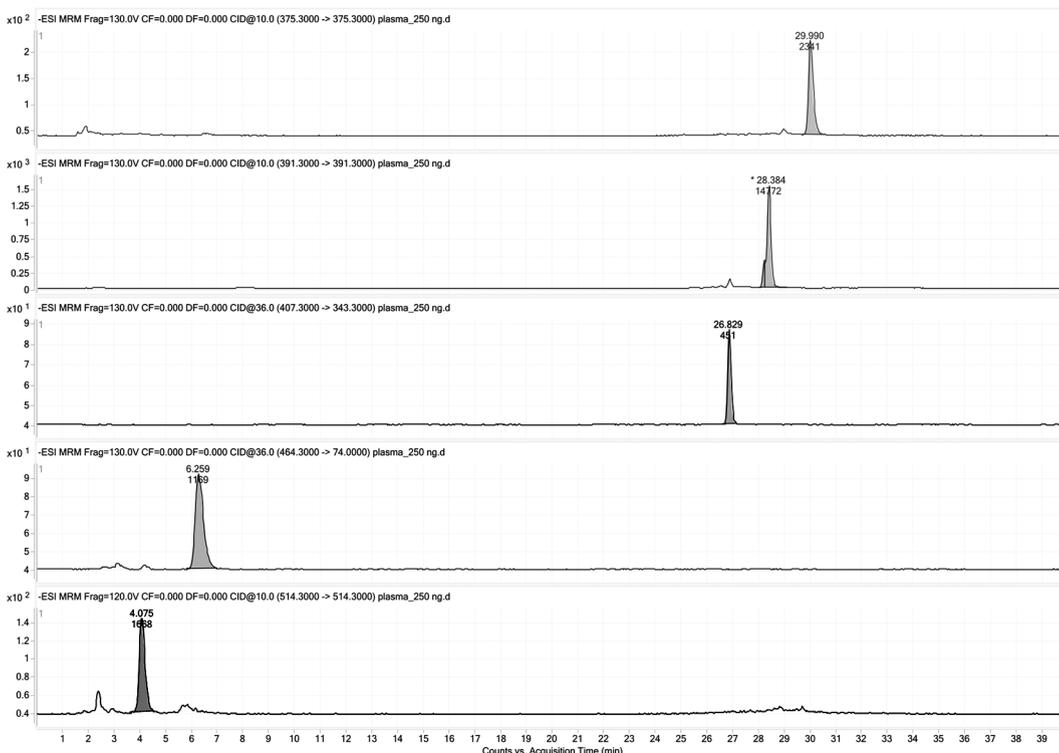


Рисунок 2.
Типичная хроматограмма образца плазмы крови.

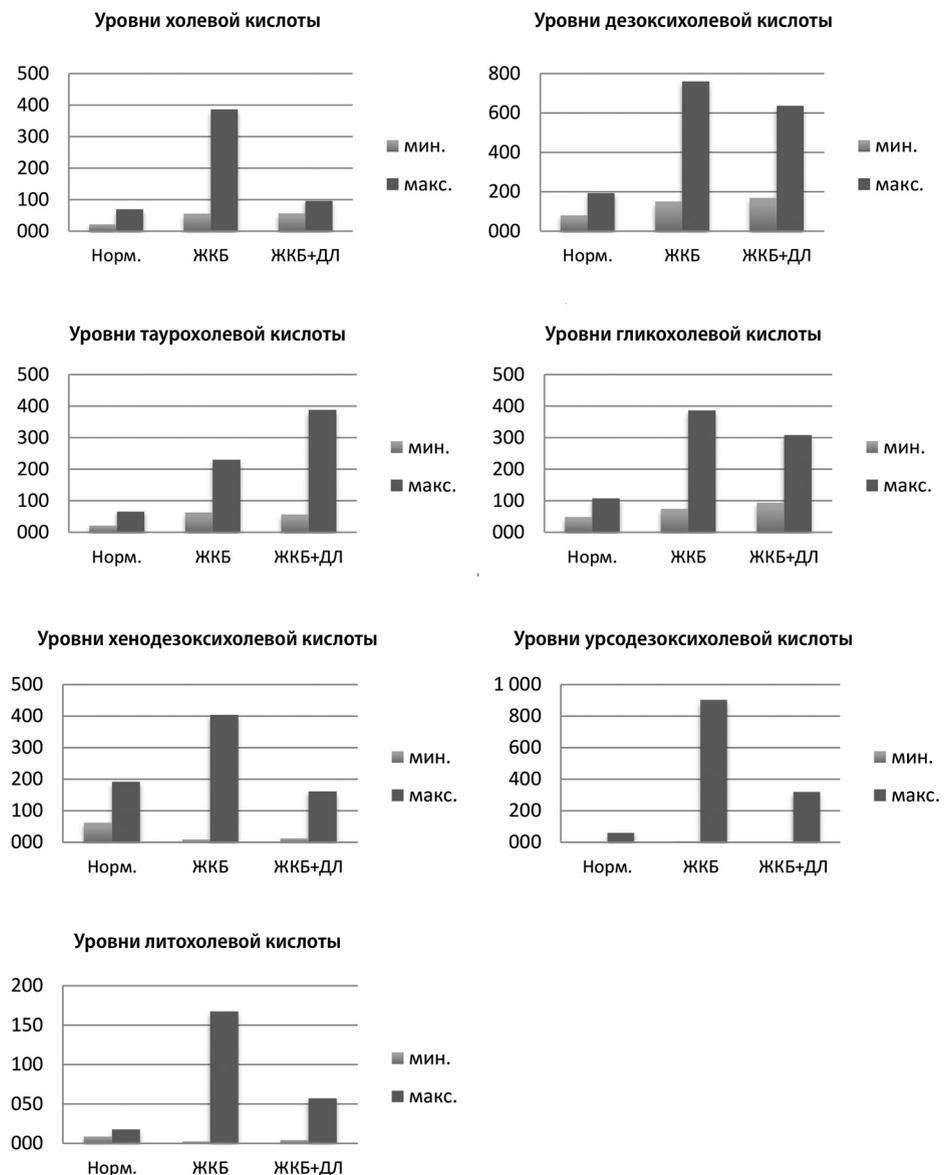
Таблица 1.
Содержание ЖК при ХМСМ плазмы крови здоровых лиц молодого возраста.

Показатель, нг/мл	Референсный интервал
Холевая кислота	21,4–69,0
Хенодезоксихолевая кислота	61,6–191,5
Дезоксихолевая кислота	79,4–193,5
Урсодезоксихолевая кислота	16,1–59,6
Гликохолевая кислота	48,1–106,9
Таурохолевая кислота	21,1–64,9
Литохолевая кислота	8,5–17,8

Таблица 2.
Уровни ЖК в плазме крови и в желчи пациентов с ЖКБ, определенные методом ХМСМ, нг/мл.

Показатель, нг/мл	ЖКБ				ЖКБ+ДЛ			
	плазма крови		желчь		плазма крови		желчь	
	мин.	макс.	мин.	макс.	мин.	макс.	мин.	макс.
Холевая	55,8	386,0	10,5	8698,6	56,2	95,7	68,5	1274,0
Дезоксихолевая	150,1	759,4	3,0	36313,8	168,7	635,8	7,5	122,1
Хенодезоксихолевая	8,8	403,8	1,3	11945,0	11,9	161,2	5,1	4568,3
Урсодезоксихолевая	5,9	902,3	21,4	861,9	1,5	319,0	38,3	319,0
Литохолевая	2,5	167,5	2,1	9374,0	4,2	57,1	2,4	77,6
Гликохолевая	74,3	386,0	10,7	22886,9	93,5	307,9	6,7	19455,9
Таурохолевая	62,4	230,1	1,4	14418,7	56,2	388,0	2,7	12057,7

Рисунок 3.
Уровни желчных кислот в плазме крови в норме и при ЖКБ.



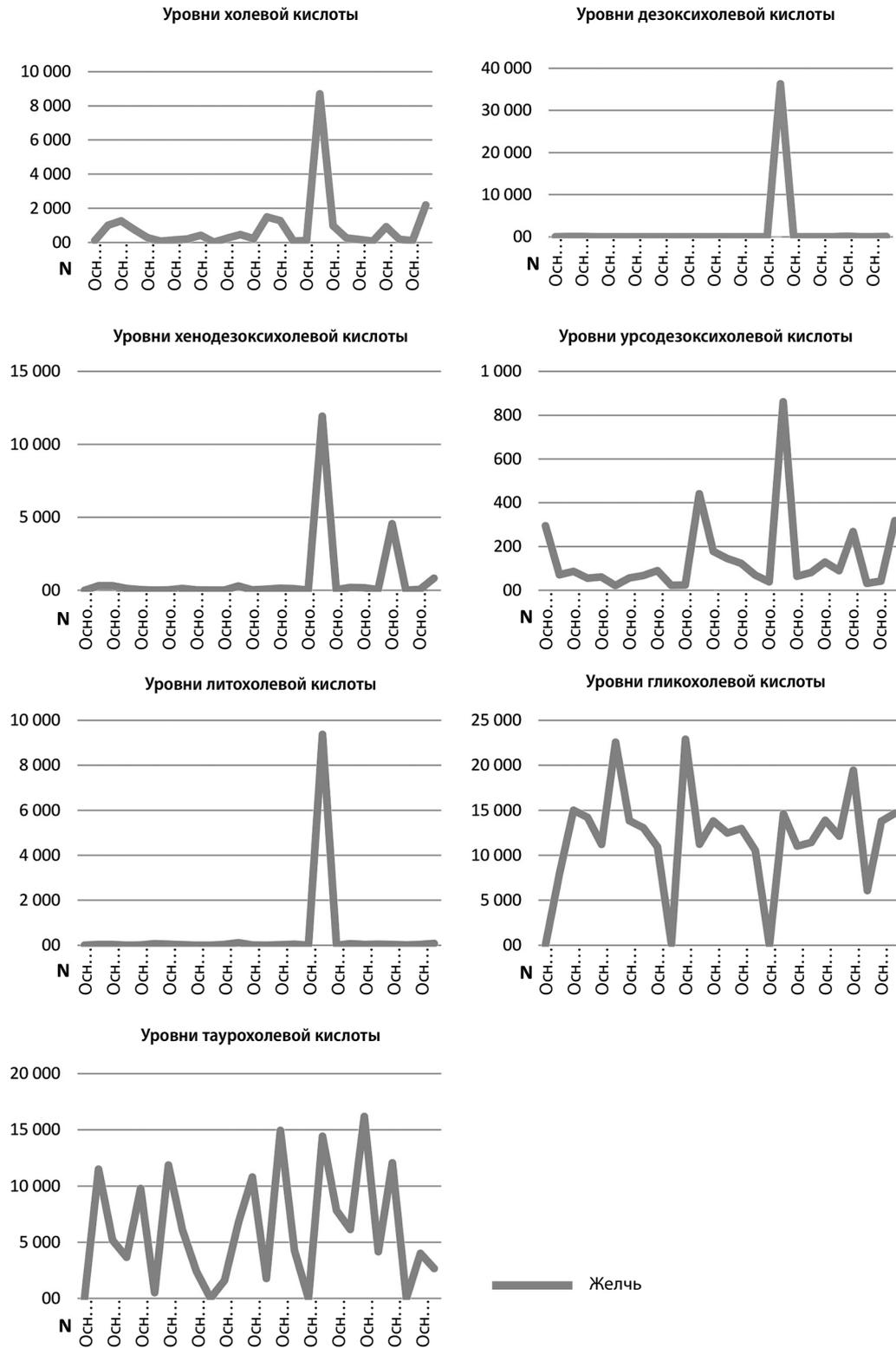


Рисунок 4.
Уровни желчных кислот (нг/мл) в пузырной желчи пациентов с ЖКБ.

пациентов наблюдалось повышение ее уровня в 2,1 раз выше верхней границы нормы.

Сравнительные уровни ЖК плазмы крови в норме, в группе ЖКБ и группе ЖКБ+ДЛ отражены на рис. 3.

Содержание ЖК в желчи всех пациентов с ЖКБ (n=26) без разделения по липидному профилю крови отражено на рис. 4. Уровни всех ЖК желчи весьма варьировали, минимальные и максимальные пока-

затели ЖК иногда отличались более чем в 10000 раз. В группе ЖКБ содержания ЖК значительно превышало таковые в группе ЖКБ +ДЛ. В группе ЖКБ максимальными оказались уровни свободных ЖК (холевой и ХДХК), в то время как в группе ЖКБ+ДЛ наибольшие значения приходились на связанные ЖК (гликохолевую и таурохолевую).

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о повышении в плазме крови пациентов

с хроническим калькулезным холециститом независимо от липидного профиля крови уровней холевой (свободной и связанной), дезоксихолевой, литохолевой и урсодезоксихолевой кислот, и снижении уровня ХДХК. В желчи больных с нормальным липидным спектром крови преобладали свободные ЖК, в то время как в группе с нарушениями липидного спектра максимальные значения приходились на связанные ЖК.

Полученные нами данные будут детальнее интерпретированы при анализировании результатов проспективной части наблюдения, с учетом результатов ХМСМ ЖК плазмы крови через 3 месяца и через 1 год после оперативного вмеша-

тельства, а также динамики данных клинического, лабораторного и инструментального обследования в указанных временных точках. Планируется впервые получить данные о влиянии холецистэктомии на абсолютные значения уровней ЖК в крови. Представляет интерес и возможная взаимосвязь между содержанием в крови отдельных ЖК и сохраняющимися у части больных после оперативного лечения жалобами, такими как горечь во рту, тяжесть в правом боку и другими проявлениями диспепсии. Также интересно, будут ли выявлена корреляция между показателями липидного спектра и содержанием отдельных ЖК в крови после холецистэктомии.

Заключение

В настоящее время продолжается дискуссия о роли разных ЖК в патогенезе ЖКБ. Одни авторы сообщают о патологической роли снижения концентрации ХДХК при холелитиазе, другие придают большее значение уменьшению содержания ХК, третьи подчеркивают роль увеличения уровня ДХК или отрицают ее значение для литогенеза. Недостаточно изучены уровни ЖК в сыворотке крови при хронической форме холецистита, поскольку основная масса имеющихся работ ориентирована на острое течение. Крайне мало данных об уровнях желчных кислот в желчи в норме и при

патологии. Дальнейшие изыскания в этой области кажутся оправданными.

Добавление в диагностический план больных, страдающих патологией печени и желчевыводящих путей, определения уровней ЖК в сыворотке крови может улучшить контроль над заболеванием. А для лиц, имеющих наследственную предрасположенность или факторы риска развития ЖКБ, данное исследование может способствовать раннему проведению профилактических мероприятий, направленных на предупреждение развития заболевания.

Литература | References

- Uspensky Yu.P., Fominykh Yu.A., Nadzhafova K.N., Kosheev A.V., Kosareva D.M., Nikitina D.E. Using an ursodeoxycholic acid with mebeverine in patients with cholelithiasis after cholecystectomy. *Doctor*. 2021;9:27–33. (in Russ.) doi: 10.29296/25877305–2021–09–05
Успенский Ю. П., Фоминых Ю. А., Наджафова К. Н., Кошечев А. В., Косарева Д. М., Никитина Д. Е. Опыт применения комбинированной схемы с препаратами урсодезоксихолевой кислоты и мебеверина у пациентов с желчнокаменной болезнью, перенесших холецистэктомию. *Врач*. 2021;9:27–33.
- Uspensky Yu.P., Fominykh Yu.A., Nadzhafova K.N., et al. Pathogenetic aspects of the development of cholelithiasis in patients with metabolic syndrome. *Terapevticheskii arkhiv*. 2021; 93(2): 209–214. (in Russ.) doi: 10.26442/00403660.2021.02.200616
Успенский Ю. П., Фоминых Ю. А., Наджафова К. Н. и др. Патогенетические аспекты развития желчнокаменной болезни у больных с метаболическим синдромом. *Терапевтический архив*. 2021; 93(2): 209–214.
- Pchenko A. A. [Bile acids in normal and pathological conditions]. *Eksp Klin Gastroenterol*. 2010;(4):3–13. (in Russ.)
Ильченко А. А. Желчные кислоты в норме и при патологии. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2010; 4:3–13.
- Makarova K.S., Sayfutdinov R.G. The role of bile acids in diseases of the biliary system. *Siberian Medical Journal*. 2013;1:27–29. (in Russ.)
Макарова К. С., Сайфутдинов Р. Г. Роль желчных кислот при заболеваниях билиарной системы. *Сибирский медицинский журнал*. 2013;1:27–29.
- Zagoskin P.P., Erykina E.I. Bile acids are a new type of steroid hormones regulating nonspecific energy expenditure of the body. *Modern technologies in medicine*. 2020;12(5):114–128. (in Russ.) doi:10.17691/stm2020.12.5.13
Загоскин П. П., Ерыкина Е. И. Желчные кислоты – новый тип стероидных гормонов, регулирующих неспецифические энергозатраты организма. *Современные технологии в медицине*. 2020;12(5):114–128. doi:10.17691/stm2020.12.5.13
- Ramirez-Perez O., Cruz-Ramon V., Chinchilla-Lopez P., Mendez-Sanchez N. The role of the gut microbiota in bile acid metabolism. *Ann Hepatol* 2017; 16(Suppl 1): 15–20. doi: 10.5604/01.3001.0010.5494
- Allegretti J.R., Kearney S., Li N., Bogart E., et al. Recurrent *Clostridium difficile* infection associates with distinct bile acid and microbiome profiles. *Aliment Pharmacol Ther*. 2016; 43(11): 1142–1153. doi: 10.1111/apt.13616
- Watanabe M., Fukiya S., Yokota A. Comprehensive evaluation of the bactericidal activities of free bile acids in the large intestine of humans and rodents. *J LipidRes*. 2017; 58(6):1143–1152. doi: 10.1194/jlr.M075143
- Kliwer S.A., Mangelsdorf D.J. Bile acids as hormones: the FXR-FGF15/19 pathway. *DigDis*. 2015; 33(3): 327–331. doi:10.1159/000371670
- Ding L., Yang L., Wang Z., Huang W. Bile acid nuclear receptor FXR and digestive system diseases. *Acta Pharm Sin B*. 2015; 5(2): 135–144. doi:10.1016/j.apsb.2015.01.004
- De MagalhaesFilho C.D., Downes M., Evans R.M. Farnesoid X receptor an emerging target to combat obesity. *DigDis*. 2017; 35(3): 185–190. doi:10.1159/000450909

12. Xia Y., Zhang F., Zhao S., et al. Adiponectin determines farnesoid X receptor agonism-mediated cardioprotection against post-infarction remodelling and dysfunction. *Cardiovasc Res.* 2018;114(10):1335–1349. doi:10.1093/cvr/cvy093
13. Jin L., Wang R., Zhu Y., et al. Selective targeting of nuclear receptor FXR by avermectin analogues with therapeutic effects on nonalcoholic fatty liver disease. *Sci Rep* 2015; 5: 17288. doi: 10.1038/srep17288
14. Ding L., Yang L., Wang Z., Huang W. Bile acid nuclear receptor FXR and digestive system diseases. *Acta Pharm Sin B.* 2015; 5(2): 135–144. doi: 10.1016/j.apsb.2015.01.004
15. Chavez-Talavera O., Tailleux A., Lefebvre P., Staels B. Bile acid control of metabolism and inflammation in obesity, type 2 diabetes, dyslipidemia, and nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterol.* 2017; 152(7): 1679–1694.e3. doi: 10.1053/j.gastro.2017.01.055
16. Takeda S., Kadowaki S., Haga T., et al. Identification of G protein-coupled receptor genes from the human genome sequence. *FEBS Lett.* 2002; 520(1–3): 97–101. doi: 10.1016/s0014-5793(02)02775-8
17. Keitel V., Stindt J., Häussinger D. Bile acid-activated receptors: GPCR1 (TGR5) and other G protein-coupled receptors. *Handb Exp Pharmacol* 2019; 256: 19–49. doi: 10.1007/164_2019_230
18. Svensson P. A., Olsson M., Andersson-Assarsson J. C., et al. The TGR5 gene is expressed in human subcutaneous adipose tissue and is associated with obesity, weight loss and resting metabolic rate. *Biochem Biophys Res Commun.* 2013; 433(4): 563–566. doi: 10.1016/j.bbrc.2013.03.031
19. Carazo A., Hyrsova L., Dusek J., et al. Acetylated deoxycholic (DCA) and cholic (CA) acids are potent ligands of pregnane X (PXR) receptor. *Toxicol Lett.* 2017; 265: 86–96. doi: 10.1016/j.toxlet.2016.11.013
20. Ali A. H., Carey E. J., Lindor K. D. Recent advances in the development of farnesoid X receptor agonists. *Ann Transl Med.* 2015;3(1):5. doi: 10.3978/j.issn.2305-5839.2014.12.06
21. Li Z., Lin B., Lin G., et al. Circulating FGF19 closely correlates with bile acid synthesis and cholestasis in patients with primary biliary cirrhosis. *PLoS One.* 2017; 12(6): e0178580, doi: 10.1371/journal.pone.0178580
22. Usai Satta P., Oppia F., Cabras F. Overview of pathophysiological features of GERD. *Minerva Gastroenterol Dietol.* 2017; 63(3): 184–197.
23. Ikeda Y., Morita S. Y., Terada T. Cholesterol attenuates cytoprotective effects of phosphatidylcholine against bile salts. *Sci Rep.* 2017; 7(1): 306. doi: 10.1038/s41598-017-00476-2
24. Mostarda S., Passeri D., Carotti A., et al. Synthesis, physicochemical properties, and biological activity of bile acids 3-glucuronides: novel insights into bile acid signalling and detoxification. *Eur J Med Chem.* 2018; 144: 349–358. doi: 10.1016/j.ejmech.2017.12.034
25. Schmid A., Neumann H., Karrasch T., et al. Bile acid metabolome after an oral lipid tolerance test by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). *PLoS One.* 2016; 11(2): e0148869. doi: 10.1371/journal.pone.0148869
26. Deutschmann K., Reich M., Klindt C., et al. Bile acid receptors in the biliary tree: TGR5 in physiology and disease. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 2018; 1864(4 Pt B): 1319–1325, doi: 10.1016/j.bbadis.2017.08.021
27. Li T., Chiang J. Y. Bile acid signaling in metabolic disease and drug therapy. *Pharmacol Rev.* 2014; 66(4): 948–983. doi: 10.1124/pr.113.008201
28. Minnullina Z. S., Kiyashko S. V., Makarova K. S., et al. The content of bile acids in the blood serum of healthy people. *Practical medicine.* 2015; 6(91): 119–121. (in Russ.)
29. Миннулина З. Ш., Кияшко С. В., Макарова К. С. и др. Содержание желчных кислот в сыворотке крови здоровых людей. *Практическая медицина.* 2015; 6(91): 119–121.
30. Burka A. A., Neborachko V. S. Determination of the content of bile acids in the blood serum of patients with acute cholecystitis. *Clinical surgery.* 1977;12:18–21. (in Russ.)
Бурка А. А., Неборачко В. С. Определение содержания желчных кислот в сыворотке крови больных острым холециститом. *Клиническая хирургия.* 1977;12:18–21.
31. Ilchenko A. A., Morozov I. A., Khomeriki S. G., et al. Cholesterosis of the gallbladder. Moscow. GEOTAR-Media Publ., 2007. (in Russ.)
Ильченко А. А., Морозов И. А., Хомерики С. Г. и др. Холестероз желчного пузыря. М.: ГЕОТАР-Медиа; 2007.
32. Bystrovskaya E. V., Ilchenko A. A., Silvestrova S. Yu. [Biochemical characteristics of operating bile composition in different types of cholelithiasis]. *Eksp Klin Gastroenterol.* 2010;(6):3–6. (in Russ.)
Быстровская Е. В., Ильченко А. А., Сильвестрова С. Ю. Особенности биохимического состава операционной желчи при различных видах холецистолитиаза. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология.* 2010; 6:3–6.
33. Karbach Ya. I., Slivka O. Ya., Fishchenko A. Ya. Bile acids in patients with calculous cholecystitis. *Clinical medicine.* 1973;51(12):61–65. (in Russ.)
Карбач Я. И., Сливка О. Я., Фищенко А. Я. Желчные кислоты у больных калькулёзным холециститом. *Клиническая медицина.* 1973;51(12):61–65.
34. Tonkih Yu., Tsukanov V. Spectrum of bile acids of bile and serum lipids in cholelithiasis in the indigenous and alien population of Evenkia. *Doctor.* 2014;1:72–74. (in Russ.)
Тонких Ю., Цуканов В. Спектр желчных кислот желчи и липидов сыворотки крови при холелитиазе у коренного и пришлого населения Эвенкии. *Врач.* 2014;1:72–74.
35. Klimenko V. N., Sivolap D. V., Kaplaushenko A. G., Varinsky B. A. Bile acid profile in patients operated for cholelithiasis (cholecystectomy), according to liquid chromatography with mass spectrometric detection. *Zaporozhye Medical Journal.* 2017;19(6):752–757. (in Russ.) doi: 10.14739/2310-1210.2017.6.114710
Клименко В. Н., Сиволап Д. В., Каплаушенко А. Г., Варинский Б. А. Профиль желчных кислот у больных, оперированных по поводу желчнокаменной болезни (холецистэктомия), по данным жидкостной хроматографии с масс-спектрометрической детекцией. *Запорожский медицинский журнал.* 2017;19(6):752–757. doi: 10.14739/2310-1210.2017.6.114710
36. Vakhrushev Ya. M., Lukashevich A. P., Penkina I. A., Suchkova E. V. Comparative analysis of the spectrum of bile acids in non-alcoholic fatty liver disease and cholelithiasis. *Therapeutic Archive.* 2019;91(2):48–51. (in Russ.) doi: 10.26442/00403660.2019.02.000105
Вахрушев Я. М., Лукашевич А. П., Пенкина И. А., Сучкова Е. В. Сравнительный анализ спектра желчных кислот при неалкогольной жировой болезни печени и желчнокаменной болезни. *Терапевтический архив.* 2019; 91(2): 48–51. doi: 10.26442/00403660.2019.02.00105
37. Perwaiz S., Tuchweber B., Mignault D., et al. Determination of bile acids in biological fluids by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *J Lipid Res.* 2001;42(1):114–9.