РОЛЬ ЖЕЛЧНЫХ КИСЛОТ В РЕГУЛЯЦИИ ЛИПИДНОГО И УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА У БОЛЬНЫХ НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПЕЧЕНИ И САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА*

Звенигородская Л. А., Петраков А. В., Нилова Т. В., Варванина Г. Г., Лычкова А. Э.
ГБУЗ МКНЦ ДЗМ Москва

THE ROLE OF BILE ACIDS IN THE REGULATION OF LIPID AND CARBOHYDRATE METABOLISM IN PATIENTS WITH NONALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE AND DIABETES TYPE2

Zvenigorodskaya L. A., Petrakov A. V., Nilova T. V., Varvanina G. G., Lychkova A. E.
Moscow Clinical Scientific Center, Department of Public Health, Moscow

Звенигородская Лариса Арсентьевна, ведущий научный сотрудник эндокринологической службы, доктор медицинских наук, профессор

Петраков Александр Васильевич, зав отделом лекарственного метаболизма, кандидат химических наук

Нилова Тамара Васильевна, ст. н. сотрудник лаборатории лекарственного метаболизма, кандидат медицинских наук

Варванина Галина Григорьевна, ст. н. сотрудник лаборатории научно-диагностических исследований, доктор медицинских наук

Лычкова Алла Эдуардовна, начальник отдела научно-исследовательской и патентно-изобретательской работы, доктор медицинских наук

* Иллюстрации к статье на цветной вклейке в журнал

Лычкова Алла Эдуардовна
Lychkova Alla E.
Lychkova@mail.ru

Резюме

Жёлчные кислоты регулируют метаболизм глюкозы и липидов. Цель исследования: определение общего содержания жёлчных кислот в сыворотке крови у пациентов с НАЖБП и в сочетании с СД 2 типа. Определить влияние маркеров воспаления (оксида азота, эндотоксина, фосфолипазы А2, малонового диальдегида) на синтез и транспорт жёлчных кислот. У пациентов НАЖБП с СД 2 типа наблюдается снижение синтеза и нарушение транспорта жёлчных кислот, что связано с повреждением мембран клеток ингибированием ферментных систем и воспалением.

Ключевые слова: НАЖБП, жёлчные кислоты, оксид азота, эндотоксин, фосфолипаза А2, малоновый диальдегид.

Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология 2016; 135 (11): 31–34

Summary

Bile acids regulate glucose and lipid metabolism. Aim — determination of total serum bile acids in patients with NAFLD and in combination with type 2 diabetes. To determine the inflammatory markers (nitric oxide, endotoxin, phospholipase A2, malondialdehyde) effects role for the synthesis and transport of bile acids. NAFLD patients with type 2 diabetes observed decrease in synthesis and disruption of transport of bile acids, which is associated with the cell membrane damage by inhibition of enzyme systems, and inflammation.

Keywords: NAFLD, bile acids, nitric oxide, endotoxin, phospholipase A2, malondialdehyde.

Eksperimental'naya i Klinicheskaya Gastroenterologiya 2016; 135 (11): 31–34

Введение

Желчные кислоты (ЖК) являются продуктом метаболизма холестерола. Это стероидные монокарбоновые кислоты являются производным холановой кислоты, образуются в гладком эндоплазматическом ретикулуме гепатоцитов и являются секретом эпителиальных клеток печени. Биосинтез ЖК является одним из важных путей выведения холестерола. Желчь играет важную роль в процессе всасывания жирных кислот, каротина, витаминов Д, Е, К, аминокислот и солей кальция. Жёлчные кислоты имеют важное значение для функционирования систем дыхания и кровообращения. Пул ЖК представлен у человека примерно в равных количествах высокогидрофобными желчными кислотами холевой, хенодезоксихолевой, дезоксихолевой. Первичные ЖК конъюгируются с глицином и таурином, что повышает их гидрофильность. ЖК являются активаторами ядерных рецепторов, регулирующих экспрессию генов, участвующих в секреции, транспорте и метаболизме первичных ЖК, холестерола и триглицеридов в гепатоцитах и плазме [7,8,12].

При СД 2 и инсулинорезистентности (ИР) эндокринная функция желчных кислот нарушается,

уменьшается абсорбция ЖК, что увеличивает жировую инфильтрацию печени. При СД 2 типа нарушается сократительная функция желчного пузыря и нарушается метаболизм липидов, происходит накопление ТГ и липопротеинов низкой плотности в печени и плазме. Развивается билиарная недостаточность, приводящая к уменьшению количества желчи и циркулирующих желчных кислот, развитию жировой болезни печени и холелитиазу [4, 5,11]. В крови желчные кислоты транспортируются главным образом с альбумином, а также с ЛПВП. Образование желчи, транспорт ЖК связан с активностью Na^+/K^+-АТФ-азы, которая играет энергетическую роль в захвате гепатоцитом из плазмы хлоридов и бикарбонатов. Нарушение активности Na+/K+-АТФ-азы ведет к снижению чувствительности рецепторов к инсулину. Длительный эндогенный дефицит в клетках жирных кислот, изменение жирнокислотного состава фосфолипидов и физико-химических свойств плазматических мембран клеток способствует нарушению жидкостности биологических мембран. С током крови в печень поступают ЖК, которые играют важную роль в обмене кальция. Конъюгированные ЖК связывают кальций в составе липидного комплекса и препятствуют выпадению его в осадок. Ядерный рецептор для синтеза и конъюгации ЖК выполняет важную роль в регуляции метаболизма ЖК, липопротеинов и глюкозы. ЖК являются активаторами липолитических ферментов, повышают активность липазы в 10–15 раз.

Расстройства транспортных функций сопровождаются нарушением метаболизма лекарств, изменением их токсичности и эффективности. При развитии воспаления, значительно снижается активность участвующих в метаболизме многих транспортеров и белков. В первую очередь, происходят нарушения в мембранных белках транспортеров глюкозы, что приводит к развитию ИР, провоцирует развитие сосудистой воспалительной реакции, что связано с избыточной продукцией жировой тканью воспалительных цитокинов. Перекисное окисление липидов (ПОЛ) подавляет активность ферментов, реагируя с группами белков цитохромоксидазы, подавляя тканевое дыхание, гидроксилазы, осуществляющей превращение холестерола в желчные кислоты. Под влиянием активных форм кислорода нередко образуются аномальные формы желчных кислот, липопротеинов, липидов и других продуктов секреции желчи, в результате меняются их физико-химические свойства, физиологические функции, что негативно влияет на развитие и прогрессирование патологического процесса. Пероксинитрит тормозит ферменты дыхательной цепи митохондрий, мембранную Na^+/K^+-АТФ-азу и блокирует натриевые каналы. Избыток в клетках свободных жирных кислот усиливает продукцию активных форм кислорода, активизируется синтез эндотелием синтазы оксида азота и образование NO. При избытке СЖК уменьшается связывание инсулина рецепторами гепатоцитов и развивается гиперинсулинемия. Инсулин стимулирует образование NO. Высокая продукция NO наблюдается при эндотоксемии, септическом шоке и увеличенной кишечной проницаемости при воспалительных заболеваниях кишечника [15].

Эндотоксинемия угнетает антиоксидантную систему, что сопровождается повышением деконъюгации желчных кислот, образованием токсичных солей и повышением реабсорбции. В результате синтез желчных кислот уменьшается, а синтез холестерола увеличивается.

Цель настоящего исследования: определить общее содержание желчных кислот в сыворотке крови у пациентов с НАЖБП и в сочетании с СД 2 типа. Определить влияние маркеров воспаления (оксид азота, эндотоксин, фосфолипаза А2, малоновый диальдегид) на синтез и транспорт жёлчных кислот.

Материал и методы исследования

Обследовано 158 пациентов НАЖБП (90 женщин и 68 мужчин). Средний возраст 55,5±7,5лет.Из них с СД 2 типа 46 пациентов и 112 с нарушенной толерантностью к глюкозе (НТГ). Индекс массы тела (ИМТ) более 30 кг/м2.Диагноз был верифицирован клиническими, биохимическими, инструментальными и морфологическими методами исследования. Основные морфологические изменения характеризовались крупнокапельной жировой дистрофией гепатоцитов. При анализе биохимических показателей в 40% случаев отмечено повышение уровня аминотрансфераз и ГГТП в 2–3 раза. Показатели липидного спектра характеризовались повышением общего холестерина, ХС ЛПНП, ТГ и снижением ХС ЛПВП. Показатели углеводного обмена — по уровню гликированного гемоглобина (HbA1c).

Гликированный гемоглобин

Общее содержание жёлчных кислот в сыворотке крови определяли ферментным методом на биохимическом анализаторе Olimpus с использованием тест систем Randox (Англия). Содержание ФЛА2 определяли иммуноферментным методом с использованием диагностических наборов PLAC TEST ELiSA Kit (США). ПОЛ определяли по содержанию МДА с тиобарбитуровой кислотой. Для определения эндотоксина применяли хромогенный метод по конечной точке с использованием ЛАЛ теста (Limulus amebocyte lysate, США). Уровень метаболитов оксида азота определяли скрининг-методом в биологических жидкостях с хлоридом ванадия (Германия)

Результаты исследования и их обсуждение

Изменение в плазме крови содержания оксида азота

Воспалительная реакция начинается с эндотелия. При воспалении, гипоксии, эндотоксиновой агрессии происходит нарушение функции эндотелия. Макрофаги под действием эндотоксина выделяют оксид азота, который легко проникает в клетки и взаимодействует с белками и ферментами. Оксид азота ингибирует Na^+/K^+-АТФ-азу, снижается чувствительность к инсулину, ингибируются митохондриальные ферменты, цитохром Р-450, который метаболизирует ЖК и холестерин. При воспалении снижается активность ядерных рецепторов для синтеза и конъюгации ЖК, липопротеинов и глюкозы.

Уровень содержания стабильных метаболитов оксида азота (NO) при СД 2 типа достоверно увеличен и составляет в среднем 137.7±35.96 мкмоль\л по сравнению с группой НАЖБП с нарушенной толерантностью к глюкозе (НТГ) 66.75±17.01 мкмоль\л и контролем 32.15±0.51 мкмоль\л (p=0.0001). Уровень метаболитов NO возрастал параллельно концентрации аминотрасфераз (r=0,86) и с уровнем ФЛА2 (r=0,658). ФЛА2 гидролизует окисленный фосфатидилхолин с образованием жирной кислоты и лизофосфатидилхолина, который изменяет активность синтазы оксида азота и количество или снижает его биодоступность [13].

Утилизация глюкозы в жировой и мышечной тканях NO зависима, при блокировании как нейрональной, так и эндотелиальной синтазы оксида азота развивается гипергликемия [14].

Содержание ФЛА2 в сыворотке крови при НАЖБП с СД 2 типа у 46 больных составило в среднем 621,9±84,71нг\мл медиана 605 (504–826) нг\мл P=0,0001. В группе с НТГ у 32 больных отмечено содержание ФЛА2 423,2±45,2 нг\мл медиана составила 430 (324–497) нг\мл P=0.001. При попадании в кровоток ФЛА2 связывается и транспортируется с ЛПНП, между ними отмечена тесная корреляционная зависимость r=0,957.Чем выше в плазме крови уровень ХС ЛПНП, тем более активно формируется атероматоз интимы артерий, тем в большей мере выражен дефицит в клетках эссенциальных полиеновых жирных кислот. Это повышает вязкость фосфолипидов в мембране клеток, нарушает функцию белков мембраны, в том числе глюкозных транспортеров, приводя к СД 2 типа. Липолитический фермент проявляет активность в клетках печени. При гипоксии, снижении АТФ в клетке, происходит выход кальция из клетки и высвобождение медиаторов воспаления и набухание митохондрий.

Общее содержание желчных кислот в сыворотке крови у пациентов с НАЖБП

Контрольная группа (1) без нарушения углеводного обмена состояла из 68 пациентов, среднее содержание жёлчных кислот в сыворотке крови составило 5,4 ± 1,8 мкмоль\л. 2 группа с нарушенной толерантностью к глюкозе уровень ЖК составил 8.88±4,94 мкмоль\л. У 59 пациентов НАЖБП с СД 2 типа (3 группа) содержание жёлчных кислот было достоверно снижено на 45% и составило 2,97±0,2 мкмоль\л (p=0,001) по сравнению с контролем. При ожирении изменяется состав желчи, увеличивается ее литогенность и развивается билиарный сладж и холелитиаз. Жёлчные кислоты регулируют метаболизм глюкозы и липидов. Биосинтез и транспорт ЖК связан с активностью фермента Na^+/K^+-АТФ-азы. ЖК восстанавливают чувствительность рецепторов к инсулину, лептину, грелину и адипонектину.

При развитии воспаления снижается активность HNF4α гепатоцитарного ядерного фактора для синтеза и конъюгации жёлчных кислот. NO ингибирует и блокирует натриевые каналы, МДА подавляет активность фермента холестеролгидроксилазу, осуществляющую превращение холестерола в ЖК.

Содержание эндотоксина в сыворотке крови при НАЖБП и СД 2 типа увеличено в 12 раз по сравнению с контролем и составило 3,69±1,44ЕЭ\мл (норма 0,3±0,05 ЕЭ/мл) и по сравнению с группой НАЖБП с НТГ1,43±0,24 ЕЭ/мл (p=0,0001). Повышение эндотоксина и оксида азота выявлено при прогрессировании воспалительной инфильтрации в печени. Эндотоксин активирует Ca2+каналы на мембране гладкомышечных клеток, что приводит к активации ФЛА2.

Показатели перекисного окисления липидов (ПОЛ)

Содержание малонового диальдегида (МДА) у пациентов с НАЖБП

При гипергликемии и чрезмерном накоплении липидов в гепатоцитах усиливаются процессы ПОЛ, что ведет к некрозу гепатоцитов, нарушению функции митохондрий, постепенным развитием фиброза и формированием стеатогепатита. Выявлена взаимосвязь перекисного и фосфолипазного механизма повреждения липидов мембран гепатоцитов. Отмечена корреляционная зависимость между ФЛА2 и МДА.

Выводы

1. У пациентов НАЖБП и СД наблюдается снижение синтеза и нарушение транспорта желчных кислот, что связано с повреждением мембран клеток печени, ингибированием ферментных систем и воспалением.
2. Выявлена взаимосвязь между маркерами воспаления (ФЛА2, NO, Эт, МДА), морфологической картиной печени и активностью печеночных ферментов. Маркеры воспаления являются диагностическим и прогностическим критерием активности воспалительного процесса в печени и прогностическим критерием активности воспалительного процесса в печени на ранней стадии перехода от стеатоза печени к стеатогепатиту.
3. Наибольшая активность ФЛА2 при НАЖБП выявлена у пациентов с СД. Содержание ФЛА2

является тестом биологической реакции воспаления, позитивно коррелирующей с уровнем оксида азота.

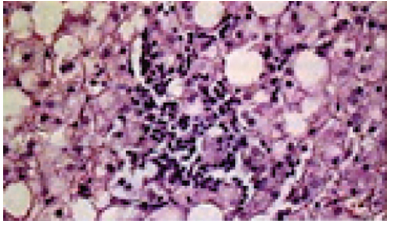
4. Содержание эндотоксина увеличено в 12 раз при НАЖБП с СД по сравнению с нормой.
5. При НАЖБП развивается недостаточность а/о системы в результате активации процессов ПОЛ. Выявлена взаимосвязь перекисного и фосфолипазного механизмов повреждения мембран гепатоцитов

Литература

1. *St-Pierre MV, Kullak-Ublick GA, Hagenbuch B, Meier PJ.* Transport of bile acids in hepatic and non-hepatic tissues. // J Exp Biol. — 2001. — V.204, (Pt 10). — P. 1673–86.
2. *Высоцкая Р.А., Нилова Т. В.* Конъюгированные желчные кислоты и липиды крови при лечении хенодезоксихолевой кислотой. Материалы симпозиума. М.,1985.
3. *Вовк Е.И.* Желчнокаменная болезнь в 21 веке: лечение или профилактика? //Приложение к журналу Consil Med гастроэнтерол. — 2010. — С. 3–10.
4. *Минушкин О.Н.* Дисфункциональные расстройства билиарного тракта. Патофизиология, диагностика и лечебные подходы. Москва, 2002.
5. *МаксимовВ.А., Чернышев А. Л., Тарасов К. М., Неронов В. А.* Билиарная недостаточность. Этиология, патогенез, клиника, диагностика, лечение. Москва, 2008, С. 232.
6. *Ивашкин В.Т., Маевская М. В.* Липотоксичность и метаболические нарушения при ожирении. // РЖГГК. — 2010. — 1. — С. 4–13
7. *Ивашкин В. Т.* Ядерные рецепторы и патология печени часть I // РЖГГК. — 2010. — № 3. — С. 4–8 РЖГГК № 4,2010 С. 7–15 часть 2.
8. *Lefebvre P. Cariou B., Lien F. et al.* Role of Acids and Bile Acid Receptors in Metabolic Regulation. // Physiol Rev. — 2009. — v.89. — P. 147–91.
9. *Танченко О.А., Нарышкина С. В., Сивякова О. Н.* Урсодезоксихолевая кислота в комплексном лечении больных с метаболическим синдромом. // РЖГГК. 2012. — № 1. — С. 82–86.
10. *Федосьина Е.А., Маевская М. В.* Применение урсодезоксихолевой кислоты при неалкогольном и алкогольном стеатогепатите. // РЖГГК. — 2010. — № 3. — С. 29–36
11. *Подымова С.Д.* Современные представления о патогенезе и терапии внутрипеченочного холестаза. // Русс.мед.ж. — 2001. — № 2. — С. 1–4.
12. *Шептулина А.Ф., Широкова Е. Н., Ивашкин В. Т.* Ядерные рецепторы в регуляции транспорта и метаболизма желчных кислот // РЖГГГК. — 2013. — т. 23,№ 5. — С. 32–45
13. *Звенигородская Л. А., Нилова Т. В., Петраков А. В.* Перекисное окисление липидов и активность липопротеин-ассоциированной фосфолипазы А2 в сыворотке крови у больных неалкогольной жировой болезнью печени. // Поликлиника. — 2015. — № 4.
14. *Roy D, Perrlault M and Marette A.* Insulin stimulation of glucose uptake in skeletal muscles and adipose tissues in vino is NO dependent. // AIP-Endocrin Metabol. — 1998. — 274,(4)ю — P.692–699.
15. *Урсова Н. И.* Гастроинтестинальные проблемы, связанные с широким применением нестероидных противовоспалительных препаратов у детей //Вопр совр педиатр. — 2014. — Т. 13. — № . 5:86–90.

К статье

Роль желчных кислот в регуляции липидного и углеводного обмена у больных неалкогольной жировой болезнью печени и сахарным диабетом 2 типа (стр. 31–34)



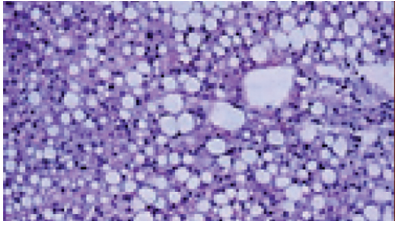


Рисунок 1.
Крупнокапельная жировая дистофия печени, ограниченная местная воспалительная реакция на месте жирового некроза гепатоцитов при неалкогольной жировой болезни печени в стадии стеатогепатита.

Рисунок 2.
Крупнокапельная жировая инфильтрация гепатоцитов у больного с атерогенной дислипидемией при неалкогольной жировой болезни печени в стадии гепатоза.