

Профіль жовчних кислот у хворих, оперованих з приводу жовчнокам'яної хвороби (холецистектомія), за даними рідинної хроматографії з мас-спектрометричною детекцією

В. М. Клименко, Д. В. Сиволап, А. Г. Каплаушенко, Б. О. Варинський

Запорізький державний медичний університет, Україна

Ключові слова:

жовчні кислоти, жовчнокам'яна хвороба, рідинна хроматографія, мас-спектрометрична детекція.

Запорізький медичний журнал.

– 2017. – Т. 19, № 6(105). – С. 752–757

DOI:

10.14739/2310-1210.2017.6.114710

E-mail:

syvolap89@gmail.com

Жовчним кислотам належить провідна роль у стабілізації фізико-колоїдних властивостей жовчі. Наслідки нестачі ЖК призводять до утворення холестеринових каменів у жовчному міхурі, діарей та стеаторей, порушення всмоктування жиророзчинних вітамінів, утворення каменів у нирках (оксалатів).

Мета роботи – дослідження порушень складу жовчі, особливо вмісту жовчних кислот у хворих на жовчнокам'яну хворобу за допомогою сучасних методів аналітичного аналізу (рідинна хроматографія з мас-спектрометричною детекцією) дає можливість доповнити сучасні уявлення про механізми літогенеза та спрямувати зусилля на запобігання каменеутворення в жовчному міхурі.

Матеріали та методи. Зразки жовчі досліджували на вміст жовчних кислот за допомогою рідинної хроматографії з мас-спектрометрією. До основної групи залучили 14 зразків жовчі осіб, які хворі на холелітаз, а в контрольну групу – 7 зразків жовчі практично здорових пацієнтів.

Результати. У хворих на ЖКХ відбувається збільшення вмісту кон'югованих форм жовчних кислот: глікохолевої кислоти – вдвічі ($p = 0,002$), таурохолевої кислоти – в 1,57 раза ($p = 0,062$) порівняно з практично здоровими особами. У хворих на ЖКХ співвідношення вмісту таурохолевої до глікохолевої кислоти (0,95 ум. од. проти 1,27 ум. од., $p = 0,0179$), а також глікохенодезоксихолевої до глікодезоксихолевої кислоти (1,11 ум. од. проти 1,58 ум. од., $p = 0,027$) є вірогідно меншим, ніж у практично здорових осіб. До того ж у кожного другого хворого ЖКГ не виявляється в жовчі урсодезоксихолева кислота.

Висновки. Літогенні властивості жовчі зумовлені порушенням вмісту, передовсім, кон'югованих форм холевой кислоти з гліцином і таурином. Співвідношення вмісту таурохолевої до глікохолевої кислоти у хворих на ЖКХ вірогідно менше за аналогічний показник у практично здорових осіб (0,95 ум. од. проти 1,27 ум. од., $p = 0,0179$). Співвідношення вмісту кон'югованих із гліцином жовчних кислот, а саме: глікохенодезоксихолевої до глікодезоксихолевої – у хворих на ЖКХ було також вірогідно меншим, ніж у практично здорових осіб (1,11 ум. од. проти 1,58 ум. од., $p = 0,027$). Урсодезоксихолева кислота не визначається в жовчі в кожного другого хворого ЖКГ (50 %), тоді як у практично здорових осіб вона відсутня тільки у кожного сьомого (14,29 %).

Ключевые слова:

желчные кислоты, желчнокаменная болезнь, жидкостная хроматография, масс-спектрометрическая детекция.

Запорожский медицинский журнал.

– 2017. – Т. 19, № 6(105). – С. 752–757

Профіль желчных кислот у больных, оперированных по поводу желчнокаменной болезни (холецистэктомия), по данным жидкостной хроматографии с масс-спектрометрической детекцией

В. Н. Клименко, Д. В. Сиволап, А. Г. Каплаушенко, Б. А. Варинский

Желчным кислотам принадлежит ведущая роль в стабилизации физико-коллоидных свойств желчи. Последствия нехватки ЖК приводят к образованию холестериновых камней в желчном пузыре, диарее и стеаторее, нарушению всасывания жирорастворимых витаминов, образованию камней в почках (оксалатов).

Цель работы – исследование нарушений состава желчи, особенно содержания желчных кислот у больных желчнокаменной болезнью с помощью современных методов аналитического анализа (жидкостная хроматография с масс-спектрометрической детекцией), что позволит дополнить современные представления о механизмах литогенеза и направить усилия на предупреждение камнеобразования в желчном пузыре.

Материалы и методы. Образцы желчи исследовали на содержание желчных кислот с помощью жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией. В основную группу были привлечены 14 образцов желчи больных холелитиазом, а в контрольную группу – 7 образцов желчи практически здоровых лиц.

Результаты. У больных ЖКБ имеет место увеличение содержания конъюгированных форм желчных кислот: глицохолевой кислоты – в 2 раза ($p = 0,002$), таурохолевой кислоты – в 1,57 раза ($p = 0,062$) по сравнению с практически здоровыми лицами. У больных ЖКБ соотношение содержания таурохолевой и глицохолевой кислот (0,95 у. е. против 1,27 у. е., $p = 0,0179$), а также глицохенодезоксихолевой и глицодезоксихолевой кислот (1,11 у. е. против 1,58 у. е., $p = 0,027$) достоверно меньше, чем у практически здоровых лиц. К тому же у каждого второго больного ЖКБ не обнаруживается в желчи урсодезоксихолева кислота.

Выводы. Литогенные свойства желчи обусловлены нарушением содержания, прежде всего, конъюгированных форм холевой кислоты с глиццином и таурином. Соотношение содержания таурохолевой и глицохолевой кислоты у больных ЖКБ достоверно меньше аналогичного показателя у практически здоровых лиц (0,95 у. е. против 1,27 у. е., $p = 0,0179$). Соотношение содержания конъюгированных с глиццином желчных кислот, а именно: глицохенодезоксихолевой и глицодезоксихолевой – у больных ЖКБ также достоверно меньше, чем у практически здоровых лиц (1,11 у. е. против 1,58 у. е., $p = 0,027$). Урсодезоксихолева кислота не определяется в желчи у каждого второго больного ЖКБ (50 %), в то время как у практически здоровых лиц она отсутствует только у каждого седьмого (14,29 %).

The composition of bile acids in patients with cholelithiasis according to the data of liquid chromatography with mass spectrometric detection

V. M. Klimenko, D. V. Syvolap, A. G. Kaplaushenko, B. O. Varynskyi

Bile acids play a leading role in the physical and colloidal properties of bile stabilization. Lack of bile acids consequences result in the formation of cholesterol stones in the gall bladder, diarrhea and steatorrhea, fat-soluble vitamins impaired absorption, and kidney stones formation (oxalates).

Investigation of altered bile composition, especially the content of bile acids, in patients with gallstone disease by means of modern analytical analysis methods (liquid chromatography with mass spectrometric detection) would complement the modern ideas about mechanisms of lithogenesis and aim efforts at prevention of stone formation in the gall bladder, that was the purpose of our work.

Materials and methods. Bile samples were tested for bile acid content using liquid chromatography with mass spectrometry. 14 samples of bile from patients with cholelithiasis were included in the main group, and control group consisted of 7 bile samples from practically healthy persons.

Results. In patients with cholelithiasis there is an increase in the content of conjugated forms of bile acids – glycolic acid in 2 times ($P = 0.002$), taurocholic acid in 1.57 times ($P = 0.062$) compared with practically healthy persons. In patients with cholelithiasis, the ratio of taurocholic to glycolic acid content (0.95 vs. 1.27, $P = 0.0179$), as well as glycogenodeoxycholic to glycodeoxycholic acid (1.11 vs. 1.58, $P = 0.027$) is significantly less than that in practically healthy persons. In addition, one in two patients with cholelithiasis does not reveal the presence of ursodeoxycholic acid in the bile.

Conclusions. The lithogenic properties of bile are primarily caused by conjugated forms of cholic acid with glycine and taurine content violation. The ratio of taurocholic to glycolic acid content in patients with cholelithiasis is significantly lower than the similar index in practically healthy persons (0.95 vs. 1.27, $P = 0.0179$). The ratio of glycine conjugated bile acids content, namely glycogenodeoxycholic to glycodeoxycholic acid, in patients with cholelithiasis is also significantly lower than in practically healthy individuals (1.11 versus 1.58, $P = 0.027$). Ursodeoxycholic acid is not defined in bile of one in two patients with cholelithiasis (50 %), while it is absent in every seventh among practically healthy persons (14.29 %).

Жовчні кислоти (ЖК) є основною складовою жовчі, на їхню долю припадає майже 60 % органічних сполук. У жовчі людини переважно містяться холева (3,7,12-триоксихоланова), дезоксихолева (3,12-діоксихоланова) та хенодезоксихолева (3,7-дезоксихоланова) кислоти, та в невеликій кількості – літохолева (3 α -оксихоланова) кислота, а також алохолева й урсодезоксихолева кислоти, останні є стереоізомерами холевої та хенодезоксихолевої кислот. Питома вага основних ЖК у жовчі людини: хенодезоксихолевої – 35 %, холевої – 35 %, дезоксихолевої – 25 %, урсодезоксихолевої – 4 %, літохолевої – 1 % [4].

Біосинтез ЖК – один із важливих шляхів виведення холестерину з організму. ЖК є кінцевим продуктом метаболізму холестерину в гепатоциті. Холестерин окислюється в ЖК, і таким чином виводиться з організму до 80 % загального пулу холестерину [3]. ЖК, що синтезуються з холестерину в печінці, є первинними (холева та хенодезоксихолева кислоти) [5]. Вторинні ЖК утворюються з первинних ЖК під впливом кишкових бактерій, на 30–50 % поглинаються з кишечника та після кон'югації з гліцином і таурином у печінці виділяються в жовчні каналці. Отже, жовч містить суміш первинних і вторинних ЖК [2]. Третинні ЖК – результат модифікації вторинних ЖК кишковою мікрофлорою та/або гепатоцитами. Поглинена літохолева кислота перетворюється в печінці в сульфохолеву кислоту. Кетолітохолева кислота перетворюється в печінці та в кишечнику в урсодезоксихолеву кислоту [7].

ЖК, котрі синтезовані в гепатоциті, через систему жовчних протоків потрапляють у дванадцятипалу кишку, де беруть активну участь у процесах метаболізму, всмоктування жирів. Велика частина ЖК всмоктується переважно в дистальному відділі тонкої кишки у кров і через систему ворітної вени знову потрапляє в печінку,

де реабсорбується гепатоцитами й знову виділяється з жовчю, завершуючи enteroгепатичний кругообіг. Залежно від характеру та кількості прийнятої їжі кількість enteroгепатичних циклів протягом доби може досягати 3–10 [2].

У нормальних умовах 90–95 % ЖК піддається зворотному всмоктуванню. Реабсорбція відбувається внаслідок пасивного та активного всмоктування в клубовій кишці, а також пасивного зворотного всмоктування в товстій кишці. При відсутності порушень enteroгепатичної циркуляції тільки невелика частина ЖК (майже 5–10 %) втрачається з фекаліями, що поповнюється синтезом нових ЖК (приблизно 300–600 мг) [6]. Жовчними кислотам належить провідна роль у стабілізації фізико-колоїдних властивостей жовчі. Наслідки нестачі ЖК призводять до утворення холестеринових каменів у жовчному міхурі, діареї та стеатореї, порушення всмоктування жиророзчинних вітамінів, утворення каменів у нирках (оксалатів) [1].

Мета роботи

Дослідження порушень складу жовчі, особливо вмісту ЖК, у хворих на жовчнокам'яну хворобу (ЖКХ) за допомогою сучасних методів аналітичного аналізу (рідинна хроматографія з мас-спектрометричною детекцією), що дасть можливість доповнити сучасні уявлення про механізми літогенезу та спрямувати зусилля на запобігання каменеутворення в жовчному міхурі.

Матеріали і методи дослідження

Робота виконана відповідно до програми сумісних досліджень кафедри факультетської хірургії (завідувач кафедри – професор В. М. Клименко) та кафедри фізіологічної хімії (завідувач кафедри – професор

Key words:
bile acids,
cholelithiasis, liquid
chromatography,
mass spectrometric
detection.

Zaporozhye
medical journal
2017; 19 (6), 752–757

Таблиця 1. Умови градієнтного елюювання

Час	Відсоток В
0 хв	10 %
5 хв	100 %
10 хв	100 %

Результати

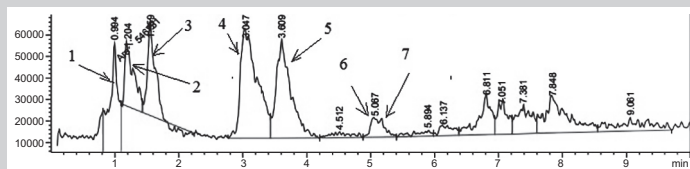


Рис. 2. Хроматограма з мас-спектрометричною детекцією зразка жовчі в режимі сканування.

- 1: таурохолева кислота, 2: таурохенодезоксихолева та тауродезоксихолева кислоти,
- 3: глікохолева кислота, 4: глікохенодезоксихолева кислота,
- 5: глікодезоксихолева кислота, 6: хенодезоксихолева кислота,
- 7: дезоксихолева кислота.

Таблиця 2. Моноізотопні маси та m/z іонів жовчних кислот та їхніх кон'югатів

Назва кислоти	Моноізотопна молекулярна маса, г/моль	m/z іонів
Холева кислота	408,287	407,3
Хенодезоксихолева кислота	392,292	391,2
Дезоксихолева кислота	392,292	391,2
Глікохолева кислота	465,3	464,3
Глікохенодезоксихолева кислота	449,31	448,4
Глікодезоксихолева кислота	449,31	448,4
Таурохолева кислота	515,291	514,2
Таурохенодезоксихолева кислота	499,297	498,2
Тауродезоксихолева кислота	499,297	498,2

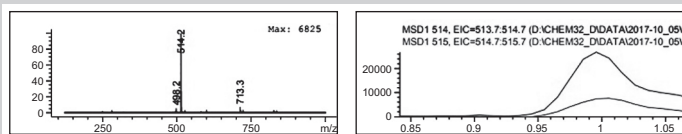


Рис. 3. Мас-спектр і хроматограма по виділених іонах таурохолевої кислоти (1).

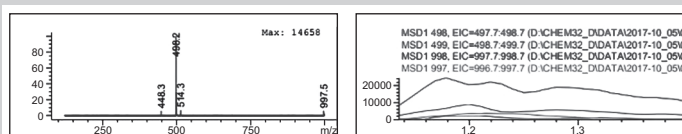


Рис. 4. Мас-спектр і хроматограма по виділених іонах таурохенодезоксихолевої та тауродезоксихолевої кислот (2).

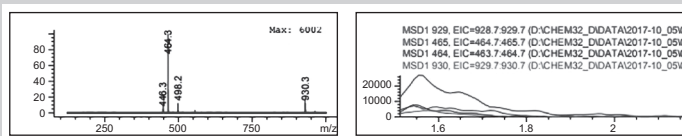


Рис. 5. Мас-спектр і хроматограма по виділених іонах глікохолевої кислоти (3).

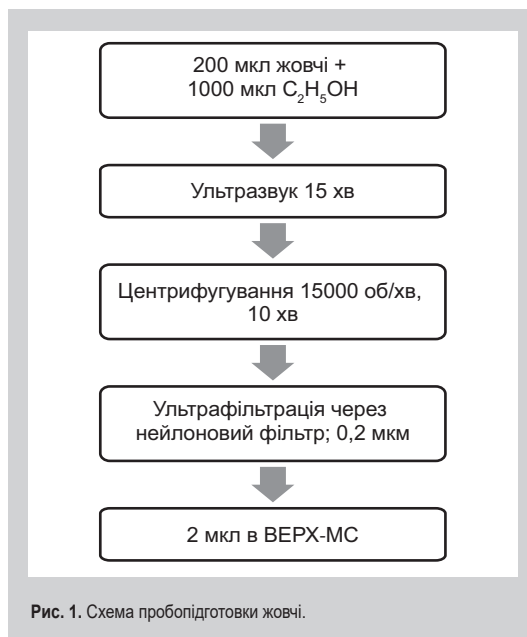


Рис. 1. Схема прободготовки жовчі.

А. Г. Каплаушенко) ЗДМУ. Аналізували зразки жовчі, котрі отримали під час оперативних втручань на жовчному міхурі з приводу жовчнокам'яної хвороби без супутніх запальних процесів жовчовивідних шляхів, і зразки жовчі, що одержали під час автопсії в пацієнтів, які загинули від будь-якої причини, крім захворювань печінки та/або жовчовивідних шляхів. Забір жовчі в кількості 10 мл виконували шляхом пункції жовчного міхура. У такий спосіб до основної групи залучили 14 зразків жовчі хворих на холелітіаз, а до контрольної групи – 7 зразків жовчі без холелітіазу. Зразки жовчі підлягали вивченню на вміст ЖК за допомогою рідинної хроматографії з мас-спектрометричною детекцією.

Схема підготовки зразків жовчі до хроматографування наведена на *рисунку 1*.

Прилад та умови хроматографування. Дослідження здійснили за допомогою приладу LC MS: Agilent 1260 Infinity HPLCSystem (дегазатор, бінарний насос, автосамплер, термостат колонки, діодно-матричний детектор; одноквадрупольний мас-спектрометр Agilent 6120 з іонізацією в електроспрі (ESI); OpenLAB CDS Software. Умови проведення ВЕРХ-МС дослідження: 1. Бінарний градієнт А: 60 % H₂O, 40 % CH₃CN, 0,1 % HCOOH, 10 mM HCOONH₄, В: 10 % CH₃CN, 90 % Ізопропанол, 0,1 % HCOOH, 10 mM HCOONH₄; 2. Колонка Zorbax SB-C18; 30 мм x 4,6 мм; 1,8 мкм із предколонкою; 3. Температура колонки: 55 °C; 4. Джерело іонів: ESI; 5. Сканування в діапазоні m/z: 120–1000; 6. Режим селективного моніторингу іонів SIM: m/z 391, 448; 7. Фрагментор: 150 V; 8. Негативна полярність; 9. Температура азоту – 300 °C; 10. Тиск на небулайзері 60 psi; 11. Швидкість газу осушувача (азоту) – 10 л/хв. Умови градієнтного елюювання наведені в *таблиці 1*.

Ідентифікація жовчних кислот та їхніх кон'югатів (*рис. 2–8*) здійснювалась на підставі даних наукової літератури [3]. Отримані мас-спектри хроматографічних піків сполук відповідали моноізотопним молекулярним масам кислот і квазімолекулярним іонам (іонам депротонованих кислот), що наведено в *таблиці 2*.

На підставі експериментальних даних [9] з визначення LogP більш гідрофобною є глікодезоксихолева (2,25), ніж глікохенодезоксихолева кислота (2,15), тому першою виходить із колонки більш гідрофільна глікохенодезоксихолева кислота: 4 – глікохенодезоксихолева кислота, 5 – глікодезоксихолева кислота (рис. 10). Аналогічно ідентифіковані дезоксихолева та хенодезоксихолева кислоти (рис. 9).

Статистичне опрацювання матеріалів здійснювали з застосуванням пакетів програм Statistica 6.0 («StatSoft», США). Нормальність розподілу кількісних ознак аналізували за допомогою тесту Шапіро–Уїлка. Дані описової статистики надані у вигляді середнього арифметичного та стандартного відхилення ($M \pm SD$) для показників, що мали нормальний розподіл, і медіани з міжквартильним розмахом – $Me [Q_{25}; Q_{75}]$ для параметрів із розподілом, що відрізняється від нормального. Порівняння показників у групах здійснили з застосуванням критеріїв Стюдента та Манна–Уїтні відповідно, порівняння якісних ознак – за критерієм McNemar Chi-square. Усі статистичні тести були двобічними, значущим вважали рівень $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення

В таблиці 3 наведено вміст жовчних кислот у жовчі у практично здорових осіб та хворих на жовчнокам'яну хворобу.

За вмістом кон'югатів хенодезоксихолевої та дезоксихолевої кислот із гліцином зразки жовчі хворих і практично здорових осіб вірогідно не розрізнялись. Однак показник співвідношення глікохенодезоксихолевої до глікодезоксихолевої кислоти був вірогідно вищим у практично здорових осіб, ніж у хворих на ЖКХ, і становив 1,58 проти 1,11 ($p = 0,027$).

За даними [5], співвідношення холевої та хенодезоксихолевої кислот у нормі становить 1:1. Добовий дебіт первинних жовчних кислот коливається від 300 до 1000 мг. Синтез ЖК є стійким фізіологічним процесом, генетичні дефекти синтезу жовчних кислот виявляються доволі рідко: приблизно 1–2 % холестатичних уражень у дітей.

За результатами наших досліджень, у хворих на ЖКХ у жовчі виявився вірогідно більшим на 50,5 % вміст глікохолевої кислоти та на 36,5 % ($p = 0,062$) – таурохолевої кислоти порівняно з аналогічними показниками у практично здорових осіб. Відношення вмісту таурохолевої до глікохолевої кислоти в жовчі виявилось вірогідно вищим у практично здорових осіб, ніж у хворих на ЖКХ (1,27 проти 0,95, $p = 0,0179$). Вільна холева кислота в жовчі як у хворих, так і практично здорових осіб не визначалась, тільки у вигляді кон'югатів із таурином або гліцином.

За даними [2], у фізіологічних умовах вільні (некон'юговані) ЖК практично не виявляються та секретуються переважно у вигляді кон'югатів із гліцином і таурином. У нормі гліцинові кон'югати переважають у відношенні від 3:1 до 4:1. Кон'югати холевої кислоти становлять 38 %, кон'югати хенодезоксихолевої кислоти – 35 %, кон'югати дезоксихолевої кислоти – 28 %, 1–2 % кон'югати літохолевої кислоти.

Кон'югати жовчних кислот з амінокислотами є більш полярними сполуками, ніж вільні ЖК, що дає їм можли-

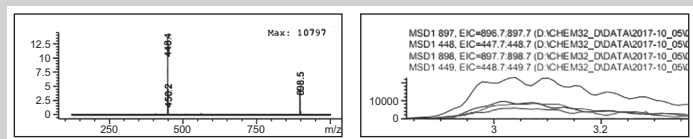


Рис. 6. Мас-спектр і хроматограма по виділеній іоні (4).

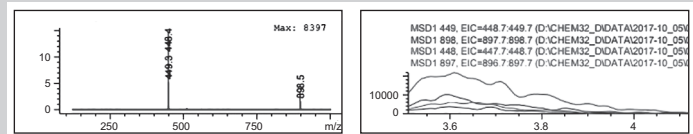


Рис. 7. Мас-спектр і хроматограма по виділеній іоні глікодезоксихолевої кислоти (5).

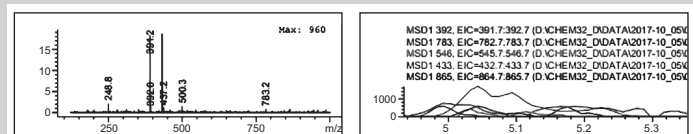


Рис. 8. Мас-спектр і хроматограма по виділеній іоні хенодезоксихолевої та дезоксихолевої кислот (6) та (7).

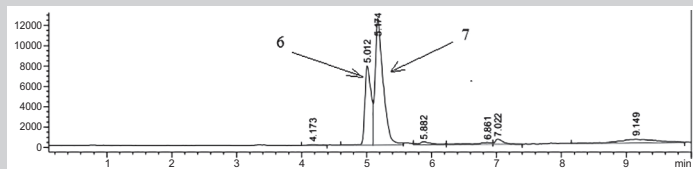


Рис. 9. Хроматограма з мас-спектрометричною детекцією зразка жовчі в SIM режимі m/z 391.

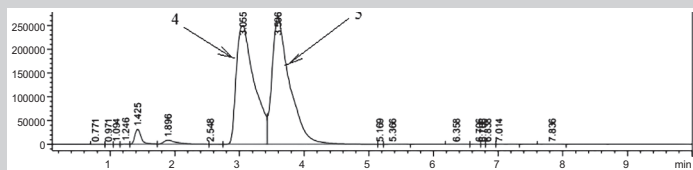


Рис. 10. Хроматограма з мас-спектрометричною детекцією зразка жовчі в SIM режимі m/z 448.

вість легше сегрегатуватися через мембрану гепатоцита. Крім того, кон'юговані ЖК мають меншу критичну концентрацію міцелоутворення. Фізіологічне значення кон'югованих ЖК також полягає в їхній здатності впливати на процеси клітинного оновлення [3]. Кон'югати холевої та хенодезоксихолевої кислоти частково декон'югуються (внаслідок відщеплення амінокислот таурину й гліцину) та дегідроксильються. У результаті відбувається утворення вторинних ЖК. З тригідроксильованої холевої кислоти утворюється дигідроксильована дезоксихолева кислота, а з дигідроксильованої хенодезоксихолевої кислоти – моногідроксильована літохолева кислота [2].

Щодо третинної (урсодезоксихолевої) кислоти, то вірогідної різниці щодо її вмісту у хворих на ЖКХ і практично здорових осіб нами не виявлено. Але у практично

Таблиця 3. Вміст жовчних кислот у жовчі хворих на ЖКХ та у практично здорових осіб

Показник, одиниці вимірювань	Жовч хворих на ЖКХ, n = 14	Жовч практично здорових осіб, n = 7	p-level Mann-Whitney U Test
GCDCA, mAU	183943 ± 70969	114902 ± 97677	0,100
GDCА, mAU	157045 ± 87216	87864 ± 75682	0,117
GCDCA + GDCA, mAU	340988 ± 146635	202766 ± 162689	0,073
GCDCA/GDCA, ум. од.	1,11 (0,86; 1,54)	1,58 (0,67; 2,37)	0,027
CDCA, mAU	794 (274; 6439)	390 (176; 12388)	0,940
DCA, mAU	866 (415; 4630)	944 (290; 10536)	1,000
CDCA + DCA, mAU	1699 (664; 11069)	1274 (466; 22924)	0,940
CDCA/DCA, ум. од.	0,83 (0,62; 1,01)	0,94 (0,59; 1,30)	0,881
(GCDCA + GDCA)/(CDCA + DCA), ум. од.	245 (41; 338)	36 (3; 360)	0,601
GCDCA/CDCA, ум. од.	229 (67; 629)	78 (4; 410)	0,411
GDCA/DCA, ум. од.	211 (31; 280)	25 (2; 327)	0,601
TCA, mAU	48992 (32696; 60802)	31123 (24758; 41032)	0,062
TCDCА + TDCA, mAU	40948 (25202; 46909)	34024 (22666; 34174)	0,598
GCA, mAU	50889 (39452; 77420)	25213 (20274; 32266)	0,002
UDCA, mAU	2794 (2487; 4450)	2532 (2425; 3065)	0,567
TCA/GCA, ум. од.	0,95 (0,83; 1,02)	1,27 (1,09; 1,75)	0,017

GCA: глікохолева кислота, TCA: таурохолева кислота, CDCA: хенодезоксикохолева кислота, DCA: дезоксикохолева кислота, GCDCA: глікохенодезоксикохолева кислота, GDCA: глікодезоксикохолева кислота, TCDCА: таурохенодезоксикохолева кислота, TDCA: тауродезоксикохолева кислота, UDCA: урсодезоксикохолева кислота.

здорових осіб урсодезоксикохолева кислота була відсутня тільки в одному зразку з сімох (14,29 %), тоді як не визначалась у кожному другому (50,0 %) зразку жовчі у хворих на ЖКХ ($p = 0,0771$), що свідчить про суттєвий вплив дефіциту урсодезоксикохолевої кислоти на літогенез.

Наявність препаратів урсодезоксикохолевої кислоти створює сприятливі умови для потенційно можливої корекції виявленого дефіциту третинної ЖК у хворих на холелітіаз із метою запобігання каменеутворення. До того ж урсодезоксикохолева кислота має властивості гідрофільності, що вигідно виділяє її з ряду жовчних кислот. Відомо, що жовчні кислоти, лецитини жовчі та холестерину є амфіфільними з'єднаннями. Вони підрозділяються на гідрофобні (ліпофільні) та гідрофільні кислоти. До першої групи належать холева, дезоксикохолева та літохолева, а до другої – урсодезоксикохолева і хенодезоксикохолева. Гідрофобні ЖК викликають важливі травні ефекти, як-от: емульгація жирів, стимуляція панкреатичної ліпази, утворення міцел із жирними кислотами тощо, стимулюють виділення в жовч холестерину та фосфоліпідів, знижують синтез α -інтерферону гепатоцитами, а також володіють вираженими детергентними властивостями. Гідрофільні ЖК також мають травні ефекти, але знижують кишкову абсорбцію холестерину, його синтез у гепатоциті та надходження в жовч, зменшують детергентну дію гідрофобних ЖК, стимулюють виділення гепатоцитами α -інтерферону [2].

З гідрофобними властивостями жовчних кислот тісно пов'язана токсичність, що зростає в такому порядку: холева кислота → урсодезоксикохолева кислота → хенодезоксикохолева кислота → дезоксикохолева кислота → літохолева кислота. Зв'язок гідрофобності та токсичності кислот зумовлений ліпофільністю кислот, що дає їм можливість проникати в ліпідні шари клітинних мембран і мембран мітохондрій, викликати порушення їхніх функцій і загибелі. Тоді як вторинні жовчні кислоти (DCA, LCA) надзвичайно токсичні, підвищення первинних жовчних кислот (CA, CDCA) вважається менш небезпечним. Опубліковано, що при хронічному холестазі концентрації первинних жовчних кислот помітно підвищуються, тоді як концентрації вторинних жовчних кислот зменшуються [8].

Отже, виявлені нами зміни в жовчі у хворих на ЖКХ дають можливість констатувати збільшення вмісту кон'югованих форм жовчних кислот: глікохолевої кислоти – вдвічі ($p = 0,002$), таурохолевої кислоти – в 1,57 раза ($p = 0,062$) порівняно з практично здоровими особами. У хворих на ЖКХ співвідношення вмісту таурохолевої та глікохолевої кислот, а також глікохенодезоксикохолевої та глікодезоксикохолевої кислот є вірогідно меншим, ніж у практично здорових осіб. До того ж у кожного другого хворого на ЖКХ не виявляється в жовчі урсодезоксикохолева кислота.

Висновки

Літогенні властивості жовчі зумовлені порушенням вмісту передовсім кон'югованих форм холевої кислоти з гліцином і таурином. Вміст глікохолевої кислоти в жовчі хворих на ЖКХ удвічі ($p = 0,002$) більший за її вміст у жовчі практично здорових осіб. Також спостерігається тенденція до збільшення вмісту таурохолевої кислоти в жовчі хворих на ЖКХ в 1,57 раза ($p = 0,062$), ніж у практично здорових осіб.

1. Співвідношення вмісту таурохолевої до глікохолевої кислоти у хворих на ЖКХ вірогідно менше за аналогічний показник у практично здорових осіб (0,95 ум. од. проти 1,27 ум. од., $p = 0,0179$).

2. Співвідношення вмісту кон'югованих із гліцином жовчних кислот, а саме: глікохенодезоксикохолевої до глікодезоксикохолевої кислоти – у хворих на ЖКХ було також вірогідно меншим, ніж у практично здорових осіб (1,11 ум. од. проти 1,58 ум. од., $p = 0,027$).

3. Третинна жовчна кислота (урсодезоксикохолева) не визначається в кожного другого хворого на ЖКХ (50 %), тоді як у практично здорових осіб вона відсутня тільки в кожного сьомого (14,29 %).

Перспективи подальших досліджень полягають у вивченні можливостей фармакологічної корекції порушень складу жовчних кислот у жовчі, наприклад, із застосуванням урсодезоксикохолевої кислоти, для зниження літогенних властивостей жовчі та запобігання каменеутворення.

Список літератури

- [1] Бolestи печени и желчевыводящих путей / под ред. В.Т. Ивашкина. – М. : М.-Вести, 2008. – 536 с.
- [2] Козлов А.В. Методы определения желчных кислот / А.В. Козлов, В.В. Слепышева, Е.Н. Ребякова // Terra Medica. Лабораторная диагностика. – 2013. – №1(28). – С. 3–8.
- [3] Burkard I. Differentiated quantification of human bile acids in serum by high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry / I. Burkard, A. von Eckardstein, K.M. Rentsch // J. Chromatogr. B. – 2005. – Vol. 826. – P. 147–159.
- [4] The Liver: Biology and Pathobiology / M.C. Carey, W.C. Duane, I.M. Arias, et al. (Eds.). third ed. – N. Y. : Raven Press, 1994. – P. 719.
- [5] The Liver: Biology and Pathobiology / A.F. Hofmann, I.M. Arias, J.L. Boyer, et al. (Eds.). third ed. – N. Y. : Raven Press, 1994. – P. 677.
- [6] Jansen P.L. Mechanisms of bile secretion / P.L. Jansen, A.K. Groen // Zakim and Boyer's Hepatology. A Textbook of liver Disease. Fifth Edition / eds: M.D. Boyer, T.L. Wright, M.P. Manns. – 2006. – Vol. 1. – P. 67–85.
- [7] Kuntz E. Hepatology: principles and practice / E. Kuntz, H.D. Kuntz. – Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, 2002. – 906 p.
- [8] Palmeira C.M. Mitochondrially-mediated toxicity of the bile acids / C.M. Palmeira, A.P. Rolo // Toxicology. – 2004. – Vol. 203(1-3). – P. 1–15.
- [9] Bile acid structure-activity relationship: evaluation of bile acid lipophilicity using 1-octanol/water partition coefficient and reverse phase HPLC / A. Roda, A. Minutello, M.A. Angellotti, A. Fini // Journal of Lipid Research. – 1990. – №31. – С. 1433–1443.

References

- [1] Ivaschkin, V. T. (Ed.) (2008) *Bolezni pecheni i zhelcheyvodyaschikh putej [Diseases of the liver and biliary tract]*. Moscow: M.-Vesty. [in Russian].
- [2] Kozlov, A. V., Slepysheva, V. V., & Rebyakova, E. N. (2013) *Metody opredeleniya zhelchnykh kislot [Methods of estimation bile acids]*. Terra Medica. *Laboratornaya diagnostica*, 1(28), 3–8. [in Russian].
- [3] Burkard, I., von Eckardstein, A., & Rentsch, K. M. (2005). Differentiated quantification of human bile acids in serum by high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr.* 826(1-2), 147–59. doi: 10.1016/j.jchromb.2005.08.016.
- [4] Carey, M. C., Duane, W. C., Arias, I. M., Boyer, J. L., Fausto, N., Jakoby, W. B., et al. (Eds.) (1994). *The Liver: Biology and Pathobiology*. New York: Raven Press.
- [5] Hofmann, A. F., Arias, I. M., Boyer, J. L., Fausto, N., Jakoby, W. B., Schachter, D. A., & Shafritz, D. A. (Eds.) (1994). *The Liver: Biology and Pathobiology*. New York: Raven Press.
- [6] Jansen, P. L., & Groen, A. K. (2006) Mechanisms of bile secretion. *Zakim and Boyer's Hepatology. A Textbook of liver Disease*. M.D. Boyer, T. L. Wright, M. P. Manns (Eds). (Vol. 1), (P. 67–85).
- [7] Kuntz, E., & Kuntz, H. -D. (2006) *Hepatology principles and practice*. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg.
- [8] Palmeira, C. M., & Rolo, A. P. (2004) Mitochondrially-mediated toxicity of the bile acids. *Toxicology*, 203(1-3), 1–15. doi: 10.1016/j.tox.2004.06.001.
- [9] Roda, A., Minutello, A., Angellotti, M. A., & Fini, A. (1990) Bile acid structure-activity relationship: evaluation of bile acid lipophilicity using 1-octanol/water partition coefficient and reverse phase HPLC. *Journal of Lipid Research*, 31, 1433–1443.

Відомості про авторів:

Клименко В. М., д-р мед. наук, професор, зав. каф. факультетської хірургії, Запорізький державний медичний університет, Україна.
 Сиволап Д. В., аспірант каф. факультетської хірургії, Запорізький державний медичний університет, Україна.
 Каплаушенко А. Г., д-р фарм. наук, доцент, зав. каф. фізколоїдної хімії, Запорізький державний медичний університет, Україна.
 Варинський Б. О., канд. фарм. наук, доцент каф. фізколоїдної хімії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Сведения об авторах:

Клименко В. Н., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. факультетской хирургии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.
 Сиволап Д. В., аспирант каф. факультетской хирургии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.
 Каплаушенко А. Г., д-р фарм. наук, доцент, зав. каф. физколоидной химии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.
 Варинский Б. А., канд. фарм. наук, доцент каф. физколоидной химии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Information about authors:

Klymenko V. M., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Faculty Surgery, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.
 Syvolap D. V., MD, Postgraduate Student, Department of Faculty Surgery, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.
 Kaplaushenko A. G., Dr.hab., Associate Professor, Head of the Department of Physical and Colloidal Chemistry, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.
 Varynskyi B. O., Ph.D., Associate Professor, Department of Physical and Colloidal Chemistry, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of Interest: authors have no conflict of interest to declare.

Надійшло до редакції / Received: 19.09.2017

Після доопрацювання / Revised: 25.09.2017

Прийнято до друку / Accepted: 06.10.2017