

Естественные науки. 2022. № 4 (9). С. 4–16.

Yestestvennyye nauki = Natural Sciences. 2022; 4(9):4–16 (In Russ.)

Научная статья

УДК 577.152.1:616.366-003.7

doi 10.54398/1818507X_2022_4_4

**ВЛИЯНИЕ УЛЬТРАСТРУКТУРЫ И МИНЕРАЛЬНОГО СОСТАВА
ЖЕЛЧНЫХ КАМНЕЙ НА РАЗВИТИЕ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА
ПРИ ЖЕЛЧНОКАМЕННОЙ БОЛЕЗНИ**

*Колмакова Татьяна Сергеевна¹✉, Яловега Галина Эдуардовна²,
Оксенюк Оксана Станиславна³, Brzhezinskaya Maria⁴,
Смирнова Ольга Борисовна⁵, Беликова Елена Александровна⁶,
Асланов Альберт Михайлович⁷*

^{1,3,5,6,7}Ростовский государственный медицинский университет,
г. Ростов-на-Дону, Россия

²Южный федеральный университет, г. Ростов-на-Дону, Россия

⁴Helmholtz-Zentrum Berlin für Materialien und Energie GmbH,
Berlin, Germany

¹tat_kolmakova@mail.ru✉

Аннотация. В статье приведены данные исследований, посвящённые изучению возможной связи химического состава и ультраструктуры желчных камней разного типа и окислительного стресса в патогенезе желчнокаменной болезни (ЖКБ). Установлено, что желчные камни всех типов имеют максимальное скопление металлов в периферическом слое. Во всех образцах обнаружены Ca, Fe, Zn, Cu. Установлено снижение антиоксидантной защиты в крови больных острой и хронической формами желчнокаменной болезни. Авторы полагают наличие патогенетической связи между снижением активности металлопротеиновых ферментов антиоксидантной защиты, накоплением металлов в желчных камнях и формированием воспаления в желчном пузыре.

Ключевые слова: минеральный состав желчных камней, химические элементы, ультраструктура, этапы формирования желчных камней, желчнокаменная болезнь, окислительный стресс, антиоксидантная система

Для цитирования: Колмакова Т. С., Яловега Г. Э., Оксенюк О. С., Brzhezinskaya M., Смирнова О. Б., Беликова Е. А., Асланов А. М. Влияние ультраструктуры и минерального состава желчных камней на развитие оксидативного стресса при желчнокаменной болезни // Естественные науки. 2022. № 4 (9). С. 4–16. https://doi.org/10.54398/1818507X_2022_4_4.

EFFECT OF BILE STONE ULTRASTRUCTURE AND MINERAL COMPOSITION ON DEVELOPMENT OF OXIDATIVE STRESS IN GALLSTONE DISEASE

*Kolmakova Tatyana S.¹, Yalovega Galina E.², Oksenyuk Oksana S.³,
Brzhezinskaya Maria⁴, Smirnova Olga B.⁵, Belikova Elena A.⁶,
Aslanov Albert M.⁷*

^{1,3,5,6,7}Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia

²Southern Federal University, Rostov-on-Don, Russia

⁴Helmholtz-Zentrum Berlin für Materialien und Energie GmbH,
Berlin, Germany

¹tat_kolmakova@mail.ru✉

Abstract. The article provides research data on the possible connection of the chemical composition and ultrastructure of different types of gallstones and oxidative stress in the pathogenesis of cholelithiasis (GI). Gallstones of all types have been found to have a maximum accumulation of metals in the peripheral layer. Ca, Fe, Zn, Cu were found in all samples. A decrease in antioxidant protection in the blood of patients with acute and chronic forms of cholelithiasis has been established. The authors believe that there is a pathogenetic link between a decrease in the activity of metalloprotein enzymes of antioxidant protection, the accumulation of metals in the gallstones and the formation of inflammation in the gallbladder.

Keywords: mineral composition of gallstones, chemical elements, ultrastructure, cholelithiasis, stages of gallstones formation, oxidative stress, antioxidant system. stages of gallstones formation

For citation: Kolmakova T. S., Yalovega G. E., Oksenyuk O. S., Brzhezinskaya M., Smirnova O. B., Belikova E. A., Aslanov A. M. Influence of ultrastructure and mineral composition of gallstones on the development of oxidative stress in cholelithiasis. *Yestestvennyye nauki = Natural Sciences*. 2022; 4(9):4–16. https://doi.org/10.54398/1818507X_2022_4_4.

Введение. Желчнокаменная болезнь (ЖКБ) является одной из ведущих хирургических патологий. За последние годы частота встречаемости заболевания заметно увеличилась, возраст пациентов стал моложе, гендерные различия – меньше [3, 9]. Однако в характеристике заболевания остаётся длительное бессимптомное течение и связанное с ним позднее обращение к врачу. В таких ситуациях в большинстве случаев речь идёт о сформировавшейся патологии на завершающей стадии развития, когда практически неизбежно хирургическое лечение, сроки которого определяются частотой и силой приступов боли. Современные методы диагностики, в первую очередь УЗИ, позволяют поставить диагноз ЖКБ до первого болевого приступа, как правило, – это случайные находки при уже сформировавшейся патологии. И это даёт основание полагать, что бессимптомное течение ЖКБ приходится на начальный этап формирования камней в желчном пузыре.

По современным представлениям, матрицей для камнеобразования являются белки желчи, кристаллы холестерина или билирубина. Согласно метаболической концепции развития желчнокаменной болезни, происходит

перенасыщение желчи холестерином [10]. Рассматриваются две возможные причины литогенеза желчи. Первая – метаболическая. В её основе лежит нарушение обмена холестерина за счёт повышения активности гидроксиметилглутарил-коэнзим А-редуктазы (ГМГ-КоА-редуктаза) и снижение синтеза желчных кислот, которые выводят холестерин из печени в виде смешанных мицелл. Избыток холестерина транспортируется в фосфолипидных пузырьках, которые легко агрегируются с образованием крупных многослойных пузырьков. Последние отличаются нестабильностью и из них осаждаются кристаллы моногидрата холестерина, которые дают начало желчным камням [11].

В середине 1990-х активно обсуждалась инфекционная природа инициации камнеобразования, согласно которой первым этапом является белковая преципитация, детерминированная воспалением в желчном пузыре, вызванном различными микроорганизмами. К концу 1990-х гг. было официально признано, что теория патогенеза холелитиаза сводится к объединению метаболической и инфекционной теорий [4].

Конкременты в желчном пузыре различаются по форме, размеру и количеству. По химическому составу различают: холестериновые (чистые и смешанные) и билирубиновые (пигментные) коричневые и чёрные. В зависимости от степени насыщения солями кальция конкременты подразделяются на две группы: кальцифицированные (обызвествлённые) и некальцифицированные (необызвествлённые). Известно, что желчные камни обладают кумулятивными свойствами, и в них могут накапливаться вещества, содержащиеся в окружающей среде даже в незначительных количествах, что [1] отражается на их химическом составе. Согласно данным испанских исследователей, у жителей провинций с высоким уровнем загрязнения тяжёлыми металлами химический состав камней, особенно смешанных и пигментных, отличался более высоким содержанием металлов по сравнению с «чистой» популяцией [13].

Среди немногочисленных исследований данного вопроса следует отметить данные Anga R., Verma F. с соавт., согласно которым повышенный уровень желчного кальция и микроэлементов, а также Ph фактор желчи у пациентов с хроническим желчнокаменной болезнью могут быть основными факторами патогенеза желчнокаменной болезни. Неспособность слизистой оболочки желчного пузыря поглощать кальций и микроэлементы, по-видимому, является причиной их более высокой концентрации в желчи. Авторы показали, что пигментные камни имеют значительно более высокое содержание кальция, меди и железа, чем холестериновые [12].

Установлена причастность тяжёлых металлов, содержащихся в желчных камнях, к канцерогенезу желчного пузыря, которые распределены неодинаково в камне, в некоторых частях они обнаружены в высокой концентрации [7, 13, 16].

Таким образом, изучение минерального состава желчных камней, его распределения в желчных конкрементах разного типа и их участие в патогенезе данного заболевания является актуальным.

На основании изложенного выше в настоящей работе проведено изучение ультраструктуры и минерального состава желчных камней, а также активность свободнорадикальных процессов в крови и желчи больных ЖКБ.

Материалы и методы исследования. Обследовано 67 пациентов с диагнозом «калькулезный холецистит», проходивших хирургическое лечение в БСМП № 1 г. Ростова-на-Дону. Из общей группы пациентов были выделены две группы в зависимости от течения заболевания: 1 группа с острым течением калькулезного холецистита и 2 группа с хроническим калькулезным холециститом без болевого синдрома при плановой госпитализации на хирургическое лечение ЖКБ.

Морфология поверхности и внутренних зон 10 камней различного типа исследована методом сканирующей электронной микроскопии с использованием электронного микроскопа LEO 1560 (Zeiss, Германия). Для получения информации о морфологии поверхности методом сканирующей электронной микроскопии используются вторичные и отражённые электроны. Контраст во вторичных электронах сильнее всего зависит от рельефа поверхности, тогда как отражённые электроны несут информацию о распределении электронной плотности (области, обогащённые элементами с большим атомным номером, выглядят светлее) предоставляя дополнительную информацию о составе образца.

Микроэлементный статус образцов желчных камней был определён методом рентгенофлуоресцентного анализа. Зарегистрированы обзорные спектры рентгеновской флуоресценции 32 камней на линии КМС-2, источника синхротронного излучения Bessy (II) (Берлин, Германия). Измерения проведены в диапазоне энергии ионизации от 1 до 12 кэВ, что соответствует диапазону определяемых элементов от Na до Br. С использованием программного кода Winshell (Max) была проведена идентификация K α -характеристических линий исследуемых образцов.

Показатели свободнорадикального окисления (СРО) определяли методом хемилюминесцентного анализа, Fe²⁺-индуцированную хемилюминесценцию оценивали по алгоритму, разработанному Владимировым Ю. А. с соавт. [5, 6] на отечественном хемилюминотестере ЛТ-1 производства НПО «Люмин», оснащённом компьютерным обеспечением, по методике Басова А. А. с соавт. Метод позволяет оценить паритет антиоксидантных и прооксидантных механизмов, так как на интенсивность свечения оказывает влияние полный комплекс соединений, содержащихся в биоматериале. При оценке Fe²⁺-индуцированной хемилюминесценции исследовали амплитуду быстрой вспышки (H), характеризующий содержание гидроперекисей в образце, амплитуду медленной вспышки, косвенно указывающую на содержание субстратов, способных к переокислению (h), светосумму, отражающую способность биосубстрата к развитию цепных процессов окисления (Sm) и тангенс угла наклона левого плеча медленной вспышки (tg α), определяющего скорость окисления липидов или скорость нарастания интенсивности свечения биопробы.

Из АО ферментов в сыворотке крови определяли: активность фермента супероксиддисмутазы (СОД) по методу [15], основанному на ингибировании восстановления нитросинего тетразолия (НТС) с помощью супероксида, генерирующегося при аутоокислении адреналина.

При определении активности каталазы в плазме крови использовали метод Королук М. А. и соавт. [8]. Данный метод основан на спектрофотометрическом измерении количества окрашенного продукта, образующегося при реакции H_2O_2 с молибденово-кислым аммонием.

Активность фермента глутатионпероксидазы – по методу Beutler E. в модификации Юсуповой [14]. Определение количества церулоплазмينا (ЦП) сыворотки крови проводили модифицированным колориметрическим методом Ревина, описанным Колб В. Г. и соавт. Все методики подробно описаны в [2].

Для измерения показаний использовали спектрофотометр фирмы HITACHI-2900.

Забор крови из кубитальной вены у пациентов 1 группы проводили непосредственно при госпитализации, а у пациентов 2 группы – за 24 ч до операции. Желчь в объёме 15–20 мл аспирировали из желчного пузыря через катетер в ходе операции при выполнении холецистэктомии путём пункции желчного пузыря в бессосудистой зоне. Контрольную группу для изучения СРО крови составили 26 здоровых доноров сопоставимых по полу и возрасту.

Исследование крови и желчи проводили при письменном согласии пациентов.

Статистическая обработка результатов выполнена с использованием критерия χ^2 Пирсона с поправкой Мантеля – Хэнзеля на правдоподобие (M-L Chi-square), коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Статистическую связь между признаками считают значимой, если соответствующий уровень доверительной вероятности $p \leq 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение. В работе выполнено изучение структуры камней, извлечённых во время холинэктомии. Размеры и количество камней у пациентов значительно отличались, что даёт основание полагать отсутствие связи между этими характеристиками конкрементов и клиническими проявлениями заболевания.

По макроморфологическим характеристикам из общего числа изученных желчных камней 37,5 % (30 шт.) относились к гомогенным холестериновым, 50 % (40 шт.) – к смешанным и 12,5 % (10 шт.) – к камням билирубинового типа.

На рисунках 1–3 приведены микрофотографии внутреннего строения и поверхностных слоёв представителей различного типа камней, полученные методом сканирующей электронной микроскопии.

Результаты исследования показали, что холестериновые камни имеют слоистую внутреннюю структуру, сформированную множеством плоских «чипсообразных» кристаллитов (рис. 1а). В структуре наблюдаются многочисленные затемнённые области, что может свидетельствовать о скоплении

в этих областях элементов с малым атомным номером, что согласуется с холестериновым типом камня (элементы, входящие в состав холестерина, – С, О и Н). В отличие от внутренней области, изображение поверхности выглядит гораздо светлее, что может свидетельствовать о содержании металлов в поверхностных слоях (рис. 1б).

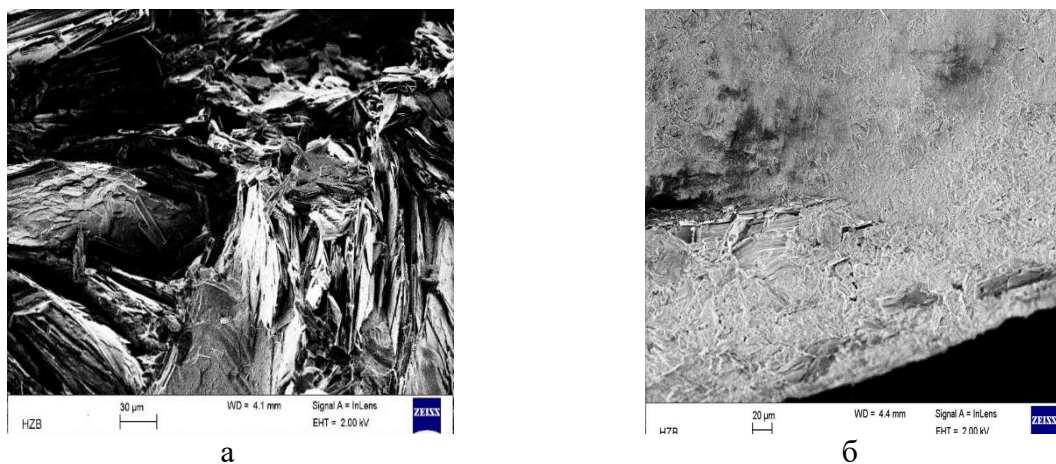


Рисунок 1. Микрофотографии внутренней части и поверхностных слоёв холестеринового камня: а – внутренняя область камня; б – поверхность камня.
Длина масштабной линейки указана в мкм

Внутренняя структура камней смешанного типа представляет собой совокупность крупных монокристаллических блоков, похожих на большие кристаллиты. Во внутренней части отмечались как затемнённые, так и яркие области, что указывает на неравномерность распределения металлов во внутренней части камней, и подтверждается очаговым проведением тока (рис. 2а). В поверхностном слое зарегистрирована высокая плотность токопроводящих металлов (рис. 2б).

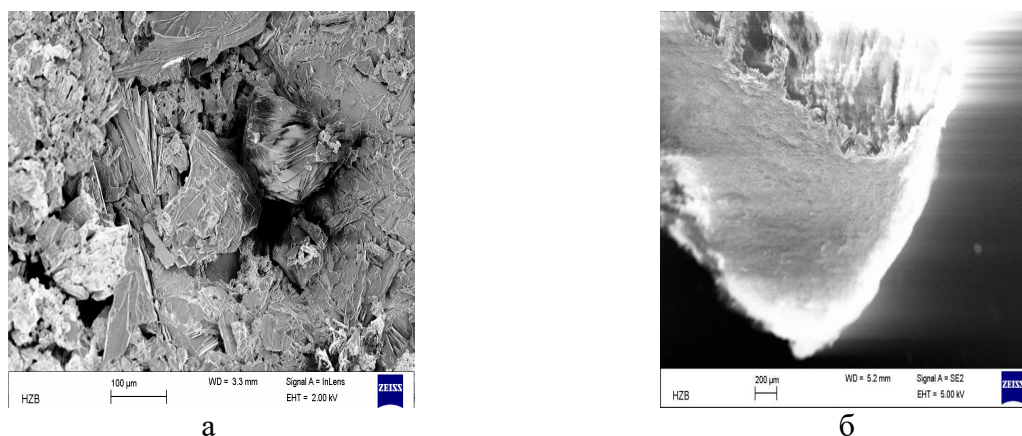


Рисунок 2. Микрофотографии внутренней части и поверхностных слоёв смешанного камня: а – внутренняя часть камня; б – поверхность камня.
Длина масштабной линейки указана в мкм

Пигментные (билирубиновые) камни по своей внутренней структуре схожи со структурой смешанных камней, но с более мелкими кристаллитами (рис. 3а). На снимке внутренней части камня видна затемнённая область,

соответствующая скоплению элементов с малым атомным номером и светлые локусы, что указывает на присутствие металлов. Содержание металлов на поверхности камня также выше, чем во внутренней части, о чем свидетельствует светлая область с высокой электропроводностью (рис. 3б).

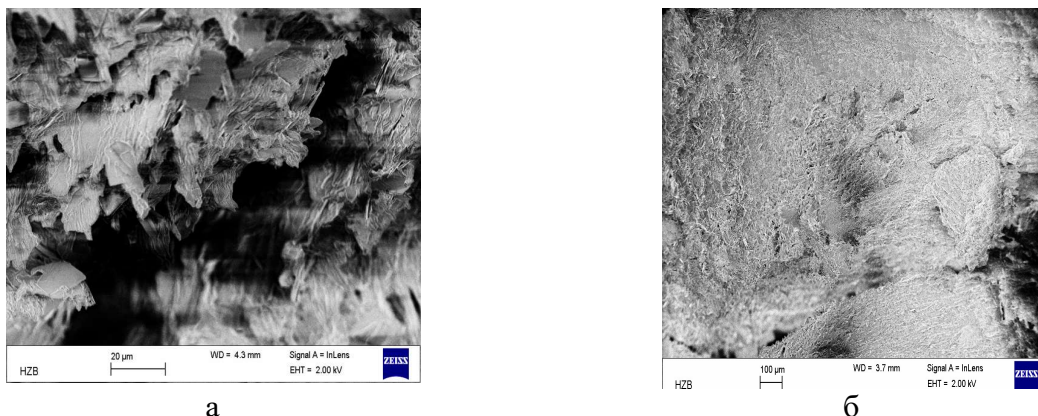


Рисунок 3. Микрофотографии внутренней части и поверхностных слоёв пигментного камня: а – внутренняя часть камня; б – поверхность камня. Длина масштабной линейки указана в мкм

Изучение химического состава показало достаточно высокое сходство элементного состава и частоты встречаемости этих элементов в желчных камнях разного типа (рис. 4).

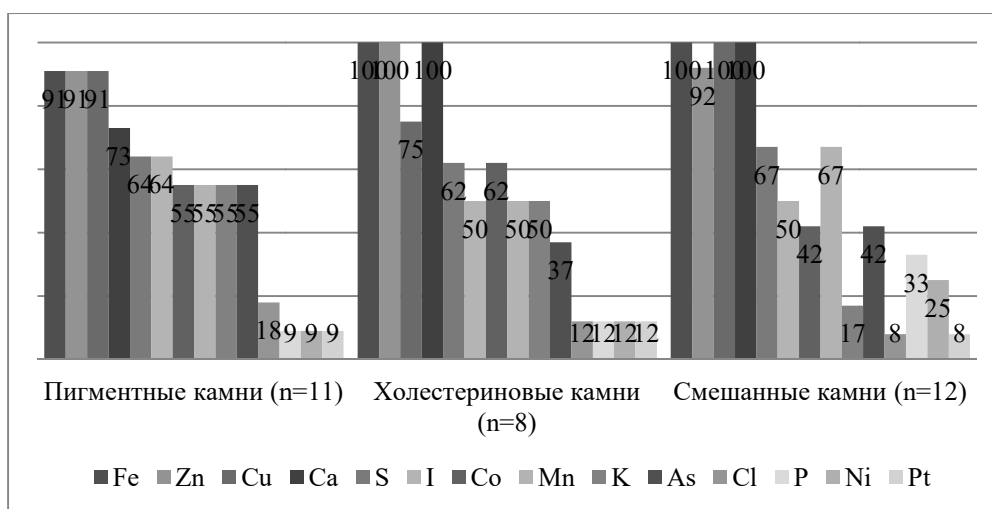


Рисунок 4. Частота встречаемости микроэлементов в желчных камнях разного типа (в %)

В результате проведённого исследования было установлено, что в желчных камнях всех типов максимально представлены металлы Ca, Fe, Zn, Cu. Они были обнаружены практически во всех изучаемых образцах желчных камней независимо от их структуры.

Следующая группа химических элементов, обнаруженных в желчных камнях всех типов более чем в 50 % изучаемых образцов, представлены как металлами, так и неметаллами – это Co, S, Mn As, I. Остальные элементы (K, P, Cl, Ni, Pt), обнаруженные в желчных камнях, встречаются в небольшом

количестве изучаемых образцов конкрементов. Возможно, их присутствие связано с кумулятивными свойствами конкрементов, что можно расценивать, как индивидуальные особенности пациентов, включая характер питания, место жительства, сопутствующие заболевания.

Изучение свободнорадикальных процессов в крови и желчи больных с острой и хронической формами ЖКБ показала, что в крови больных обеих клинических групп активность СРО выше, чем у обследуемых контрольной группы (табл. 1). Собственное свечение сыворотки крови (Н), отражающее спонтанно протекающие окислительные процессы в крови больных с острой и хронической формами ЖКБ, было выше контрольных значений на 31 % у больных 1 клинической группы и на 19 % во второй клинической группе.

Таблица 1

Показатели хемилюминесценции в крови и желчи больных острым и хроническим калькулёзным холециститом

Показатели ХЛ	Сыворотка крови			Желчь	
	Контроль-ная группа, $M \pm m$	1 группа (ОКХ), $M \pm m$	2 группа (ХКХ), $M \pm m$	1 группа (ОКХ), $M \pm m$	2 группа (ХКХ), $M \pm m$
Н, отн. ед.	$25,6 \pm 1,3$	$33,6 \pm 1,3$ $p^* = 0,05$	$30,5 \pm 2,4$ $p^* = 0,05$	$5,9 \pm 1,6$	$15,5 \pm 1,1$ $p^{**} = 0,03$
h, отн. ед.	$1,02 \pm 0,3$	$2,95 \pm 0,32$ $p^* = 0,96$	$3,03 \pm 0,44$ $p^* = 0,001$	$4,8 \pm 1,7$	$8,9 \pm 1,4$ $p^{**} = 0,02$
Sm, отн. ед.	$67,2 \pm 5,9$	$94,15 \pm 5,51$ $p^* = 0,01$	$135,8 \pm 7,2$ $p^*, ** = 0,05$	$68,98 \pm 2,1$	$89,34 \pm 7,4$ $p^{**} = 0,04$
tgα	$0,67 \pm 0,02$	$1,33 \pm 0,07$ $p^* = 0,05$	$1,52 \pm 0,06$ $p^* = 0,05$	$2,88 \pm 0,51$	$3,80 \pm 0,23$ $p^{**} = 0,01$
Примечание: p^* – доверительная вероятность изменений показателей по сравнению с контрольной группой; p^{**} – доверительная вероятность изменений показателей 2-й группы (ХКХ) группы по сравнению с 1-й (ОКХ). с использованием критерия Манна – Уитни.					

Индукцированное железом свечение (h) многократно превышало контрольные значения – в 2,4 у больных с острым течением заболевания и в 2,9 раза – при хронической форме. Значительно выше контрольных значений показатель светосуммы медленной вспышки (Sm), которая отражает вовлечение субстратов в окислительный процесс. Так, у пациентов 1 группы этот показатель превышает контрольные значения на 40 %, а во 2 группе – на 102 %. Следует обратить внимание на значительную разницу этого показателя между клиническими группами, которая указывает на то, что при хроническом течении заболевания в крови количество субстратов окисления вовлекаемых в процесс выше, чем при остром течении заболевания. Несмотря на высокую активность окислительных процессов в крови больных ЖКБ, уровень антиоксидантной защиты также был выше, чем в контрольной группе, на что указывает показатель tgα, отражающий отношение антиоксидантной системы к активности окислительных процессов.

Несмотря на отсутствие значимых отличий большинства показателей хемилюминесценции крови больных острой и хронической формами ЖКБ, показатели в желчи имели более выраженное отличие. При хронической форме ЖКБ активность системы СРО как окислительной, так и антиоксидантной её составляющих в желчи выше, чем у больных с острой формой заболевания (табл. 1)

Изучение активности ферментов антиоксидантной системы крови показало отсутствие различий между клиническими группами, однако установлено значимое отличие от контрольных значений. Так, активность СОД у больных ЖКБ острой и хронической формами заболевания на 30 % выше, чем в контрольной группе, тогда как активность каталазы и ГП, напротив, у больных ЖКБ обеих клинических групп ниже, чем у лиц контрольной группы. Содержание церулоплазмينا в крови больных острой формой ЖКБ выше, чем в контрольной группе и группе больных с хроническим течением болезни.

Таблица 2

**Антиоксидантная активность крови больных ЖКБ
с острым и хроническим калькулезным холециститом**

Группы	СОД, ед. акт./мл, $M \pm m$	КАТ, ед. акт./мл, $M \pm m$	ГП, нмоль / мин. / мл, $M \pm m$	Церулоплаз- мин, мкмоль/л $M \pm m$
Контрольная, $n = 52$	$34,6 \pm 1,2$	$34,0 \pm 1,7$	$3,56 \pm 0,09$	$1,65 \pm 0,07$
1 группа (ОКХ), $n = 44$	$45,3 \pm 1,8$ $p^* = 0,0001$	$24,3 \pm 4,0$ $p^* = 0,028$	$2,45 \pm 0,28$ $p^* = 0,0009$	$2,69 \pm 0,39$ $p^* = 0,007$
2 группа (ХКХ), $n=83$	$45,7 \pm 1,8$ $p^* = 0,002$ $p^o = 0,8$ $p'' = 0,0002$	$23,1 \pm 1,7$ $p^* = 0,00009$ $p^o = 0,73$ $p'' = 0,0005$	$2,23 \pm 0,14$ $p^* < 0,0001$ $p^o = 0,34$ $p'' < 0,0001$	$1,89 \pm 0,13$ $p^* = 0,037$ $p^o = 0,02$ $p'' = 0,02$
Примечание: p^* доверительная вероятность изменений показателей по сравнению с контрольной группой.				

На появление желчных камней влияет множество много факторов, и в настоящее время нет прямых доказательств того, что образование камней в желчном пузыре связано с концентрацией металлов в желчи. Однако ионы двухвалентных металлов при взаимодействии с солями желчных кислот играют важную роль в образовании пигмента. Так, Са-билирубинат является основным пигментом желчных камней. Кроме того, обнаружение металлов в камнях всех типов даёт основание подразумевать их участие в образовании камней.

На основании полученных нами данных можно говорить, что Ca, Fe, Zn, Cu играют ключевую роль камнеобразования в желчном пузыре. Их накопление в камнях может быть следствием нарушения метаболизма в гепатоцитах или избыточным поступлением в желчь.

Возможно, одним из метаболических источником металлов в желчи являются металлопротеины, в том числе и металлозависимые ферменты свободнорадикального окисления, в состав которых входят железо, медь, цинк. Снижение включения этих металлов в состав ферментов – закономерная причина недостаточности антиоксидантной защиты. Это объясняет установленное нами снижение активности каталазы, в состав которой входит железо. Железо является важным металлом для метаболизма гепатоцитов. В печени синтезируются белки транспорта (трансферрин) и депонирования (ферритин) железа, она также является основным депо железа.

Печень играет важную роль в обмене меди. Медь, поступившая с пищей, переносится в печень, где она присоединяется к апоцерулоплазмину с образованием молекулы церулоплазмينا (ЦПЛ). В соединении с апоцерулоплазмином находится около 95 % всей меди организма, Церулоплазмин участвует в метаболизме железа и окислительно-восстановительных реакциях. Помимо влияния на обмен меди и железа, ЦПЛ является одним из основных антиоксидантов плазмы. ЦПЛ. Разное содержание церулоплазмينا в крови больных острой и хронической формами ЖКБ подчёркивает значимость этого компонента антиоксидантной защиты в печени.

Присутствие в периферической зоне Ca, Fe, Cu, Zn, камней всех типов позволяет говорить об их влиянии на активность окислительных и антиоксидантных систем, способствуя возникновению воспалительного процесса в желчном пузыре.

Вероятно, от начального этапа до клинических проявлений ЖКБ происходит постепенное формирование условий для появления литогенной желчи, кристаллизации холестерина, зарождения ядер камней и их рост, т. е. бессимптомное течение заболевания приходится на начальный период образования камней, связанный с выпадением кристаллов холестерина. Завершается образование желчных камней любого типа скоплением металлов на периферии, что создает условия для нарушения окислительного баланса в желчи и поддержанию патологического процесса.

Список литературы

1. Азатян К. А., Алексеев А. В., Зубарева Г. М. Исследование состава желчных камней и способов их растворения // *Успехи современного естествознания*. – 2013. – № 9 – С. 12–17.
2. Арутюнян А. В., Дубинина Е. Е., Зыбина Н. Н. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма. Санкт-Петербург: Фолиант, 2000. – 104 с.
3. Вахрушев Я. М., Хохлачева Н. А. Желчнокаменная болезнь: эпидемиология, факторы риска, особенности клинического течения, профилактика // *Архивъ внутренней медицины*. – 2016. – № 3 (29). – С. 30–35.

4. Вахрушев Я. М., Лукашевич А. П., Сучкова Е. В. Ассоциация избыточного интестинального бактериального роста и заболеваний гепатобилиарного тракта // Архивв внутренней медицины. – № 1. – 2019. – С. 64–69.

5. Владимиров Ю. Ф., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. – Москва : Наука, 1972. – 252 с.

6. Владимиров Ю. А. Свободные радикалы в биологических системах // Соросовский образовательный журнал. – 2000. – Т. 6, № 12. – С. 13–19.

7. Голованова О. А., Астахов А. Н. Фазовый, элементный, аминокислотный, структурный состав желчных камней // Бултеровские сообщения. – 2012. – Т. 32, № 12. – С. 90–95.

8. Королюк М. А., Иванова Л. И., Майорова И. Г., Токарев В. Е. Метод определения активности каталазы // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – С. 16–18.

9. Никитин И. Г., Волнухин А. В. Желчнокаменная болезнь: эпидемиологические данные, ключевые аспекты патогенеза и коморбидности, актуальные терапевтические мишени // Русский медицинский журнал. Медицинское обозрение. – 2020. – № 5, Т. 4. – С. 290–296.

10. Парфенов И. П., Зорбасов М. А., Ярош А. Л., Карпачев А. А., Солошенко А. В. Современные представления об этиопатогенезе желчнокаменной болезни // Актуальные проблемы медицины. – 2011. – № 6, вып. 15. – С. 28–32.

11. Цуканов В. В., Васютин А. В., Тонких Ю. Л. Современные аспекты патогенеза и лечения холелитиаза // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2015. – № 1. – С. 10–13.

12. Anga R. Verma, A jay K. Pandey, Shashank M. Bose, Rajendra P. Rasad Study of serum calcium and trace elements in chronic cholelithiasis // ANZ J. Surg. – 2002. – № 72. – P. 596–599.

13. Annika Parviainen, Juan Manuel Suárez-Grau, Rafael Pérez-López, José Miguel Nieto, Carlos J. Garrido, Gema Cobo-Cárdenas Combined microstructural and mineralogical phase characterization of gallstones in a patient-based study in SWSpain – Implications for environmental contamination in their formation // Science of the Total Environment. – 2016. – № 573. – P. 433–443.

14. Beutler E. Red cell metabolism. – New York, London, 1975. – 160 p.

15. Mistrá H., Fridovich I. The role of superoxide anion in the antioxidation of epinephrine and simple assay for superoxide dismutase // J. Biol. Chem. – 1972. – Vol. 247, № 10. – P. 3170–3175.

16. Vitek, L., Carey, M.C., New pathophysiological concepts underlying pathogenesis of pigment gallstones // Clin. Res. Hepatol. Gastroenterol. – 2012. – № 36. – P. 122–129.

References

1. Azatyan K. A., Alekseev A. V., Zubareva G. M. Research of gallstones composition and methods of their dissolution. *Uspehi sovremennogo estestvoznaniya = Successes of modern natural science*. 2013; 9:12–17.

2. Harutyunyan A. V., Dubinina E. E., Zybina N. N. *Methods for assessing free radical oxidation and the antioxidant system of the body*. St. Petersburg: Foliant; 2000:104 p.

3. Vakhrushev Y. M., Khokhlacheva N. A. Cholelithiasis: epidemiology, risk factors, features of the clinical course, prevention. *Arkhi vnutrenney mediciny = Archive of internal medicine*. 2016; 3(29):30–35.

4. Vakhrushev Y. M., Lukashevich A. P., Suchkova E. V. Association of excessive intestinal bacterial growth and diseases of the hepatobiliary tract. *Arkhi vnutrenney mediciny = Archive of Internal Medicine*. 2019; 1:64–69.

5. Vladimirov Yu. F., Archakov A. I. *Peroxidation of lipids in biological membranes*. Moscow: Nauka; 1972: 252 p.

6. Vladimirov Yu. A. Free radicals in biological systems. *Sorosovskiy obrazovatelnyy zhurnal = Sorosov educational journal*. 2000; 6(12):13–19.

7. Golovanova O. A., Astakhov A. N. Phase, elemental, amino acid, structural composition of gallstones. *Butlerovskie soobshheniya = Butler messages*. 2012; 32(12):90–95.

8. Korolyuk M. A., Ivanova L. I., Mayorova I. G., Tokarev V. E. Method for determining catalase activity. *Laboratornoe delo = Laboratory case*. 1988; 1:16–18.

9. Nikitin I. G., Volnukhin A. V. Gallstone disease: epidemiological data, key aspects of pathogenesis and comorbidity, current therapeutic targets. *Russkiy meditsinskiy zhurnal. Meditsinskoe obozrenie = Russian Medical Journal. Medical review*. 2020; 5(4):290–296.

10. Parfenov I. P., Zorbakov M. A., Yarosh A. L., Karpachev A. A., Soloshenko A. V. Modern ideas about the etiopathogenesis of cholelithiasis. *Aktual'ye problemy meditsiny = Actual problems of medicine*. 2011; 6(15):28–32.

11. Tsukanov V. V., Vasyutin A. V., Tonkikh Yu. L. Modern aspects of the pathogenesis and treatment of cholelithiasis. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal = Siberian Medical Journal (Irkutsk)*. 2015; 1:10–13.

12. Anga R. Verma, A jay K. Pandey, Shashank M. Bose, Rajendra P. Rasad Study of serum calcium and trace elements in chronic cholelithiasis. *ANZ J. Surg.* 2002; 72:596–599.

13. Annika Parviainen, Juan Manuel Suárez-Grau, Rafael Pérez-López, José Miguel Nieto, Carlos J. Garrido, Gema Cobo-Cárdenas Combined microstructural and mineralogical phase characterization of gallstones in a patient-based study in SWSpain – Implications for environmental contamination in their formation. *Science of the Total Environment*. 2016; 573:433–443.

14. Beutler E. *Red cell metabolism*. New York, London; 1975:160 p.

15. Mistra H., Fridovich I. The role of superoxide anion in the antioxidation of epinephrine and simple assay for superoxide dismutase. *J. Biol. Chem.* 1972; 247(10):3170–3175.

16. Vitek, L., Carey, M.C., New pathophysiological concepts underlying pathogenesis of pigment gallstones. *Clin. Res. Hepatol. Gastroenterol.* 2012; 36:122–129.

Информация об авторах

Колмакова Т. С. – доцент, доктор биологических наук, заведующий кафедрой;
Яловега Г. Э. – доцент, доктор физико-математических наук, заведующая кафедрой;
Оксенюк О. С. – кандидат медицинских наук, руководитель Центральной научно-исследовательской лаборатории;

Brzhezinskaya M. – Doctor of Physical and Mathematical Sciences (Dr. habil.), Helmholtz-Zentrum Berlin für Materialien und Energie GmbH;

Смирнова О. Б. – доцент, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник;

Беликова Е. А. – кандидат биологических наук, доцент;

Асланов А. М. – кандидат медицинских наук, доцент.

Information about the authors

Kolmakova T. S. – Associate Professor, Doctor of Biology, Head of the Department;

Yalovega G. E. – Associate Professor, Doctor of Physical and Mathematical Sciences, Head of the Department;

Oksenyuk O. S. – Candidate of Medical Sciences, Head of the Central Research Laboratory;

Brzhezinskaya M. – Doctor of Physical and Mathematical Sciences (Dr. habil.), Helmholtz-Zentrum Berlin für Materialien und Energie GmbH;

Smirnova O. B. – Associate Professor, Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher;

Belikova E. A. – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor;

Aslanov A. M. – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor.

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution of the authors

The authors contributed equally to this article. The authors declare no conflicts of interests.

Статья поступила в редакцию 01.12.2022; одобрена после рецензирования 03.12.2022; принята к публикации 07.12.2022.

The article was submitted 01.12.2022; approved after reviewing 03.12.2022; accepted for publication 07.12.2022.