

Ветеринарная диагностика

УДК 619:636.934.57:591.11:577.117.2

doi: 10.15389/agrobiol.2022.6.1217rus

**КОРРЕЛЯЦИОННЫЕ ВЗАИМОЗАВИСИМОСТИ
МЕЖДУ СОДЕРЖАНИЕМ ОБЩИХ ЖЕЛЧНЫХ КИСЛОТ
И ОСНОВНЫМИ БИОХИМИЧЕСКИМИ ПОКАЗАТЕЛЯМИ КРОВИ
У НОРОК (*Mustela vison* Schreber, 1777)*****Ю.Е. КУЗНЕЦОВ[✉], А.М. ЛУНЕГОВ, В.С. ПОНАМАРЕВ, Е.Б. РОМАШОВА**

Заболевания печени различного генеза и степени тяжести, возникающие в результате постепенного разрушения желчных протоков, вызывают накопление желчных кислот в печени, желчи и сыворотке крови, которое индуцирует провоспалительный ответ и повышенную продукцию активных форм кислорода, что приводит к цитотоксичным эффектам. Любое снижение эффективности экстракции, вызванное нарушениями функций печени, ведет к повышению количества общих желчных кислот в сыворотке крови. Их содержание в сыворотке или плазме крови — чувствительный показатель состояния печени, отражающий как печеночный синтез и секрецию, так и реабсорбцию. Тестирование сыворотки крови может выявить нарушения функции печени до формирования более выраженных клинических признаков. Целью нашей работы было обнаружение корреляционных связей между стандартными биохимическими показателями и содержанием желчных кислот в сыворотке крови, которое также оценили как предиктора состояния гепатобилиарной системы. Опыты проводили на звероферме «Мермерины» (д. Мермерины, Калининский р-н, Тверская обл., 2022 год). В качестве модельных животных были выбраны норки (*Mustela vison* Schreber, 1777) породы паломино. У 100 самок и 100 самцов в возрасте 1 год брали кровь из надреза кончика хвоста. Основным критерий отбора норок — отсутствие клинических проявлений патологий печени. Содержание общего белка, альбуминов, общего билирубина, щелочной фосфатазы, глюкозы, холестерина, общих желчных кислот, коэффициент де Ритиса определяли на биохимическом анализаторе URIT 8021A VET («URIT Medical Electronic Group Co., Ltd.», Китай). Общие желчные кислоты детектировали с использованием BSBE-набора для определения желчных кислот («BSBE», Китай). Был проведен расчет корреляционных взаимосвязей (коэффициент ранговой корреляции Спирмена и корреляционно-регрессионный анализ) между классическими предикторами состояния гепатобилиарной системы (количество общего белка, альбуминов, общего билирубина, щелочной фосфатазы, глюкозы, холестерина, коэффициент де Ритиса) и общими желчными кислотами. Установлено, что оценка общего количества желчных кислот может стать перспективным способом выявления патологий гепатобилиарной системы, особенно тех, которые сопровождаются нарушением белкового и жирового обменов, что подтверждается стойкими корреляционными взаимосвязями содержания желчных кислот с активностью щелочной фосфатазы и коэффициентом де Ритиса. Связь между этими показателями согласуется с биохимическими свойствами анализируемых соединений. Желчные кислоты способны стимулировать синтез щелочной фосфатазы, а цитотоксическая или цитопротекторная функция различных представителей пула желчных кислот напрямую влияет на количество аланинаминотрансферазы и на коэффициент де Ритиса. Совпадение значений, полученных с использованием двух методик статистического анализа корреляций при высокой достоверной вероятности ($P > 95\%$), свидетельствовало о достоверном характере выявленных взаимосвязей. При этом наблюдалась неоднородность полученных результатов в зависимости от пола животных. У самок прослеживалась наиболее очевидная связь количества желчных кислот с холестерином и альбуминами (прямая умеренная — $0,2 \geq r \leq 0,5$ по методике расчета корреляционно-регрессионного анализа и $0,3 \geq r \leq 0,5$ по методике расчета коэффициента корреляции Спирмена), у самцов — с общим белком и билирубином (прямая высокая — $0,7 \geq r \leq 0,9$ по методике расчета корреляционно-регрессионного анализа и $0,7 \geq r \leq 0,9$ по методике расчета коэффициента корреляции Спирмена).

Ключевые слова: желчные кислоты, норки, гепатобилиарная система, печень, биохимические показатели, корреляция.

Желчные кислоты представляют собой группу стероидных соединений, образованных из холестерина (1). Они имеют уникальную стереохимию, гидроксильные группы и алифатическую боковую цепь с концевым карбоксильным остатком (2). Эти молекулы исторически описывались как

* Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-26-00158, <https://rscf.ru/project/22-26-00158/>.

солубилизирующие агенты для липидов и активаторы ферментов поджелудочной железы, сопутствующие их роли в кишечной абсорбции (3). В то время как желчные кислоты эндогенно токсичны в повышенных концентрациях из-за амфипатической структуры, некоторые авторы (4-7) указывают на то, что они также обладают эндокринными и метаболическими функциями, которые заключаются в саморегуляции их синтеза, транспорта и детоксикации. Желчные кислоты вовлечены в реакции, обеспечивающие клетку энергией, в гомеостаз липидов и глюкозы, а также оказывают влияние на состав кишечной микробиоты (8).

Изменения метаболизма и транспорта желчных кислот приводят к патологическим состояниям (7). Например, повышенное количество этих соединений в системе энтерогепатической циркуляции может вызывать патологии печени и кишечника (9). Напротив, дефицит приводит к мальабсорбции питательных веществ и дефициту жирорастворимых витаминов (10). Следовательно, важен сбалансированный метаболизм желчных кислот из-за их значительной роли в гомеостазе.

Заболевания печени различного генеза и степени тяжести, возникающие в результате постепенного разрушения желчных протоков, приводят к накоплению желчных кислот в печени, желчи и сыворотке крови (11). Этот процесс индуцирует воспалительную реакцию и повышенную продукцию активных форм кислорода (12), что приводит к цитотоксичным эффектам (13).

Одна из функций печени — удаление желчных кислот из портального кровообращения, которое обеспечивают транспортеры желчных кислот, находящиеся на синусоидальной мембране гепатоцитов (14). Высокая эффективность экстракции обуславливает низкое содержание общих желчных кислот в периферической крови по сравнению с портальной. Любое снижение эффективности экстракции, вызванное нарушениями функций печени, ведет к повышению содержания общих желчных кислот в сыворотке крови (15, 16). Количество желчных кислот в сыворотке или плазме определяется процессами печеночного синтеза и секреции, а также реабсорбции (16). Следовательно, тестирование сыворотки крови дает возможность выявить нарушения функций печени до формирования более выраженных клинических признаков, что очень важно для постановки клинического диагноза (16).

При различных гепатобилиарных расстройствах были обнаружены повышенные концентрации желчных кислот в сыворотке крови, в связи с чем в настоящее время их рассматривают в качестве одного из предикторов состояния гепатобилиарной системы (17). Однако вопрос чувствительности, специфичности и прогностической ценности такой диагностики не до конца изучен. Доказано, что этот метод способен выявлять гепатобилиарные нарушения, но его сравнения с классическими способами диагностики (в первую очередь с биохимическим) (18) не проводили.

В этой работе мы впервые установили корреляционную взаимосвязь между содержанием общих желчных кислот и классическими (биохимическими) показателями состояния гепатобилиарной системы.

Нашей целью было выявление взаимозависимостей между стандартными биохимическими показателями и содержанием желчных кислот в сыворотке крови, а также их оценка в качестве предиктора состояния гепатобилиарной системы.

Методика. Опыты проводили на звероферме «Мермерины» (д. Мермерины, Калининский р-н, Тверская обл., 2022 год). В качестве модельных

животных были выбраны норки (*Mustela vison* Schreber, 1777) породы паломино (19).

У 100 самок и 100 самцов в возрасте 1 год из надреза на кончике хвоста брали кровь (с учетом правил асептики и антисептики) в вакуумные пробирки для биохимических исследований improvacuter («Guangzhou Improve Medical Instruments Co., Ltd.», Китай) с активатором свертывания (20). Основным критерий отбора норок — отсутствие клинических проявлений патологий печени.

Содержание общего белка, альбуминов, общего билирубина, щелочной фосфатазы, глюкозы, холестерина, общих желчных кислот, аспаратаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы (с дальнейшим расчетом коэффициента де Ритиса) определяли на биохимическом анализаторе URIT 8021A VET («URIT Medical Electronic Group Co., Ltd.», Китай). Количество общего белка определяли биуретовым методом с помощью цветной реакции с сульфатом меди (АО «ЛенРеактив», Россия) в щелочной среде, альбуминов — колориметрическим методом с использованием бромкрезолового зеленого (АО «ЛенРеактив», Россия), общего билирубина — колориметрическим диазометодом по Йендрашику-Клеггорну-Грофу с азотнокислым натрием (АО «ЛенРеактив», Россия), коэффициент де Ритиса рассчитывали как соотношение активности сывороточных аспаратаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы (21). Содержание глюкозы оценивали стандартным глюкозооксидазным методом (производитель глюкозооксидазы — ООО «БиоПрепарат», Россия), холестерина — методом Илька (производитель реактива Илька — АО «ЛенРеактив», Россия) (21).

Общие желчные кислоты обнаруживали с использованием BSBE-набора для определения желчных кислот («BSBE», Китай). В основе метода лежат химические свойства желчных кислот: в присутствии ThioNAD фермент 3- α -гидроксистероид дегидрогеназа (3 α -HSD) превращает желчные кислоты в 3-кетостероиды и Thio-NADH. Реакция обратима, и 3 α -HSD могут снова превращать 3-кетостероиды и ThioNADH в желчные кислоты и Thio-NAD (21, 22). При избытке NADH возникает ферментативный цикл, и скорость образования Thio-NADH определяется специфическим изменением оптической плотности при $\lambda = 405$ нм (21, 22).

Полученные результаты изначально считались случайными величинами, для обработки которых применялся метод стохастического моделирования (корреляционно-регрессионный анализ) (23).

Корреляционно-регрессионный анализ осуществляли с использованием формулы Пирсона (25) относительно показателя общих желчных кислот как диагностических критериев с неизвестной корреляцией относительно других показателей:

$$r_{xy} = \frac{\sum_{t=1}^m (x_t - \bar{x})(y_t - \bar{y})}{\sqrt{\sum_{t=1}^m (x_t - \bar{x})^2 \sum_{t=1}^m (y_t - \bar{y})^2}} = \frac{\text{cov}(x, y)}{\sqrt{s_x^2 s_y^2}},$$

где \bar{x}, \bar{y} — выборочные средние x^m и y^m , s_x^2, s_y^2 — выборочные дисперсии, $r_{xy} \in [-1, 1]$.

По результатам анализа с целью подтверждения выводов о наличии, величине и силе корреляции был дополнительно рассчитан коэффициент ранговой корреляции Спирмена в связи с небольшим объемом выборки и заведомой непараметричностью исследуемых параметров (24).

Основной исследуемой величиной было содержание общих желчных кислоты, коэффициенты корреляции остальных параметров рассчитывали относительно этого критерия по формуле:

$$p = 1 - 6 \frac{\sum d^2}{n^3 - n},$$

где d^2 — квадраты разностей между рангами, N — количество признаков, участвовавших в ранжировании.

Обработку результатов проводили в программе Statistica 6.0 («StatSoft, Inc.», США). Вычисляли средние значения показателей (M), стандартные ошибки средних ($\pm SEM$), определяли наличие корреляций, их величину и силу. Отсутствие расчета достоверности было обусловлено поисковым характером исследования и отсутствием групп контроля.

Результаты. Выбор породы паломино был обусловлен видовой склонностью этих норок к гепатопатиям (19) и максимальной скоростью энтерогепатической циркуляции желчных кислот среди млекопитающих. У обследованных животных белковый, жировой, углеводный и пигментный обмен, которые служат индикаторами функционального состояния печени, характеризовались как вариант физиологической нормы, то есть показатели не выходили за границы референсных значений.

Биохимические показатели сыворотки крови у норок (*Mustela vison* Schreber, 1777) породы паломино без клинических проявлений патологий печени ($M \pm SEM$, звероферма «Мермерины», д. Мермерины, Калининский р-н, Тверская обл., 2022 год)

Показатель	Самцы ($n = 100$)	Самки ($n = 100$)	Референсные значения
Общий белок, г/л	76,68±2,14	80,09±1,02	50-81
Альбумины, г/л	34,75±0,71	33,32±0,56	20,0-50,0
Коэффициент де Ритиса (АСТ/АЛТ)	0,92	0,86	0,85-1,75
Щелочная фосфатаза, МЕ/л	66,45±2,31	76,88±4,12	25,58-147,69
Глюкоза, ммоль/л	2,87±0,11	2,99±0,17	6,5-12,1
Холестерин, ммоль/л	5,90±0,10	6,94±0,23	3,7-7,02
Билирубин общий, мкмоль/л	5,09±0,32	5,37±0,43	3,42-26,06
Общие желчные кислоты, мкмоль/л	4,63±1,02	5,56±1,19	2,00-7,00

Примечание. АСТ — аспартатаминотрансфераза, АЛТ — аланинаминотрансфераза.

Результаты корреляционно-регрессионного анализа представлены на рисунке 1. Слабые взаимосвязи не учитывали.

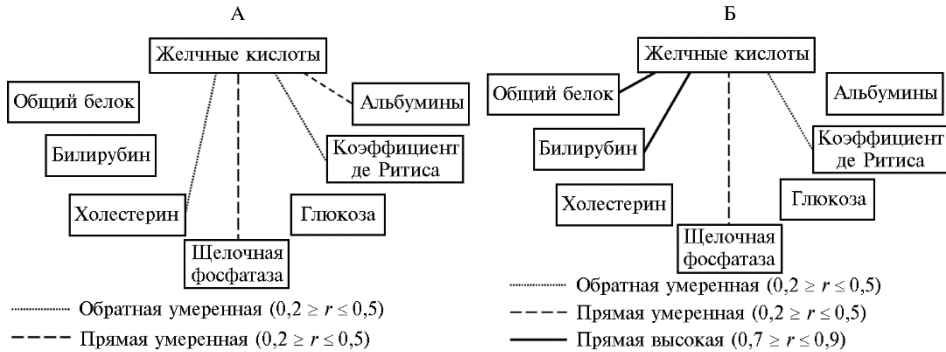


Рис. 1. Результаты корреляционно-регрессионного анализа, демонстрирующие связи между содержанием желчных кислот и основными биохимическими показателями сыворотки крови у самцов (А, $n = 100$) и самок (Б, $n = 100$) норок (*Mustela vison* Schreber, 1777) породы паломино ($P > 95 \%$, звероферма «Мермерины», д. Мермерины, Калининский р-н, Тверская обл., 2022 год).

У самцов норок наблюдалось отсутствие корреляции между содержанием желчных кислот и количеством общего белка и билирубина. (рис. 1, А). Это объясняется тем фактом, что синтез белков и билирубина в организме не связан с желчеобразованием. В настоящее время считается, что концентрация билирубина в сыворотке крови может быть индивидуальным конституциональным показателем, выходящим за пределы референсных

значений, что не свидетельствует о патологических процессах в гепатобилиарной системе (26). Так, при изучении патогенеза наследственных конституциональных гипербилирубинемий изменения содержания желчных кислот не фиксировались (27).

Прямая умеренная корреляция содержания желчных кислот с альбуминами была связана с тем, что подавляющая их часть синтезируется печенью, то есть прослеживается взаимосвязь между белоксинтезирующей и секреторной функциями органа. Прямую умеренную связь с активностью щелочной фосфатазы и обратную умеренную — с коэффициентом де Ритиса можно объяснить биохимическими свойствами этих соединений. Желчные кислоты способны стимулировать синтез щелочной фосфатазы (28), а цитотоксическая или цитопротективная функция различных представителей пула желчных кислот напрямую влияет на содержание аланинаминотрансферазы и коэффициент де Ритиса. Количество глюкозы в сыворотке крови, несмотря на то, что основная регуляция этого показателя осуществляется с участием печени, зависит от множества нейроэндокринных реакций, в связи с чем отсутствие корреляции с содержанием желчных кислот естественно. Содержание холестерина как одного из предшественников желчных кислот имело обратную умеренную корреляцию с их содержанием.

Несовпадение в некоторых корреляционных взаимосвязях у самцов и самок норок объясняется их физиологическими и гормональными различиями (см. рис. 1). В частности, высокая связь с общим белком и билирубином, а также отсутствие взаимосвязи с альбуминами у самок были обусловлены периодом эструса (29, 30), в который увеличивалось количественное значение первых двух показателей и снижалось содержание альбуминов. Отсутствие взаимосвязи с содержанием холестерина объясняется его превалирующей ролью в стероидогенезе у самок (31).

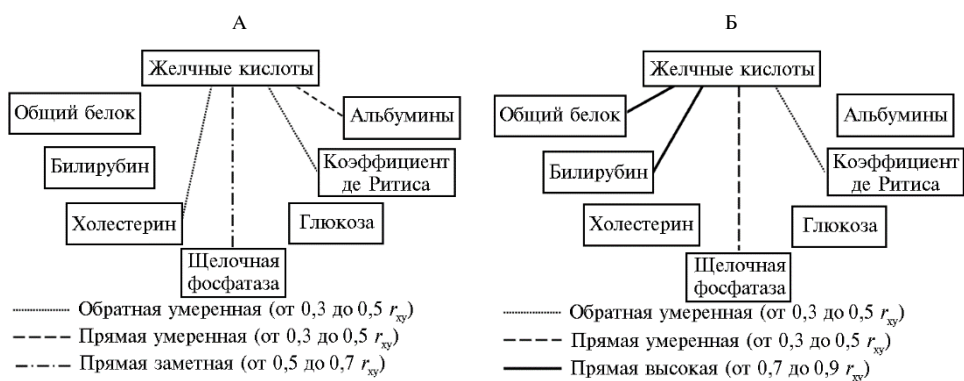


Рис. 2. Результаты расчета коэффициента корреляции Спирмена между содержанием желчных кислот и основными биохимическими показателями сыворотки крови у самцов (А, $n = 100$) и самок (Б, $n = 100$) норки (*Mustela vison* Schreber, 1777) породы паломино ($P > 95\%$, звероферма «Мермерины», д. Мермерины, Калининский р-н, Тверская обл., 2022 год)

Для подтверждения достоверности корреляционных связей дополнительно был рассчитан коэффициент ранговой корреляции Спирмена (рис. 2). Совпадение результатов корреляционного анализа, выполненного по двум методикам, свидетельствует о достоверном характере выявленных взаимосвязей. Теоретически каждый фактор, нарушающий энтерогепатическую циркуляцию, приводит к изменению содержания желчных кислот в сыворотке крови. При этом мы выявили стойкую корреляцию между количеством желчных кислот и активностью щелочной фосфатазы, а также коэффициентом де Ритиса.

В последние несколько десятилетий главную предикторную роль желчных кислот в сыворотке крови связывают не только с их общим количеством, но с качественным составом пула, компоненты которого различаются как по химической активности, так и механизмами действия (от цитотоксичности до цитопротекции) (17). Тем не менее содержание общих желчных кислот остается важным прогностическим и диагностическим критерием при выявлении гепатопатий различного генеза.

Таким образом, содержание общих желчных кислот в сыворотке крови — перспективный предиктор состояния гепатобилиарной системы, который может применяться в диагностике совместно с классическими биохимическими тестами на общий белок, альбумины, общий билирубин, коэффициент де Ритиса, щелочную фосфатазу, глюкозу, холестерин. По содержанию общих желчных кислот можно выявлять патологии гепатобилиарной системы, особенно те, которые сопровождаются нарушением белкового и жирового обмена, что подтверждает стойкая корреляционная взаимосвязь этого количественного показателя с активностью щелочной фосфатазы и коэффициентом де Ритиса (у обоих полов прямая умеренная корреляция — $0,2 \geq r \leq 0,5$ по результатам корреляционно-регрессионного анализа и $0,3 \geq r \leq 0,5$ при расчете коэффициента корреляции Спирмена). Совпадение значений, полученных с использованием двух методик статистического анализа корреляций при высокой доверительной вероятности ($P > 95\%$), свидетельствовало о достоверном характере выявленных взаимосвязей. Характер некоторых корреляций изменялся в зависимости от пола норок. Так, у самцов прослеживалась наиболее очевидная связь количества желчных кислот с содержанием холестерина и альбуминов (прямая умеренная корреляция — $0,2 \geq r \leq 0,5$ по данным корреляционно-регрессионного анализа и $0,3 \geq r \leq 0,5$ при расчете коэффициента корреляции Спирмена), у самок — с общим белком и уровнем билирубина (прямая высокая корреляция — $0,7 \geq r \leq 0,9$ при применении обоих методов расчета). Мы планируем продолжить изучение корреляций между содержанием желчных кислот и биохимическими показателями обмена веществ в норме и при различных патологиях, в том числе с учетом предикторной роли качественного состава их пула.

ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный
университет ветеринарной медицины,
196084 Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Черниговская, 5,
e-mail: Fish2017@yandex.ru ✉, a.m.lunegov@mail.ru,
psevdopyos@mail.ru, elizavettarom@mail.ru

Поступила в редакцию
14 июня 2022 года

Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology], 2022, V. 57, № 6, pp. 1217-1224

CORRELATION INTERACTION OF TOTAL BILE ACIDS WITH BASIC BLOOD BIOCHEMICAL INDICATORS IN MINKS (*Mustela vison* Schreber, 1777)

Yu.E. Kuznetsov✉, A.M. Lunegov, V.S. Ponamarev, E.B. Romashova

Saint-Petersburg State University of Veterinary Medicine, 5, ul. Chernigovskaya, St. Petersburg, 196084 Russia, e-mail Fish2017@yandex.ru (✉ corresponding author), a.m.lunegov@mail.ru, psevdopyos@mail.ru, elizavettarom@mail.ru
ORCID:

Kuznetsov Yu.E. orcid.org/0000-0001-9095-7049

Ponamarev V.S orcid.org/0000-0002-6852-3110

Lunegov A.M. orcid.org/0000-0002-6852-3110

Romashova E.B. orcid.org/0000-0003-0443-4079

The authors declare no conflict of interests

Acknowledgements:

Supported financially by the Russian Science Foundation grant No. 22-26-00158, <https://rscf.ru/project/22-26-00158/>

Received June 14, 2022

doi: 10.15389/agrobiologi.2022.6.1217eng

Abstract

Liver diseases of various origins and complications arising from the gradual destruction of

the bile ducts cause the accumulation of bile acids in the liver, bile, and blood serum. This induces a pro-inflammatory response and an increased production of reactive oxygen species, leading to cytotoxic effects. Any decrease in extraction efficiency caused by impaired liver function leads to an increase in the level of total bile acids in the blood serum. Serum or plasma bile acid levels are sensitive measures of liver function in all species, reflecting both hepatic synthesis, secretion, and reabsorptive function. Thus, testing of blood serum can reveal functional abnormalities of liver function before the formation of more pronounced clinical signs. This high sensitivity is very important for making a clinical diagnosis. The novelty of the research lies in the study of the correlation between the bile acids and other biochemical parameters associated with the functional state of the liver, which was carried out for the first time. The aim of the work was to identify the correlation between standard biochemical parameters and the content of bile acids in the blood serum, as well as to evaluate the bile acids in the blood serum as a predictor of the state of the hepatobiliary system. The experiments were carried out in 2022 at the Mermeriny fur farm (village Mermeriny, Kalinin District, Tver Province). Palomino minks (*Mustela vison* Schreber, 1777) were chosen as model animals. Blood sampling from 100 females and 100 males at the age of 1 year was performed by cutting the tip of the tail. The main criterion for the selection of minks is the absence of clinical signs of liver pathologies. The content of total protein, albumin, total bilirubin, alkaline phosphatase, glucose, cholesterol, total bile acids, de Ritis coefficient was determined on a biochemical analyzer URIT 8021A VET (RIT Medical Electronic Group Co., Ltd., China). Total bile acids were detected using the BSBE Bile Acid Kit (BSBE, China). As part of the scientific research work, a correlation was calculated (Spearman's rank correlation coefficient and correlation-regression analysis) between the classical predictors of the hepatobiliary system (total protein, albumin, total bilirubin, de Ritis coefficient, alkaline phosphatase, glucose, cholesterol) and general bile acids as the main studied quantity. It was revealed that the measurement of total bile acids in blood is a promising way to identify pathologies of the hepatobiliary system, especially those accompanied by a violation of protein and fat metabolism. This statement is supported by the stable correlation of the blood level of bile acids with such indicators as alkaline phosphatase and the de Ritis coefficient revealed during the study. The relationship between these indicators is consistent with the biochemical properties of these compounds. Bile acids can stimulate the synthesis of alkaline phosphatase, and the cytotoxic or cytoprotective function of various representatives of the bile acid pool directly affects the level of alanine aminotransferase and the de Ritis coefficient. The coincidence of values obtained using two methods of statistical analysis of correlations at a high confidence level ($P > 95\%$) indicates the reliable nature of the identified relationships. When conducting these tests, it is necessary to take into account the heterogeneity of the results depending on the sex of the animals. In males, a moderate positive relationship between bile acids and concentrations of cholesterol and albumin was the most obvious, $0.2 \geq r \leq 0.5$ as per correlation and regression analysis method and $0.3 \geq r \leq 0.5$ as per Spearman's rank correlation coefficient technique. In females, there was a strong positive correlation between blood levels of bile acids and the total protein and bilirubin concentrations, $0.7 \geq r \leq 0.9$ for both calculation methods used.

Keywords: bile acids, minks, hepatobiliary system, liver, biochemical parameters, correlation.

REFERENCES

1. Namegawa K., Iida K., Omura K., Iida T., Ogawa S., Hofmann A.F. Chemical synthesis of rare natural bile acids: 11 α -hydroxy derivatives of lithocholic and chenodeoxycholic acids. *Lipids*, 2018, 53(4): 403-411 (doi: 10.1002/lipd.12013).
2. Ticho A.L., Malhotra P., Dudeja P.K., Gill R.K., Alrefai W.A. Intestinal absorption of bile acids in health and disease. *Comprehensive Physiology*, 2020, 10(1): 21-56 (doi: 10.1002/cphy.c190007).
3. Di Gregorio M.C., Cautela J., Galantini L. Physiology and physical chemistry of bile acids. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(4): 1-23 (doi: 10.3390/ijms22041780).
4. Stepanov I.S., Kalyuzhny I., Markova D., Yashin A., Prusakov A., Ponamarev V., Lunegov A. Development and application of new methods of correction and prevention of metabolic diseases in Holstein cattle. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 2021, 723: 022030 (doi: 10.1088/1755-1315/723/2/022030).
5. Kalugniy I.I., Markova D., Yashin A., Prusakov A., Ponamarev V., Andreeva N. Diagnosis of hepatopathy in Holstein cattle with metabolic disorders. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 2021, 723: 022029 (doi: 10.1088/1755-1315/723/2/022029).
6. Baryshev V.A., Popova O.S., Ponamarev V.S. New methods for detoxification of heavy metals and mycotoxins in dairy cows. *Online Journal of Animal and Feed Research*, 2022, 12(2): 81-88 (doi: 10.51227/ojaf.2022.11).
7. Drzymała-Czyż S., Dziedzic K., Szwengel A., Krzyżanowska-Jankowska P., Nowak J., Nowicka A., Aringazina R., Drzymała S., Kashirskaya N., Walkowiak J. Serum bile acids in cystic fibrosis patients-glycodeoxycholic acid as a potential marker of liver disease. *Digestive and Liver Disease*, 2021, 54(1): 111-117 (doi: 10.1016/j.dld.2021.06.034).
8. Yyldyrym E.A., Laptev G.Yu., Il'ina L.A., Duniyashev T.P., Tyurina D.G., Filippova V.A., Brazhnyk E.A., Tarlavin N.V., Dubrovin A.V., Novikova N.I., Soldatova V.V., Zaytsev S.Yu. The

- influence of a dietary *Enterococcus faecium* strain-based additive on the taxonomic and functional characteristics of the rumen microbiota of lactating cows. *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology]*, 2020, 55(6): 1204-1219 (doi: 10.15389/agrobiology.2020.6.1204eng).
9. Sun R., Xu C., Feng B., Gao X., Liu Z. Critical roles of bile acids in regulating intestinal mucosal immune responses. *Therapeutic Advances in Gastroenterology*, 2021, 14: 1-19 (doi: 10.1177/17562848211018098).
 10. Wang C., Zhu C., Shao L., Ye J., Shen Y., Ren Y. Role of bile acids in dysbiosis and treatment of nonalcoholic fatty liver disease. *Mediators of Inflammation*, 2019, 2019: 1-14 (doi: 10.1155/2019/7659509).
 11. Ferrebee C.B., Dawson P.A. Metabolic effects of intestinal absorption and enterohepatic cycling of bile acids. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 2015, 5(2): 129-134 (doi: 10.1016/j.apsb.2015.01.001).
 12. Kireev I.V., Orobets V.A., Denisenko T.S., Zinchenko D.A. Dynamics of oxidative state indicators in rabbits (*Oryctolagus cuniculus* L.) under simulated technological stress and its pharmacological correction. *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology]*, 2019, 54(4): 767-776 (doi: 10.15389/agrobiology.2019.4.767eng).
 13. Hegyi P., Maléth J., Walters J.R., Hofmann A.F., Keely S.J. Guts and gall: Bile acids in regulation of intestinal epithelial function in health and disease. *Physiological Reviews*, 2018, 98(4): 1983-2023 (doi: 10.1152/physrev.00054.2017).
 14. Liu Y., Rong Z., Xiang D., Zhang Ch., Liu D. Detection technologies and metabolic profiling of bile acids: a comprehensive review. *Lipids in Health and Disease*, 2018, 17(1): 121 (doi: 10.1186/s12944-018-0774-9).
 15. Xiang J., Zhang Z., Xie H., Zhang Ch., Bai Y., Cao H., Che Q., Guo J., Su Zh. Effect of different bile acids on the intestine through enterohepatic circulation based on FXR. *Gut Microbes*, 2021, 13(1): 1949095 (doi: 10.1080/19490976.2021.1949095).
 16. Olaniyan M.F. Some Viral sero-markers of patients with abnormally raised total bile acid receiving treatments in herbal/traditional homes of some rural communities in Nigeria. *American Journal of Medical and Biological Research*, 2014, 2(4): 91-96 (doi: 10.12691/ajmbr-2-4-2).
 17. Kiriya Y., Nochi H. The biosynthesis, signaling, and neurological functions of bile acids. *Bio-molecules*, 2019, 9(6): 232 (doi: 10.3390/biom9060232).
 18. Liston A., Whyte C.E. Bile acids mediate signaling between microbiome and the immune system. *Immunology and Cell Biology*, 2020, 98(5): 349-350 (doi: 10.1111/imcb.12332).
 19. Zotova A.S. *Dinamika morfo-funktsional'nykh pokazateley pecheni v norme i pri gepatoze norok. Avtoreferat kandidatskoy dissertatsii* [Hepatic morphology and functions in healthy minks and minks with hepatitis. PhD Thesis]. Ivanovo, 2006 (in Russ.).
 20. Kovalenok Yu.K., Kurdeko A.P., Velikanov V.V., Ul'yanov A.G., Demidovich A.P., Kurilovich A.M., Napreenko A.V. *Vz'yatie krovi u zhivotnykh* [Taking blood from animals: methodology]. Vitebsk, 2019 (in Russ.).
 21. Kholod V.M., Kurdeko A.P., Baran V.P. *Klinicheskaya biokhimiya s endokrinologiyey*—[Clinical biochemistry with endocrinology]. Vitebsk, 2021 (in Russ.).
 22. Minnullina Z.Sh., Sayfutdinov R.G., Guseva K.S., Kiyashko S.V. *Materialy Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii «Nauka, obrazovanie, obshchestvo: problemy i perspektivy razvitiya»* [Proc. Int. Conf. «Science, education, society: problems and prospects»]. Tambov, 2015: 97-99 (in Russ.).
 23. Luk'yanova E.A., Lyapunova T.V., Shimkevich E.M. *Biostatistika. Planirovanie issledovaniy. Opisanie dannykh* [Biostatistics. Research planning. Data description]. Moscow, 2020 (in Russ.).
 24. Iskandarova Sh.T., Rasulova N.F., Chernykh A.M. *Osnovy meditsinskoy statistiki i biostatiki: metodicheskoe posobie* [Fundamentals of medical statistics and biostatistics: a methodological guide]. Tashkent, 2021 (in Russ.).
 25. Ivanova N.A. *Materialy II Vserossiiskoy nauchno-tekhnikeskoi konferentsii «Bezopasnost' informatsionnykh tekhnologiy»* [Proc. Russian Conf. «Secure information technologies»]. Penza, 2020: 57-60 (in Russ.).
 26. Memon N., Weinberger B.I., Hegyi T., Aleksunes L.M. Inherited disorders of bilirubin clearance. *Pediatr. Res.*, 2016, 79(3): 378-386 (doi: 10.1038/pr.2015.247).
 27. Waddell J., He M., Tang N., Rizzuto C., Bearer C.F. A Gunn rat model of preterm hyperbilirubinemia. *Pediatr. Res.*, 2020, 87(3): 480-484 (doi: 10.1038/s41390-019-0599-x).
 28. Ogawa H., Mink J., Hardison W.G., Miyai K. Alkaline phosphatase activity in hepatic tissue and serum correlates with amount and type of bile acid load. *Lab. Invest.*, 1990, 62(1): 87-95.
 29. Bespyatykh O.Yu. *Fiziologo-biokhimicheskiy status raznykh polovozrastnykh grupp pushnykh zverey i ego korrektsiya. Avtoreferat doktorskoy dissertatsii* [Physiological and biochemical status and its correction in fur-bearing animals of different sex and age groups. DSc Thesis]. Kirov, 2017 (in Russ.).
 30. Abramov P.N. *Strukturno-funktsional'nye adaptatsii v organizme norki pri narushenii belkovogo obmena. Doktorskaya dissertatsiya* [Morphological and functional adaptations of minks under protein metabolism disorders. DSc Thesis]. Moscow, 2021 (in Russ.).
 31. Dzhaifarov M.Kh., Zaytsev S.Yu., Maksimov V.I. *Steroidy: stroenie, poluchenie, svoystva i biologicheskoe znachenie, primeneniye v meditsine i veterinarii* /Pod redaktsiyei V.I. Maksimova [Steroids: structure, synthesis, properties, biological significance, and use in medicine and veterinary medicine. V.I. Maksimov (ed.)]. St. Petersburg, 2010 (in Russ.).