

lic. Aleksandra Boguszewska,  
dr Anna Kiersztan ✉

Zakład Regulacji Metabolizmu, Instytut Biochemii, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski

[https://doi.org/10.18388/pb.2021\\_506](https://doi.org/10.18388/pb.2021_506)

✉ autor korespondujący: a.kiersztan@uw.edu.pl

**Słowa kluczowe:** kwasy żółciowe, receptor farnesoidowy X, receptor TGR5, choroby zapalne jelit, choroby metaboliczne, regulacja metabolizmu glukozy i lipidów

**Wykaz skrótów:** BA – kwasy żółciowe (ang. *bile acids*); CA – kwas cholowy (ang. *cholic acid*); CDCA – kwas chenodeoksycholowy (ang. *chenodeoxycholic acid*); DCA – kwas deoksycholowy (ang. *deoxycholic acid*); FXR – farnesoidowy receptor X (ang. *farnesoid X receptor*); LCA – kwas lithocholowy (ang. *lithocholic acid*); OCA – kwas obeticholowy (ang. *obeticholic acid*); TGR5 – receptor TGR5 (ang. *Takeda G-protein-coupled receptor*); UDCA – kwas ursodeoksycholowy (ang. *ursodeoxycholic acid*)

## STRESZCZENIE

Podstawową funkcją kwasów żółciowych (BA), znaną od dawna, jest udział w emulgacji tłuszczów pokarmowych, dzięki czemu są one efektywniej trawione oraz wchłaniane. Ostatnie badania wskazują, że BA mogą też działać jako cząsteczki sygnałowe. W większości działań regulatorowych BA pośredniczą ich receptory, z których najlepiej poznane i opisane to farnesoidowy receptor X (FXR) oraz receptor sprzężony z białkiem G – TGR5, występujące w dużych ilościach w jelitach, wątrobie, tkance tłuszczowej, a także innych tkankach organizmu. W artykule przedstawiono w jaki sposób BA regulują własną syntezę, metabolizm glukozy i lipidów, a także ich wpływ na mikrobiotę jelitową, motorykę przewodu pokarmowego oraz pobieranie pokarmu. Podsumowano również obecną wiedzę dotyczącą wpływu BA na różne choroby oraz możliwości wykorzystania ich w terapii m.in. chorób zapalnych jelit, schorzeń wątroby, cukrzycy typu 2 i otyłości.

## WPROWADZENIE

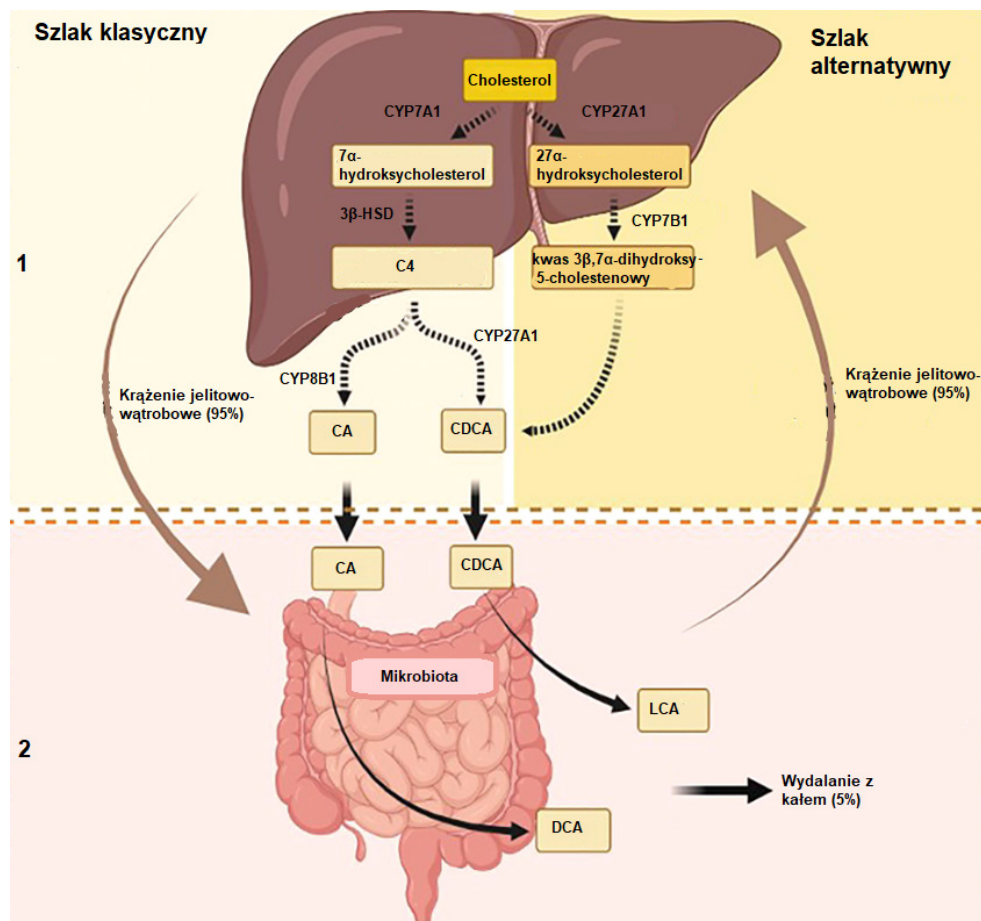
Kwasy żółciowe (ang. *bile acids*, BA) są produktami przejściowymi metabolizmu cholesterolu, które posiadają właściwości detergentów. W połączeniu z kwasami tłuszczowymi, cholesterolem i monoglicerydami BA tworzą micle, dzięki którym możliwa jest emulgacja tłuszczów. Podczas tworzenia micel zwiększa się powierzchnia tłuszczu eksponowana na działanie trawiących je lipaz trzustkowych, a same lipidy są wydajniej wchłaniane przez komórki jelita cienkiego. Micle tworzone przez BA odpowiadają również za rozpuszczalność i wchłanianie witamin rozpuszczalnych w tłuszczach [1].

W ostatnich latach udowodniono, iż BA działają także jako cząsteczki sygnałowe, a ich receptory powszechnie występują w większości narządów i tkanek. Dzięki oddziaływaniu z tymi receptorami kwasy żółciowe są w stanie regulować procesy własnej syntezy, a także aktywność szlaków metabolicznych lipidów, glukozy oraz procesów energetycznych [2]. Ponadto mogą brać udział w proliferacji komórek, reakcjach detoksykacji oraz regulacji układu odpornościowego [3]. Kwasy żółciowe mogą także stymulować wydzielanie pośrednich cząsteczek sygnałowych, które zostają uwolnione w wyniku aktywacji receptorów dla BA w jelicie [2].

## BIOSYNTeza KWASÓw ŻÓŁCIOWYCH

Synteza kwasów żółciowych zachodzi w wątrobie i ma istotne znaczenie dla utrzymania homeostazy cholesterolu, gdyż odpowiada za katabolizm 50% jego dziennej produkcji [4]. BA są lepiej rozpuszczalne w wodzie niż cholesterol, a to ułatwia ich usunięcie z organizmu [5]. BA endogennie syntetyzowane w wątrobie nazywane są pierwszorzędowymi BA i mogą być wytwarzane w dwóch różnych szlakach, znanych jako szlak klasyczny i alternatywny (Ryc. 1) [2]. W warunkach fizjologicznych klasyczny szlak odpowiada za produkcję około 90% kwasów żółciowych i jest uznawany za główny szlak ich biosyntezy [6]. Na szlaku alternatywnym powstaje pozostałe 10% BA, przy czym staje się on dominującym szlakiem w przypadku występowania schorzeń wątroby [7]. Klasyczny szlak jest precyzyjnie regulowany, natomiast szlak alternatywny – aktywny konstytutywnie [8]. Dzienna produkcja kwasów żółciowych *de novo* u człowieka to około 0,2–0,6 g, ale dzięki recyrkulacji BA ich funkcjonalna pula wynosi około 3 g [6].

Klasyczny szlak rozpoczyna się w retikulum endoplazmatycznym hepatocytów, gdzie 7 $\alpha$ -hydroksylaza cholesterolowa (CYP7A1 – mikrosomalny enzym z rodziny cytochromu P450) katalizuje reakcję hydroksylacji cholesterolu, w wyniku której powstaje 7 $\alpha$ -hydroksycholesterol. CYP7A1 jest uznawana za główny enzym regulujący biosyntezę BA [7]. Zarówno jego aktywność, jak i ekspresja genu kodującego CYP7A1 jest regulowana przez stężenie BA na zasadzie ujem-



Rycina 1. Synteza pierwszorzędowych (1) i drugorzędowych (2) kwasów żółciowych. 3β-HSD – dehydrogenaza 3β-hydroksy- $\Delta^5$ -C27-hydroksysteroidowa, C4 – 7α-hydroksy-4-cholesten-3-on, CA – kwas cholowy, CDCA – kwas chenodeoksycholowy, CYP27A1 – 27α-hydroksylaza sterolowa, CYP7A1 – 7α-hydroksylaza cholesterolowa, CYP7B1 – 7α-hydroksylaza oksysterolowa, CYP8B1 – 12α-hydroksylaza sterolowa, DCA – kwas deoksycholowy, LCA – kwas lithocholowy. Na podstawie [9].

nego sprzężenia zwrotnego. Innymi czynnikami regulującymi są hormony (m.in. glukokortykosteroidy, glukagon), cytokiny czy cykl dobowy [5]. 7α-hydroksycholesterol jest następnie przekształcany do 7α-hydroksy-4-cholesten-3-onu (C4) w wyniku aktywności dehydrogenazy 3β-hydroksy- $\Delta^5$ -C27-hydroksysteroidowej (3β-HSD). C4 jest prekursorem zarówno kwasu cholowego (ang. *cholic acid*, CA) jak i kwasu chenodeoksycholowego (ang. *chenodeoxycholic acid*, CDCA) [9]. Przekształcenie C4 do CA zachodzi przy udziale 12α-hydroksylazy sterolowej (CYP8B1), natomiast CDCA powstaje przy udziale 27α-hydroksylazy sterolowej (CYP27A1) [7].

Na szlaku alternatywnym następuje synteza głównie CDCA [7]. Proces ten rozpoczyna się od aktywacji CYP27A1, która w przeciwieństwie do CYP7A1 występującej tylko w wątrobie, może też występować w wielu innych miejscach, tj. np. śródbłonek naczyń, makrofagi, nerki, płuca, mózg, jelito oraz skóra. Enzym ten katalizuje konwersję cholesterolu do 27α-hydroksycholesterolu [5]. Następnie 7α-hydroksylaza oksysterolowa (CYP7B1) przekształca 27α-hydroksycholesterol do kwasu 3β,7α-dihydroksy-5-cholestenowego, który w wyniku dalszych przemian przekształca się w CDCA [9]. Szlak alternatywny prawdopodobnie zapobiega nadmiernej akumulacji cholesterolu w przypadku schorzeń wątroby [5].

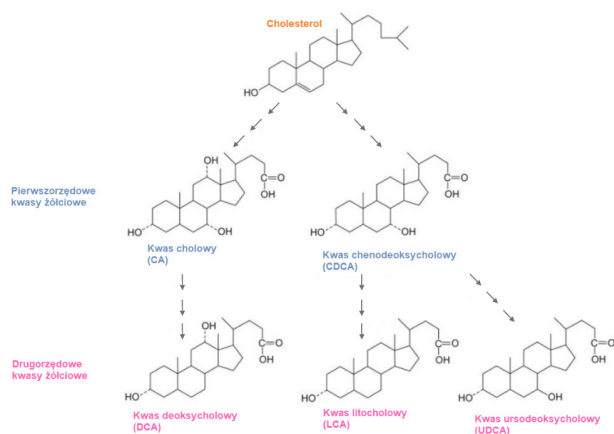
Większość powstałych kwasów żółciowych przed wydzieleniem z wątroby zostaje poddanych sprzężeniu z glicyną bądź tauryną w stosunku około 3:1 [4], co zwiększa ich rozpuszczalność w wodzie oraz zmniejsza cytotoksyczność [7]. Ponadto BA sprzężone z aminokwasami są mniej narażone na bierne wchłanianie oraz efektywniej utrzymują stan eubiozy w przewodzie pokarmowym [10]. Produkty sprzężenia BA z glicyną lub tauryną przedstawiono w Tabeli 1.

Sprężone kwasy żółciowe są następnie wydzielane do żółci i wraz z nią magazynowane w pęcherzyku żółciowym. W zasadowym pH żółci zjonizowane BA są anionami i tworzą z kationami sodowymi sole żółciowe (ang. *bile salts*, BS). W związku z tym, terminy BA oraz BS są w literaturze używane zamiennie [11]. W odpowiedzi na spożyty pokarm następuje wydzielenie żółci do światła jelita cienkiego, gdzie kwasy żółciowe biorą udział w emulgacji tłuszczów. Następnie większość BA (około 95%) zostaje reabsorbowana na odcinku jelita krętego i jest transportowana do wątroby. Kwasy żółciowe, które nie zostały wtórnie wchłonięte (około 5%) podlegają biotransformacji w jelicie, podczas której bakterie jelitowe przekształcają je w drugorzędowe BA [4]. U człowieka są to głównie kwas deoksycholowy (ang. *deoxycholic acid*, DCA) oraz kwas lithocholowy (ang. *lithocholic acid*, LCA) powstające w wyniku dehydroksylacji odpowiednio CA i CDCA [12]. Proces ten rozpoczyna się

**Tabela 1.** Pierwso- i drugorzędowe BA oraz produkty ich sprzęgania z glicyną lub tauryną

	BA sprzężone z: glicyną	tauryną
BA pierwszorzędowe: kwas cholowy (CA) kwas chenodeoksycholowy (CDCA)	kwas glikocholowy (GCA) kwas glikochenodeoksycholowy (GCDCA)	kwas taurocholowy (TCA) kwas taurochenodeoksycholowy (TCDCA)
BA drugorzędowe: kwas deoksycholowy (DCA) kwas litocholowy (LCA) kwas ursodeoksycholowy (UDCA)	kwas glikodeoksycholowy (GDCA) kwas glikolitocholowy (GLCA) kwas glikoursodeoksycholowy (GUDCA)	kwas taurodeoksycholowy (TDCA) kwas taurolitocholowy (TLCA) kwas tauroursodeoksycholowy (TUDCA)

dekoniugacją przy udziale bakteryjnej hydroksylazy soli żółciowych (ang. *bile salt hydrolase*, BSH) [4]. Główne rodzaje bakterii zaangażowanych w dekonjugację to *Bacteroides*, *Clostridium*, *Bifidobacterium* oraz *Lactobacillus* [13]. Następnie bakteryjna 7 $\alpha$ -dehydroksylaza usuwa grupę 7-OH z CA i CDCA w wyniku czego powstają kolejno kwas deoksycholowy (DCA) oraz kwas litocholowy (LCA). Niewielkie ilości CDCA (1–2%) są konwertowane do nietoksycznego kwasu ursodeoksycholowego (UDCA) w wyniku aktywności bakteryjnej dehydrogenazy 7 $\beta$ -hydroksysteroidowej (Ryc. 2) [4].



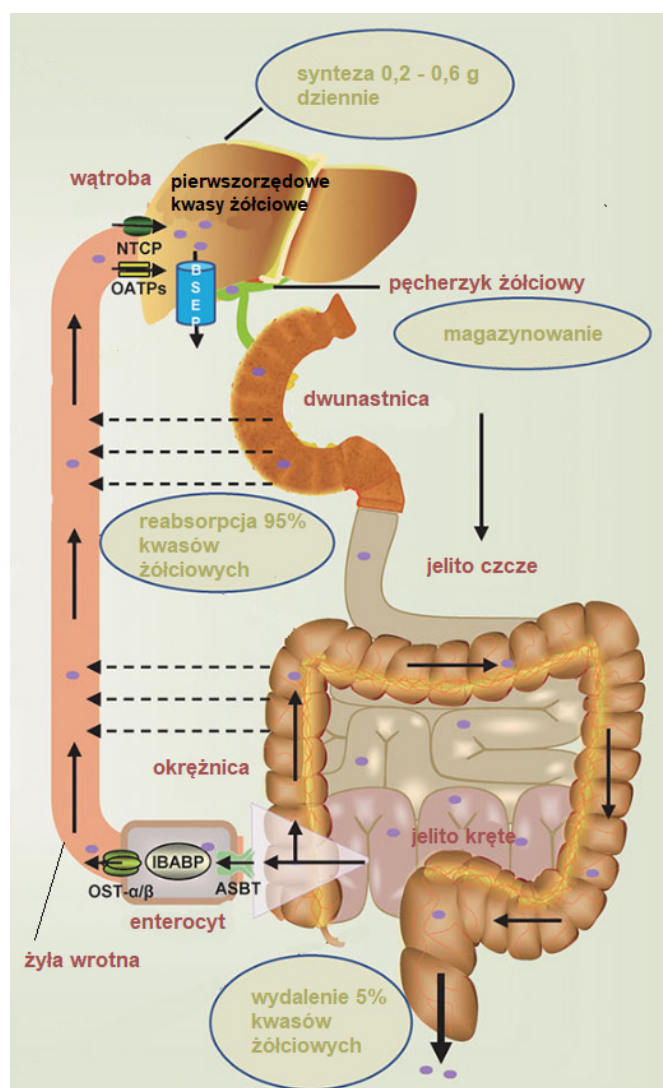
**Rycina 2.** Budowa pierwso- i drugorzędowych kwasów żółciowych. Na podstawie [13].

LCA jest toksycznym i bardzo słabo rozpuszczalnym w wodzie kwasem, w większości wydalany z kałem. Niewielkie ilości LCA (około 2%) są transportowane do wątroby i po dalszych przemianach kierowane są do wydalania z moczem. DCA jest kwasem o właściwościach silnie bakteriobójczych, co sprawia, że kontroluje przerost mikroflory w jelicie, ale może również promować rozwój nowotworu jelita grubego [4]. Bakterie jelitowe mogą również modyfikować DCA i LCA w izomery, które mają słabsze właściwości bakteriobójcze. Przeciwdrobnoustrojowy charakter BA może wynikać z ich natury detergentów, co prowadzi do uszkodzenia bakteryjnych błon oraz zmian w strukturze wielkocząsteczkowych związków wewnątrzkomórkowych bakterii [9].

## TRANSPORT I KRĄŻENIE KWASÓW ŻÓLCIOWYCH

Transport kwasów żółciowych na poszczególnych etapach ich biosyntezy i krążenia między wątrobą a jelitami

angażuje wiele różnych białek transportowych (Ryc. 3). Pierwszorzędowe BA zsyntetyzowane w hepatocytach, po sprzęganiu z aminokwasami, są wydzielane do kanalików żółciowych przy pomocy pompy eksportowej (ang. *bile salt export pump*, BSEP) i magazynowane w pęcherzyku żółciowym. Po spożytym posiłku komórki endokrynne I zlokalizowane w jelicie uwalniają cholecystokininę, co prowadzi do skurczu pęcherzyka żółciowego i w konsekwencji wydzielenia żółci do dwunastnicy.



**Rycina 3.** Transport kwasów żółciowych w krążeniu jelitowo-wątrobowym. ASBT – szczytowe białko transportowe zależne od sodu, BSEP – pompa eksportowa BA, IBABP – białko wiążące BA w jelicie krętym, NTCP – kotransporter Na<sup>+</sup>/kwasów żółciowych, OATP – polipeptyd transportujący aniony organiczne, OST –  $\alpha/\beta$ -transporter  $\alpha/\beta$ . Na podstawie [6].



Po spełnieniu swoich funkcji w jelicie BA są wtórnie transportowane przez enterocyty do wątroby za sprawą biernej dyfuzji w górnym odcinku przewodu pokarmowego lub transportu aktywnego w odcinku dolnym. Transport aktywny, dzięki któremu kwasy żółciowe są pobierane do enterocytów, odbywa się przy udziale szczytowego białka transportowego zależnego od sodu (ang. *apical sodium-dependent bile acid transporter*, ASBT) [7]. BA są następnie przemieszczane do błony podstawno-bocznej enterocytów. W procesie tym pośredniczy białko wiążące kwasy żółciowe w jelicie krętym (ang. *ileal bile acid binding protein*, IBABP). Z błony podstawno-bocznej BA są transportowane do żyły wrotnej przy udziale heterodimerskiego transportera substancji organicznych  $\alpha/\beta$  (ang. *organic solute transporter- $\alpha/\beta$* , OST- $\alpha/\beta$ ), a następnie wraz z krwią docierają do wątroby. W wątrobie hepatocyty pobierają BA za pomocą błonowego białka – kotransportera  $\text{Na}^+$ /kwasy żółciowe (ang. *sodium taurocholate co-transport polypeptide*, NTCP) oraz polipeptydu transportującego aniony organiczne (ang. *organic anion transporting polypeptide*, OATP) [6].

Pewna ilość BA może być reabsorbowana przez komórki nabłonka dróg żółciowych i na tej drodze recyrkulować do wątroby. Zdarza się, że niewielka ilość BA zostaje uwolniona do krążenia ogólnoustrojowego. W takiej sytuacji wracają one do wątroby w wyniku reabsorpcji przez kanaliki nerkowe [14]. Zjawisko recyrkulacji kwasów żółciowych nazywa się krążeniem jelitowo-wątrobowym. W ciągu doby u człowieka odbywa się 5-15 takich cykli (w zależności od diety, masy ciała i wieku), z czego do 4 występuje podczas posiłku [15]. Dzięki krążeniu jelitowo-wątrobowemu organizm odzyskuje dużą część wyprodukowanych BA, które na zasadzie ujemnego sprzężenia zwrotnego hamują aktywność pierwszego enzymu szlaku ich biosyntezy – CYP7A1. Takie działanie powracających do wątroby kwasów żółciowych ostatecznie kontroluje całkowitą ich pulę w krążeniu jelito-wątroba oraz chroni organizm przed ich akumulacją i cytotoksycznymi właściwościami [8].

## **ZNACZENIE RECEPTORÓW FXR ORAZ TGR5 W METABOLIZMIE I DZIAŁANIU KWASÓW ŻÓŁCIOWYCH**

Mimo, że kwasy żółciowe mogą bezpośrednio aktywować wiele szlaków sygnałowych, to w większości ich działań metabolicznych pośredniczą specyficzne receptory jądrowe (m.in. FXR, VDR, PXR/SXR) bądź błonowe (m.in. TGR5, S1PR2, FPR), z czego najlepiej poznane i opisane to farnesoidowy receptor X (ang. *farnesoid X receptor*, FXR) oraz receptor sprzężony z białkiem G -TGR5 (ang. *Takeda G-protein-coupled receptor*) [9,16].

Receptor FXR został po raz pierwszy zidentyfikowany w roku 1995 przez Formana i wsp. jako domniemany receptor dla farnesolu – produktu pośredniego w syntezie cholesterolu. Aktualnie FXR jest uznawany za główny receptor pośredniczący w działaniu BA u człowieka [9]. Należy on do nadrodziny receptorów jądrowych, które posiadają domeny łączące się zarówno z DNA, jak i ligandami [17]. Locus genu kodującego FXR znajduje się na chromosomie 12q23.1. Jego produktami są cztery różne funkcjonalne transkrypty, nazwane od FXR $\alpha$ 1 do FXR $\alpha$ 4, które powstają w zależno-

ści od wykorzystania alternatywnego promotora genu oraz na drodze alternatywnego splicingu. Wskutek przyłączenia się odpowiednich ligandów do receptora FXR dochodzi do jego aktywacji. Następnie FXR wchodzi w interakcję z heterodimerskim retinoidowym receptorem X (ang. *retinoid X receptor*, RXR) i przyłącza się do specyficznej sekwencji DNA, która jest elementem odpowiedzi dla FXR. W ten sposób regulowana jest ekspresja docelowych genów. Ekspresja genu kodującego FXR jest szczególnie wysoka w wątrobie i jelicie, co może wskazywać na ważną rolę tego receptora w regulacji krążenia jelitowo-wątrobowego BA [9]. Ponadto wykazano ekspresję FXR w nadnerczach, tkance tłuszczowej, ścianie śródbłonna, trzustce oraz nerkach [17].

Poszczególne BA aktywują FXR z różną siłą (CDCA > LCA = DCA > CA). Badania wykazały, że myszy pozbawione genu kodującego FXR mają zwiększony ogólny poziom cholesterolu oraz promiażdżycowy stosunek różnych jego form we krwi. Ponadto zaobserwowano u nich zmniejszoną pulę BA w organizmie oraz zwiększone ich wydalanie z kałem. Wskazuje to, że FXR pełni kluczową rolę w metabolizmie zarówno kwasów żółciowych, jak i tłuszczów. Aktywacja wątrobowego FXR przez BA prowadzi do indukcji ekspresji genu kodującego pompę BSEP, przy udziale której BA są wydzielane do żółci. Zahamowana zostaje natomiast ekspresja genu kodującego białko NTCP, odpowiadające za transport kwasów żółciowych do hepatocytów. Zarówno BSEP, jak i NTCP to główne białka transportowe BA, zatem regulacja ekspresji kodujących je genów wpływa na homeostazę BA w wątrobie. Co więcej, aktywacja FXR w wątrobie prowadzi do indukcji represora transkrypcyjnego, który hamuje transkrypcję genów kodujących enzymy CYP7A1 oraz CYP8B1, przy czym ten pierwszy jest głównym enzymem regulującym syntezę BA [4].

Aktywacja FXR w jelicie prowadzi do uwolnienia czynnika wzrostu fibroblastów 19 (ang. *fibroblast growth factor 19*, FGF19), który bierze udział w regulacji syntezy BA, a także indukcji pobierania BA do żyły wrotnej poprzez transportery OST $\alpha/\beta$ . Razem z kwasami żółciowymi do krwi żyły wrotnej transportowany jest FGF19, który następnie w wątrobie łączy się z kompleksem błonowym FGFR4/ $\beta$ -Klotho. Takie połączenie aktywuje kinazę MAP (ang. *mitogen-activated protein kinase*) oraz kinazy ERK1/2 (ang. *extracellular regulated kinase 1 and 2*), co prowadzi do zahamowania transkrypcji genów CYP7A1 oraz CYP8B1. Szlak od FXR/FGF19 w jelicie do FGFR4/ $\beta$ -Klotho w wątrobie wydaje się być głównym mechanizmem fizjologicznym regulującym syntezę BA na zasadzie ujemnego sprzężenia zwrotnego [4]. Podsumowując, aktywacja FXR w wątrobie i jelitach prowadzi do stymulacji krążenia jelitowo-wątrobowego kwasów żółciowych (poprzez wpływ na ekspresję genów kodujących odpowiednie transportery) oraz do hamowania ich syntezy *de novo* (poprzez wpływ na aktywność enzymów regulujących syntezę BA).

Receptor TGR5 został zidentyfikowany w 2002 roku przez Maruyamę i wsp. [18]. Podobnie jak FXR, TGR5 może być aktywowany przez wiele rodzajów BA, lecz jego najsilniejszym naturalnym agonistą jest LCA (LCA > DCA > CDCA > CA) [16]. Poziomy ekspresji receptora różnią się w poszczególnych tkankach, przy czym w dużej liczbeno-

ści występuje on w brunatnej tkance tłuszczowej, wątrobie, jelicie oraz wybranych obszarach ośrodkowego układu nerwowego. Biologiczny wpływ aktywacji TGR5 przez BA jest różny w zależności od danego kwasu oraz miejsca jego działania, i jak do tej pory tylko częściowo opisany [9]. Po stymulacji przez BA, TGR5 łączy się z białkami G<sub>s</sub> i aktywuje cyklazę adenylanową, co prowadzi do zwiększonej produkcji cAMP, a to z kolei indukuje aktywność kinazy białkowej A (ang. *protein kinase A*, PKA) lub białka EPAC (ang. *exchange protein directly activated by cAMP*). Stymulacja TGR5 może też aktywować kinazę MAP, głównie przez kinazę ERK1/2, białkową kinazę tyrozynową Src i kinazę mTOR. Jeśli zaś chodzi o udział β-arestyny w pośredniczeniu sygnału od TGR5 to dane są niejednoznaczne [16].

Coraz więcej danych wskazuje na ważną rolę TGR5 w regulacji poziomu i profilu kwasów żółciowych. Zaobserwowano, że myszy pozbawione genu kodującego TGR5 mają zmniejszony całkowity poziom BA, natomiast zwiększone stężenie BA 12α-hydroksylowych oraz BA hydrofobowych. Jest to związane z tym, iż aktywacja TGR5 zmniejsza ekspresję genu kodującego CYP8B1 w wątrobie, co prowadzi do zmniejszenia produkcji kwasów żółciowych 12α-hydroksylowych, a jednocześnie stymuluje alternatywny szlak ich syntezy, co prowadzi do zmniejszenia poziomu hydrofobowych BA [19]. Péan i wsp. w badaniu na transgenicznym myszom całkowicie pozbawionych genu kodującego TGR5 wykazali zwiększone stężenie BA o charakterze hydrofobowym w żółci, a także w puli BA krążących oraz wątrobowych [20]. Natomiast Donepudi i wsp. stwierdzili, że myszy pozbawione genu kodującego TGR5 miały zwiększony stosunek BA 12α-hydroksylowych do BA nie-12α-hydroksylowych [21]. Wyniki obu tych badań sugerują, że TGR5 może odgrywać ważną rolę w zmianie składu BA, zwłaszcza poprzez spadek stężenia BA 12α-hydroksylowych [19].

## ZNACZENIE KWASÓW ŻÓLCIOWYCH W PATOGENEZIE CHOROÓB ZAPALNYCH JELIT

FXR, a także TGR5 pośredniczą w działaniach kwasów żółciowych regulujących motorykę przewodu pokarmowego. Poprzez spowalnianie motoryki jelita cienkiego, BA ułatwiają wchłanianie składników odżywczych. Natomiast w końcowym odcinku przewodu pokarmowego stymulują one perystaltykę jelit, co pozwala na defekację. W konsekwencji, patologiczne zmiany w metabolizmie BA mogą być czynnikiem wpływającym na występowanie zaparć bądź biegunek [16].

Jak już wcześniej wspomniano, bakterie jelitowe przeprowadzają reakcje biotransformacji BA z pierwszorzędowych w drugorzędowe, z kolei BA mają bezpośredni wpływ na skład oraz liczebność bakterii w jelicie [12]. Podobnie jak przeciwdrobnoustrojowe peptydy czy enzymy proteolityczne, kwasy żółciowe i ich działanie w przewodzie pokarmowym uniemożliwiają nadmierną kolonizację jelita przez mikroorganizmy w tym miejscu. W związku z tym, spadek poziomu kwasów żółciowych bądź zaburzenia w przepływie żółci mogą być związane z przerostem bakterii, a także zapaleniem lub uszkodzeniem błony śluzowej jelita. Różne rodzaje modyfikacji BA mogą zmieniać ich wpływ

na mikrobiotę. Kwasy żółciowe o właściwościach hydrofobowych, tj. LCA czy DCA działają silnie bakteriobójczo [22]. Co więcej, kwasy żółciowe niesprężone z aminokwasami charakteryzują się silniejszymi właściwościami bakteriobójczymi niż te po sprzężeniu ze względu na ich amfipatyczną naturę, która umożliwia bierne pokonywanie błon komórkowych bakterii [23]. BA uszkodzają bakteryjne błony komórkowe (oddziaływanie na fosfolipidy i białka błonowe) oraz indukują powstawanie struktur drugorzędowych w RNA i uszkodzeń w DNA. Detergentowe właściwości kwasów żółciowych stanowią również o ich zdolności do zmiany konformacji bakteryjnych białek, co może skutkować nieprawidłowym ich fałdowaniem lub denaturacją. Oprócz bezpośredniego działania, kwasy żółciowe mogą pośrednio wpływać na mikrobiotę za pośrednictwem FXR. Aktywacja FXR w jelicie stymuluje ekspresję genów, których produkty związane są z układem odpornościowym, co w konsekwencji prowadzi do wydzielania czynników bakteriobójczych tj. angiogenina, która bierze udział w odpowiedzi ostrej fazy na infekcję oraz ma silne właściwości bakteriobójcze i przeciwrzybicze. W ten sposób kwasy żółciowe przeciwdziałają przerostowi bakterii oraz uszkodzeniom błony śluzowej w jelicie [22].

Interakcje między kwasami żółciowymi a bakteriami jelitowymi doprowadziły do zainteresowania ich udziałem w stanach zapalnych układu pokarmowego. Nieswoiste zapalenie jelit (ang. *inflammatory bowel diseases*, IBD) to grupa przewlekłych chorób zapalnych o podłożu immunologicznym, z których najczęściej występujące to wrzodziejące zapalenie jelita grubego (ang. *ulcerative colitis*, UC) oraz choroba Leśniowskiego-Crohn'a (ang. *Crohn's disease*, CD). Pomimo postępu medycyny, około 47% pacjentów cierpiących na CD oraz 16% z UC wymaga interwencji chirurgicznej w przebiegu 10 lat od diagnozy, co wskazuje na pilną potrzebę znalezienia nowych strategii terapeutycznych. IBD dotykają prawie 7 mln ludzi na całym świecie, przy czym przewiduje się, że w przebiegu kolejnych dekad zapadać na nie będzie coraz więcej ludzi, zwłaszcza mieszkańców krajów przemysłowych i rozwiniętych. Wiadomo, że IBD wynikają ze złożonych interakcji pomiędzy czynnikami genetycznymi a dysbiozą mikrobioty jelitowej, a także czynnikami środowiskowymi. Nie poznano natomiast dokładnych mechanizmów łączących wszystkie te czynniki, przez co scharakteryzowanie patogenyzy IBD jest na ten moment bardzo trudne [24]. Obecnie przyjmuje się, że u osób z genetycznymi predyspozycjami dochodzi do nieprawidłowej odpowiedzi immunologicznej (wrodzonej oraz nabytej) przeciwko antygenom bakterii jelitowych, co może prowadzić do stanów zapalnych i IBD [25].

Liczne badania wykazały zwiększony poziom pierwszorzędowych BA (CA, CDCA) sprzężonych z aminokwasami w stolcu osób chorych na IBD, zarówno u tych w trakcie remisji, jak i w trakcie aktywnego stanu choroby. Poziom BA drugorzędowych (DCA, LCA) był natomiast znacznie obniżony w porównaniu do osób zdrowych. Zaburzenia w metabolizmie kwasów żółciowych mogą być związane z dysbiozą towarzyszącą IBD, podczas której obserwuje się zwiększoną liczebność bakterii typu *Proteobacteria*, a z kolei obniżony poziom *Firmicutes*. Typ *Firmicutes* jest główną grupą bakterii produkujących aktywny enzym BSH katalizujący

jący dekoniugację BA, co może być przyczyną obniżonego poziomu drugorzędowych BA u osób chorych [13].

Pomimo, że wysokie stężenie drugorzędowych kwasów żółciowych w jelicie może być toksyczne, wykazano, że ich odpowiedni poziom jest niezbędny w regulacji jelitowego stanu zapalnego. W badaniu przeprowadzonym przez Sinha i wsp. zaobserwowano, że niedobór drugorzędowych BA spowodowany dysbiozą prowadził do zmian prozapalnych w jelitach myszy. Mysiom z modelowym zapaleniem jelita grubego podawano DCA i LCA, co skutkowało złagodzeniem stanu zapalnego oraz obniżonym poziomem cytokin i chemokin prozapalnych [26]. Powyższe obserwacje wskazują, iż dysbioza mikrobioty jelitowej oraz, co za tym idzie, zaburzenia w metabolizmie kwasów żółciowych mogą przyczyniać się do rozwoju IBD [25].

Zarówno u osób chorych na CD, jak i UC obserwuje się zaburzenia we wchłanianiu zwrotnym kwasów żółciowych w jelicie [25]. Prawdopodobną tego przyczyną jest obniżona ekspresja i aktywność jelitowego FXR w warunkach stanu zapalnego, który pełni ważną rolę w regulacji absorpcji BA zarówno poprzez aktywację transporterów BA, jak i wpływ na ekspresję genów kodujących transportery, tj. ASBT (transporter odpowiedzialny za pobieranie BA z jelit). W badaniach na modelach zwierzęcych (szczury w trakcie ostrej fazy zapalenia jelita grubego) zaobserwowano zmniejszoną ekspresję ASBT w jelicie oraz zwiększone wydalanie BA z kałem [13]. Jeśli chodzi o sam FXR, to Vavassori i wsp. wykazali, iż zapalenie jelita grubego u osób z CD oraz myszy modelowych wiąże się z obniżonym poziomem mRNA kodującego FXR w jelicie [27]. Aktywacja tego receptora w jelicie (przez agonistę FXR – INT-747) u myszy z zapaleniem jelita grubego prowadziła do łagodzenia stanu zapalnego oraz przywrócenia prawidłowego funkcjonowania komórek nabłonkowych jelita [25]. Także aktywacja receptora TGR5 może korzystnie wpływać na regenerację nabłonka jelit. W badaniu przeprowadzonym na myszach przez Sorrentino i wsp. wykazano, że uwolnienie endogennych BA do światła jelita indukowało proces odnowy i proliferacji komórek macierzystych jelit oraz pobudzało proces regeneracji w odpowiedzi na uszkodzenie [28]. Ponadto poprzez aktywację TGR5, BA zwiększają poziom cAMP i hamują wydzielanie cytokin prozapalnych indukowane przez bakteryjny lipopolisacharyd, w tym TNF- $\alpha$  oraz interleukiny: IL-1a, IL-1b, IL-6 i IL-8 [9]. W celu poznania dokładnych mechanizmów sygnałowych indukowanych przez kwasy żółciowe, a także ich zaburzeń w kontekście dysbiozy jelitowej u osób z IBD konieczne są dalsze badania, zwłaszcza na ludziach. W przyszłości możliwe jest opracowanie terapii opartej na agonistach receptorów BA [25].

## ROLA KWASÓW ŻÓŁCIOWYCH W ROZWOJU OTYŁOŚCI I CUKRZYCY

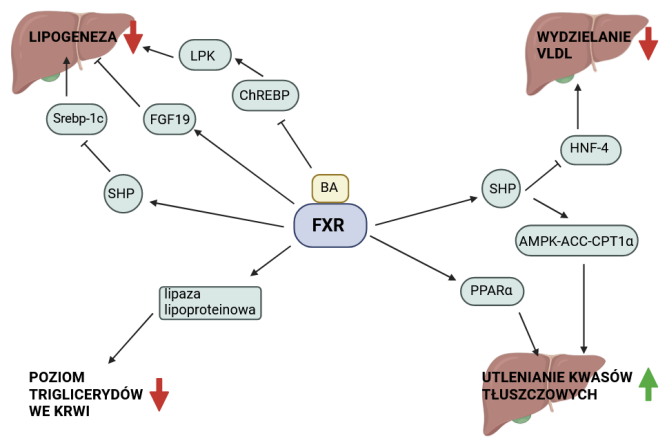
W 2016 roku WHO ogłosiła, że ponad 1,9 mld dorosłych na całym świecie zmaga się z nadwagą, z czego ponad 650 mln jest otyłych. Globalna epidemia otyłości spowodowała znaczny wzrost zachorowań na cukrzycę typu 2 (ang. *type 2 diabetes mellitus*, T2DM). Przewiduje się, iż w najbliższych latach odsetek ludzi zapadających na tę chorobę znacząco wzrośnie, a między 2015 a 2030 rokiem wzrost zachorowań

szacuje się na 54%. T2DM jest złożoną chorobą metaboliczną, która najczęściej rozwija się u osób wieku średniego i starszego, zwłaszcza otyłych [4]. Głównym mechanizmem patogenezy T2DM jest oporność na insulinę oraz na późniejszym etapie choroby niedostateczna jej produkcja przez komórki  $\beta$  trzustki [14]. Konsekwencją T2DM jest hiperglikemia, czyli zwiększone stężenie glukozy we krwi. Osoby chore na T2DM mają zwiększone ryzyko chorób układu krążenia, niewydolności nerek, udaru oraz metabolicznej sftuszczeniowej choroby wątroby [4]. Zarówno w przypadku otyłości, jak i T2DM, wpływ na rozwój choroby mają czynniki środowiskowe, tj. dieta oraz aktywność fizyczna, a także uwarunkowania genetyczne.

Wiele badań wykazało, iż u osób chorujących na otyłość i/lub cukrzycę występują zaburzenia metabolizmu BA, którym towarzyszy nieprawidłowy poziom i zmieniony skład BA. I tak na przykład u osób z T2DM zaobserwowano zmniejszoną zawartość CDCA i wzrost CA w puli kwasów żółciowych, a podczas doustnego testu tolerancji glukozy wzrost całkowitego stężenia BA we krwi, głównie z powodu zwiększonego poziomu BA sprzężonych z glicyną tj. GDCA i GUDCA. W innym badaniu także stężenie 12 $\alpha$ -hydroksylowych kwasów żółciowych w osoczu było wyższe u osób otyłych i chorych na T2DM [14]. Badania na modelach zwierzęcych wskazują na wiele mechanizmów działania kwasów żółciowych, które mogą potencjalnie przyczyniać się do rozwoju otyłości i/lub T2DM, np. ich udział w regulacji metabolizmu glukozy i lipidów, wydzielaniu hormonów jelitowych czy insuliny, a także utrzymaniu integralności bariery jelito-krew w przewodzie pokarmowym oraz funkcjonowaniu układu odpornościowego. Przypuszczalny wpływ zaburzeń w metabolizmie BA na rozwój chorób metabolicznych bada się również u ludzi. Przykładowo, skutek chirurgicznego leczenia otyłości zaobserwowano poprawę w metabolizmie glukozy i lipidów, co było związane ze zmianą profilu BA (wzrost całkowitego stężenia BA w ciągu 5 lat od operacji) oraz zwiększoną aktywnością szlaków sygnałowych obwodowych FXR i TGR5. U pacjentów po operacji wykazano wzrost stężenia FGF19 (skutek aktywacji FXR), a także GLP-1 (skutek aktywacji TGR5). Przypuszcza się, że działanie obu tych związków może stymulować utratę masy ciała [29-31].

Odkrycie nowej funkcji kwasów żółciowych jako naturalnych ligandów dla receptora FXR i TGR5 pozwoliło na opisanie wielu szlaków sygnałowych związanych z regulacją metabolizmu glukozy i lipidów, a także pobieraniem pokarmu [32]. U transgenicznych myszy pozbawionych genu kodującego FXR zaobserwowano zwiększony poziom triglicerydów i cholesterolu we krwi oraz w wątrobie. Ponadto miały one podwyższony poziom lipoproteiny o małej gęstości (ang. *low-density lipoprotein*, LDL) i lipoproteiny o bardzo małej gęstości (ang. *very low density lipoprotein*, VLDL) w surowicy. Z kolei aktywacja FXR prowadzi do obniżenia poziomu triglicerydów poprzez zahamowanie lipogenezy *de novo* oraz wydzielania VLDL w wątrobie (Ryc. 4). FXR działa na te procesy pośrednio, gdyż po pierwsze indukuje on ekspresję genu kodującego mały heterodimeryczny czynnik towarzyszący (ang. *small heterodimer partner*, SHP), co prowadzi do zahamowania transkrypcji genu kodującego białko wiążące element regulatorowy sterolu 1c (ang. *ste-*

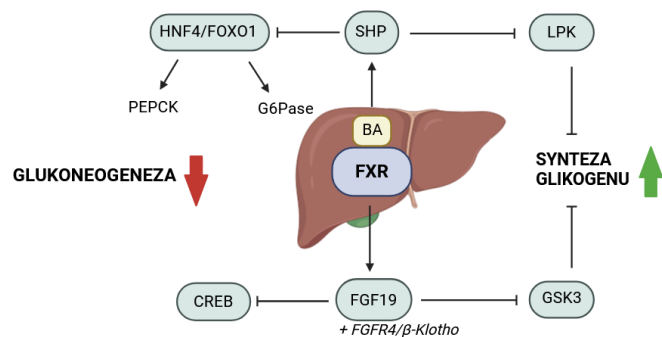




**Rycina 4.** Rola FXR w utrzymaniu homeostazy lipidów. ACC – karboksylaza acetylo-CoA, AMPK – kinaza aktywowana przez AMP, BA – kwasy żółciowe, ChREBP – czynnik transkrypcyjny ChREBP, CPT1 $\alpha$  – palmitoilotransferaza karnitynowa 1 $\alpha$ , FGF19 – czynnik wzrostu fibroblastów 19, FXR – farnesoidowy receptor X, HNF-4 – jądrowy czynnik hepatocytów 4, LPK – wątrobowa kinaza pirogronianowa, PPAR $\alpha$  – receptor alfa aktywowany przez proliferatory peroksysomów, SHP – mały heterodimeryczny czynnik towarzyszący, Srebp-1c – białko wiążące element regulatorowy sterolu 1, VLDL – lipoproteina o bardzo niskiej gęstości. Na podstawie [16,33].

rol regulatory element-binding protein-1c, Srebp-1c), które jest głównym regulatorem stymulującym syntezę lipidów. Po drugie, aktywacja FXR w jelicie indukuje ekspresję FGF19, który wpływa na zahamowanie lipogenezy. Dodatkowo dochodzi do FXR-zależnego zaburzenia w łączeniu się czynnika transkrypcyjnego ChREBP (ang. *carbohydrate-responsive element-binding protein*) z promotorem genu kodującego wątrobową kinazę pirogronianową (ang. *liver pyruvate kinase*, LPK), co także wpływa na obniżenie poziomu syntezy lipidów. Wiele lat temu wykazano, że aktywacja FXR przez CDCA prowadzi do zmniejszenia poziomu VLDL u osób z hiperlipidemią. Stosunkowo niedawno udało się wyjaśnić mechanizm tego działania, w którym aktywacja szlaku FXR/SHP prowadzi do obniżenia poziomu kluczowych związków pośrednich w reakcjach syntezy i wydzielania VLDL, tj. np. jądrowy czynnik hepatocytów 4 (ang. *hepatocyte nuclear factor-4*, HNF-4). Co więcej, w wyniku aktywacji FXR dochodzi do zwiększenia aktywności lipazy lipoproteinowej w tkance tłuszczowej oraz mięśniowej, co powoduje, że triglicerydy z krwi są wychwytywane i dzięki temu transportowane do wnętrza tych komórek. Aktywacja FXR stymuluje także procesy utleniania kwasów tłuszczowych w hepatocytach poprzez indukcję ekspresji genów kodujących regulatory tego procesu, tj. receptor alfa aktywowany przez proliferatory peroksysomów (ang. *peroxisome proliferator-activated receptor*, PPAR $\alpha$ ), czy indukcję ścieżki sygnałowej kinaza białkowa aktywowana przez AMP (ang. *AMP-activated protein kinase*, AMPK) – karboksylaza acetylo-CoA (ang. *acetyl coenzyme A carboxylase*, ACC) – palmitoilotransferaza karnitynowa 1 $\alpha$  (ang. *carnitine palmitoyl transferase 1 $\alpha$* , CPT1 $\alpha$ ) [16,33,34].

Aktywacja FXR przez kwasy żółciowe przyczynia się także do utrzymania homeostazy glukozy po posiłku, głównie na skutek hamowania glukoneogenezy oraz zwiększania produkcji i magazynowania glikogenu w wątrobie (Ryc. 5). Wskutek aktywacji FXR w hepatocytach i indukcji ekspresji genu kodującego SHP dochodzi do represji HNF-4 i czynni-

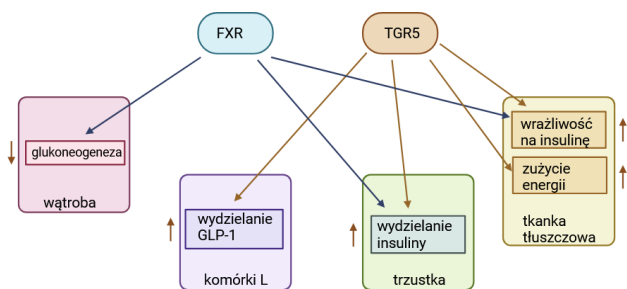


**Rycina 5.** Rola FXR w utrzymaniu homeostazy glukozy. BA – kwasy żółciowe, CREB – białko wiążące element odpowiedzi na cAMP, FGF19 – czynnik wzrostu fibroblastów 19, FGFR4 – receptor czynnika wzrostu fibroblastów 4, FOXO1 – czynnik transkrypcyjny FOXO1, FXR – farnesoidowy receptor X, G6Pase – glukozy-6-fosfataza, GSK3 – kinaza syntezy glikogenu 3, HNF-4 – jądrowy czynnik hepatocytów 4, LPK – wątrobowa kinaza pirogronianowa, PEPCK – karboksylkinaza fosfoenolpirogronianowa, SHP – mały heterodimeryczny czynnik towarzyszący. Na podstawie [16].

ka transkrypcyjnego FOXO1 (ang. *forkhead box protein O1*), przez co hamowana jest transkrypcja genów kodujących enzymy biorące udział w glukoneogenezie – karboksylkinazy fosfoenolpirogronianowej (ang. *phosphoenolpyruvate carboxykinase*, PEPCK) oraz glukozy-6-fosfatazy (ang. *glucose 6-phosphatase*, G6Pase). Co więcej, w hamowaniu glukoneogenezy zaangażowany jest także FGF19, który poprzez połączenie z FGFR4/ $\beta$ -Klotho uruchamia kaskadę sygnałową, co ostatecznie prowadzi do represji białka wiążącego element odpowiedzi na cAMP (ang. *cAMP response element-binding protein*, CREB), który jest jednym z kluczowych regulatorów stymulujących glukoneogenezę. Szlak FXR-FGF19/FGFR4- $\beta$ -Klotho w dużym stopniu przyczynia się również do zwiększonej syntezy glikogenu w wątrobie. Dochodzi do tego poprzez inhibicję kinazy syntezy glikogenu 3 (ang. *glycogen synthase kinase 3*, GSK3). Skutkiem aktywacji FXR w wątrobie jest także zahamowanie transkrypcji genu kodującego wątrobową kinazę pirogronianową (ang. *liver pyruvate kinase*, LPK), co dodatkowo promuje syntezę glikogenu [16].

W badaniach na transgenicznym myszom pozbawionym genu kodującego FXR zaobserwowano ograniczone magazynowanie glikogenu w wątrobie oraz zmniejszoną wrażliwość na insulinę. Ponadto wykazano, iż aktywowany FXR bierze bezpośredni udział w regulacji metabolizmu glukozy poprzez indukcję wydzielania insuliny z komórek  $\beta$  trzustki. U myszy pozbawionych genu kodującego FXR podobny efekt nie występował [16].

Także TGR5 odgrywa ważną rolę w metabolizmie lipidów i glukozy. W kontekście utrzymania homeostazy lipidów, aktywacja TGR5 u badanych myszy prowadziła do zmniejszonego magazynowania triglicerydów w wątrobie oraz chroniła przed jej zwłóknieniem, poprawiając jednocześnie ogólne funkcjonowanie wątroby. Podawanie INT-777 (półsyntetyczny agonista TGR5) myszom karmionym dietą bogatą w tłuszcze prowadziło u nich do obniżenia poziomu wolnych kwasów tłuszczowych we krwi, a także zabezpieczało przed stłuszczeniem wątroby [19]. W badaniu przeprowadzonym przez Comeglio i wsp. królikom z zespołem metabolicznym (charakteryzującym się m.in. in-



**Rycina 6.** Aktywacja FXR i/lub TGR5 a przeciwcukrzycowe działanie BA. FXR – farnesoidowy receptor X, GLP-1 – glukagonopodobny peptyd 1, TGR5 – receptor TGR5. Na podstawie [50].

sulinoopornością, dyslipidemią i otyłością trzewną) podawano podwójnego agonistę FXR i TGR5 – INT-767. Związek ten zmniejszał stan zapalny w wątrobie, a także obniżał ekspresję genów, których produkty wpływają na szybkość lipogenezy *de novo*, jednocześnie promując ekspresję genów, których produkty związane są z pobieraniem lipidów [35]. Jeśli chodzi o rolę TGR5 w regulacji metabolizmu glukozy, to aktywacja tego receptora przez INT-777 u myszy z otyłością prowadziła do zmniejszenia produkcji glukozy w wątrobie oraz zwiększenia wrażliwości na insulinę w wątrobie i mięśniach. Aktywacja tego receptora przez BA prowadzi także do zwiększonego wydzielania GLP-1 oraz PYY (Ryc. 6). GLP-1 jest hormonem inkrzynowym stymulującym wydzielanie insuliny przez komórki  $\beta$  trzustki oraz biorącym udział w regulacji pobierania pokarmu. GLP-1 hamuje pobieranie pokarmu oraz spowalnia opróżnianie żołądka. PYY także hamuje pobieranie pokarmu i zwiększa zużycie energii. Dzięki tym działaniom, zarówno GLP-1, jak i PYY mogą wpływać na masę ciała [36,37]. Co ciekawe, wiele wskazuje na to, że aktywacja FXR zmniejsza wydzielanie GLP-1 w odpowiedzi na krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe (ang. *short chain fatty acids*, SCFA) produkowane przez mikrobiotę jelitową [38]. Niejasne jest natomiast czy FXR pośredniczy w wydzielaniu PYY [39].

W ostatnich latach przeprowadza się coraz więcej badań w kierunku opracowania efektywnej terapii T2DM opartej na kwasach żółciowych. Działanie lecznicze przypisuje się samemu BA oraz sekwestrantom BA, a także bada się działanie agonistów FXR i TGR5 jako potencjalnych leków w przyszłych terapiach. Samych BA używa się od lat w leczeniu chorób metabolicznych [40]. Przykładem może być doodbytnicze podawanie taurochololanu osobom z cukrzycą, który zostaje przekształcony do DCA, co w konsekwencji u chorych powoduje zwiększone wydzielanie GLP-1 oraz insuliny, dzięki czemu dochodzi do obniżenia poziomu glukozy we krwi oraz zmniejszenia apetytu [4]. W terapii T2DM często stosowana jest metformina, która m.in. zmniejsza insulinooporność u chorych. W badaniu na myszach z insulinoopornością indukowaną dietą wykazano, że metformina zwiększa produkcję BA sprzężonych z aminokwasami, głównie kwasu tauroursodeoksycholowego (ang. *tauroursodeoxycholic acid*, TUDCA) w jelitach i wątrobie (sprawą kluczową dla akumulacji TUDCA wydaje się zmniejszenie przez metforminę liczebności *Bifidobacterium* produkującej BSH). W kolejnym badaniu na myszach ob/ob (z otyłością i insulinoopornością), którym podawano TUDCA zaobser-

wowano wzrost wrażliwości na insulinę, spadek masy ciała i poprawę profilu lipidowego [41]. Obserwacje na myszach potwierdziły się także u ludzi z T2DM, u których zaobserwowano obniżony poziom TUDCA w kale, a w grupie przyjmującej metforminę wzrost tego BA [42]. Sekwestranty kwasów żółciowych, tj. cholestyramina czy kolesewalam to niewchłanialne z przewodu pokarmowego leki z grupy żywic jonowymiennych. Działają one w jelicie cienkim, gdzie wiążą ujemnie naładowane kwasy żółciowe w kompleksy, które są następnie wydalane. Cholestyramina jest stosowana w leczeniu niektórych objawów chorób metabolicznych, np. dyslipidemii, w której obserwuje się zaburzenie poziomu lipidów we krwi. Stymuluje ona transformację cholesterolu do BA (syntezę *de novo* BA) poprzez ograniczenie powrotu BA do wątroby za sprawą krążenia jelitowo-wątrobowego. Sekwestranty kwasów żółciowych zostały niedawno zatwierdzone w Stanach Zjednoczonych jako lek w terapii T2DM. Jeśli chodzi o stosowanie agonistów FXR, to badania skupiają się głównie na OCA (efektywny półsyntetyczny agonista FXR), który w wątrobie prowadzi do zahamowania glukoneogenezy, co może obniżyć hiperglikemię u osób z T2DM. Z kolei badania nad użyciem agonistów TGR5 skupiają się na zastosowaniu półsyntetycznego INT-777, który w badaniach na myszach prowadził do zmniejszonego magazynowania tłuszczu w adipocytach, a także ograniczonego działania makrofagów poprzez zahamowanie produkcji cytokin prozapalnych. Zarówno przeładowanie komórek tłuszczem, jak i nadmierne działanie makrofagów związane jest z rozwojem insulinooporności w T2DM. Dalsze badania w zakresie bezpieczeństwa i skuteczności stosowania kwasów żółciowych, ich sekwestrantów, a także agonistów ich receptorów są konieczne by można było opracować przyszłe terapie chorób metabolicznych tj. otyłości oraz T2DM [4,40].

## KWASY ŻÓŁCIOWE A SCHORZENIA WĄTROBY

Metaboliczna stłuszczeniowa choroba wątroby (ang. *metabolic-associated fatty liver disease*, MAFLD) dotyka prawie 1/4 światowej populacji, a liczba nowych przypadków wciąż gwałtownie rośnie. Choroba ta występuje w dwóch postaciach: niealkoholowego stłuszczenia wątroby (ang. *non-alcoholic fatty liver*, NAFL) oraz niealkoholowego stłuszczeniowego zapalenia wątroby (ang. *non-alcoholic steatohepatitis*, NASH), które charakteryzuje się stanem zapalnym oraz uszkodzeniem bądź zwłóknieniem tego narządu. W przypadku supresji licznych mechanizmów kontrolnych, NASH może postępować w kierunku marskości wątroby, a nawet raka wątrobowokomórkowego. W odróżnieniu od chorób wątroby o podłożu immunologicznym, główną przyczyną rozwoju MAFLD jest długotrwałe zaburzenie w równowadze metabolizmu glukozy, lipidów oraz cholesterolu [43].

Przeprowadzono wiele badań, które analizowały poziom i skład kwasów żółciowych w różnych próbkach biologicznych pobranych od myszy oraz osób z MAFLD. W surowicy myszy karmionych dietą deficytową w metioninę i cholinę powodującą stłuszczenie wątroby stwierdzono zwiększone stężenie konkretnych BA, np. kwasu taurocholowego (ang. *taurocholic acid*, TCA) [43]. Myszy z NASH indukowanym dietą o dużej zawartości tłuszczów i węglowodanów także miały podwyższony poziom TCA w surowicy [44]. Inne



badanie pokazało, że myszy pozbawione receptorów FXR i TGR5 wykazują nasilone cechy MAFLD [43].

U ludzi, poziom kwasów żółciowych w osoczu był szeroko badany w kontekście czynników patofizjologicznych NASH. Wyniki badań klinicznych są jednak często zaburzone poprzez współwystępowanie NASH z insulinopornością, T2DM i/lub otyłością, w których także obserwuje się zmiany w poziomie BA. Ostatnie badania wykazały, iż profil krążących kwasów żółciowych ulega istotnym zmianom i koreluje z nasileniem NASH. Generalnie stężenie BA w osoczu jest wyższe u osób z NASH w porównaniu do grupy kontrolnej, przy czym w zależności od badania obserwuje się inne zmiany jakościowe w poziomie BA, np. wzrost BA pierwszorzędowych lub wzrost BA sprzężonych z aminokwasami [45]. Co ciekawe, obserwuje się też różnice w poziomie kwasów żółciowych między osobami z NASH a osobami z NAFL. U tych pierwszych stosunek pierwszorzędowych BA sprzężonych z aminokwasami do pierwszorzędowych BA niesprężonych jest znacznie podwyższony. Ponadto stężenie pierwszorzędowych kwasów żółciowych sprzężonych z aminokwasami, a zwłaszcza TCA i GCA, jest znacznie zwiększone u osób z NASH w porównaniu do osób z NAFL [44]. Z kolei w badaniu Mouzaki i wsp. całkowity poziom BA w kale, a także poziom CA i CDCA oraz synteza BA były wyższe u osób z NASH w porównaniu do zdrowych ochotników. Co więcej, mieli oni zwiększony stosunek BA pierwszorzędowych do drugorzędowych w porównaniu do osób zdrowych, natomiast stosunek BA sprzężonych do niesprężonych z aminokwasami nie różnił się pomiędzy grupami [46]. Interesujące są też wyniki niedawno przeprowadzonego badania na dużej liczbie pacjentów, które pokazały, że stężenie kwasów żółciowych w osoczu osób z NASH jest podwyższone tylko wtedy, gdy występuje u nich znaczna insulinoporność [44].

Badano także ekspresję genów związanych z syntezą kwasów żółciowych. U pacjentów z NASH zaobserwowano podwyższoną ekspresję genu kodującego CYP7B1, co wskazuje na zmianę w kierunku alternatywnej drogi syntezy BA. Największa ekspresja tego genu była we wczesnym stadium choroby i zmniejszała się wraz z postępem NASH, co może być związane ze zmniejszonym gromadzeniem się cholesterolu wewnątrz komórek oraz z produkcją ligandów dla receptorów FXR lub TGR5 o silnym działaniu przeciwzapalnym [43].

Szlaki sygnałowe BA oraz ścieżki ich syntezy stanowią atrakcyjne cele dla terapii zaburzeń metabolicznych wątroby. Obecnie testowane jest podawanie BA, agonistów ich receptorów lub analogów czynników ze ścieżki sygnałowej indukowanej aktywacją FXR/TGR5 (biorącymi udział w krążeniu jelitowo-wątrobowym) w badaniach przedklinicznych oraz trwających badaniach klinicznych [43]. Odkryto, iż za pośrednictwem FXR dochodzi do ograniczenia procesów zapalnych zarówno w wątrobie, jak i jelicie, na skutek zmniejszonej ekspresji genów kodujących interleukiny: IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6 oraz zahamowania produkcji leukotrienów i aktywacji komórek NK [22]. Aktywacja TGR5 na komórkach Kupffera – wątrobowych makrofagach, również zapobiega nadmiernej produkcji cytokin prozapalnych, tym samym ograniczając uszkodzenie wątroby w stanie

cholestazy [47]. Ponadto za sprawą TGR5, który zwiększa wytwarzanie tlenu azotu poprzez zależną od cAMP aktywację śródbłonkowej syntazy tlenu azotu (ang. *endothelial nitric oxide synthase*, eNOS) wątroba jest chroniona przed skutkami peroksydacji lipidów [9].

Agonista receptora FXR – OCA, który wcześniej awansował do III fazy badań klinicznych jako najbardziej skuteczny lek na MAFLD/NASH zwalczający zwłóknienia i zapalenia wątroby, został niedawno odrzucony przez Agencję Żywności i Leków w USA. Powszechnym efektem niepożądanym we wszystkich badaniach nad OCA był pogorszony profil lipidowy osocza (zwiększone stężenie LDL i obniżone stężenie HDL). Ze względu na to, iż FGF19 jest czynnikiem pośredniczącym w niektórych korzystnych działaniach FXR, analog FGF19 o nazwie NGM282 został skierowany do II fazy badań klinicznych i jak do tej pory daje obiecujące rezultaty. Co więcej, selektywni agonści receptora TGR5 oraz podwójni agonści FXR/TGR5 (INT-767) także wykazali się pozytywnym działaniem w badaniach przedklinicznych na zwierzętach, a INT-767 został wprowadzony do I fazy badań klinicznych [43,44]. Rozwój bezpiecznych i skutecznych terapii MAFLD opartych na BA ogranicza nadal wiele wyzwań, w tym selektywność agonistów FXR/TGR5 oraz różna aktywność tych związków zależna od miejsca ich działania [48].

## PODSUMOWANIE

Wszystkie wyżej opisane funkcje kwasów żółciowych powodują, że są one obiecującym celem w terapii wielu różnych chorób. Mimo to, ograniczeniem w stosowaniu agonistów FXR i TGR5 mogą być niepożądane działania biologiczne wynikające ze zbyt powszechnej ekspresji tych receptorów. Dlatego bardzo istotne jest opracowanie specyficznych agonistów, które działałyby tylko w konkretnych tkankach lub komórkach.

Ponadto potrzebne są dalsze badania, aby dokładnie poznać mechanizmy działania poszczególnych rodzajów BA, które mogą zależeć od ich stężenia, a także miejsca działania, co wykazano m.in. w przypadku nowotworów. Początkowo w latach 40. XX wieku uważano kwasy żółciowe za związki promujące nowotwory ze względu na karcynogeny efekt drugorzędowych kwasów żółciowych, zwłaszcza DCA. Co ciekawe, w ostatnich latach stopniowo odkrywano jest ich potencjał terapeutyczny. Jak się okazuje, na to czy BA wykazują korzystne czy toksyczne efekty może wpływać ich rodzaj, stężenie oraz miejsce działania [6]. Podczas gdy hydrofilowe, mniej cytotoksyczne BA (CDCA, CA) odgrywają ochronną rolę w komórkach przewodu pokarmowego i wątroby, to hydrofobowe BA (LCA, DCA) mogą być cytotoksyczne i powodować stres oksydacyjny oraz uszkodzenia DNA, co stanowi czynnik predysponujący do transformacji komórek w nowotworowe [49]. Co więcej, na podstawie badań *in vitro* na komórkach nowotworowych stwierdzono, że w niskich dawkach (poniżej 50  $\mu$ M) DCA i CDCA promują proliferację komórek oraz hamują apoptozę, podczas gdy w wysokich dawkach (powyżej 100  $\mu$ M) te same kwasy żółciowe wykazują działanie anty-proliferacyjne oraz proapoptotyczne [6]. Obecnie najbardziej obiecującym w tym zakresie wydaje się być UDCA, ponieważ nie tylko

może bezpośrednio działać przeciwnowotworowo, ale także hamować stany zapalne poprzez redukcję poziomu toksycznych BA (takich jak DCA) [6].

Interesujący jest też nowy kierunek badań nad kwasami żółciowymi zapoczątkowany identyfikacją receptora S1PR2. Wykazano, że jest on związany z wieloma procesami fizjologicznymi i patologicznymi oraz odgrywa kluczową rolę w regulacji odpowiedzi immunologicznej, procesach metabolicznych oraz funkcjonowaniu serca, nerek, układu mięśniowo-szkieletowego i układu nerwowego. Ekspresja S1PR2 jest szczególnie wysoka w przewodzie pokarmowym i wątrobie, a jego aktywatorami są jedynie pierwszorzędowe BA sprzężone z aminokwasami (TCA jest jego najsilniejszym agonistą). Ponadto aktywacja S1PR2 przez TCA jest kluczowa dla metabolizmu lipidów i glukozy w wątrobie [44].

## PIŚMIENNICTWO

- Mukhopadhyay S, Maitra U (2004) Chemistry and biology of bile acids. *Current Science*:1666-1683
- Mertens KL, Kalsbeek A, Soeters MR, Eggink HM (2017) Bile Acid Signaling Pathways from the Enterohepatic Circulation to the Central Nervous System. *Front Neurosci* 11:617
- Duan S, Li X, Fan G, Liu R (2022) Targeting bile acid signaling for the treatment of liver diseases: From bench to bed. *Biomed Pharmacother* 152:113154
- Ferrell JM, Chiang JYL (2019) Understanding Bile Acid Signaling in Diabetes: From Pathophysiology to Therapeutic Targets. *Diabetes Metab J* 43:257-272
- Hebanowska A (2010) Biosynteza kwasów żółciowych i jej regulacja. *Postepy Hig Med Dosw* (online) 64:544-554
- Fu J, Yu M, Xu W, Yu S (2021) Research Progress of Bile Acids in Cancer. *Front Oncol* 11:778258
- Yeo XY, Tan LY, Chae WR, Lee DY, Lee YA, Wuestefeld T, Jung S (2023) Liver's influence on the brain through the action of bile acids. *Front Neurosci* 17:1123967
- Chiang JYL, Ferrell JM (2022) Discovery of farnesoid X receptor and its role in bile acid metabolism. *Mol Cell Endocrinol* 548:111618
- Giannini C, Mastromauro C, Scapaticci S, Gentile C, Chiarelli F (2022) Role of bile acids in overweight and obese children and adolescents. *Front Endocrinol (Lausanne)* 13:1011994
- Mori H, Svegliati Baroni G, Marzioni M, Di Nicola F, Santori P, Maroni L, Abenavoli L, Scarpellini E (2022) Farnesoid X Receptor, Bile Acid Metabolism, and Gut Microbiota. *Metabolites* 12:647
- Devlin MT (2023) Textbook of biochemistry. Paperbackshop UK Import, Wiley John&Sons Inc., New York, USA
- Cai J, Sun L, Gonzalez FJ (2022) Gut microbiota-derived bile acids in intestinal immunity, inflammation, and tumorigenesis. *Cell Host Microbe* 30:289-300
- Kriaa A, Mariaule V, Jablaoui A, Rhimi S, Mkaouar H, Hernandez J, Korkmaz B, Lesner A, Maguin E, Aghdassi A, Rhimi M (2022) Bile Acids: Key Players in Inflammatory Bowel Diseases? *Cells* 11:901
- Gao R, Meng X, Xue Y, Mao M, Liu Y, Tian X, Sui B, Li X, Zhang P (2022) Bile acids-gut microbiota crosstalk contributes to the improvement of type 2 diabetes mellitus. *Front Pharmacol* 13:1027212
- Panek-Jeziorna M, Mulak A (2017) The role of bile acids in the pathogenesis of bowel diseases. *Postepy Hig Med Dosw (Online)* 71:737-746
- Perino A, Demagny H, Velazquez-Villegas L, Schoonjans K (2021) Molecular Physiology of Bile Acid Signaling in Health, Disease, and Aging. *Physiol Rev* 101:683-731
- Fang S (2017) Bile acid receptor farnesoid X Receptor: a novel therapeutic target for metabolic diseases. *Journal of Lipid and Atherosclerosis* 6:1-7
- Maruyama T, Miyamoto Y, Nakamura T, Tamai Y, Okada H, Sugiyama E, Nakamura T, Itadani H, Tanaka K (2002) Identification of membrane-type receptor for bile acids (M-BAR). *Biochem Biophys Res Commun* 298:714-9
- Holter MM, Chirikjian MK, Govani VN, Cummings BP (2020) TGR5 Signaling in Hepatic Metabolic Health. *Nutrients* 12:2598
- Péan N, Doignon I, Garcin I, Besnard A, Julien B, Branchereau S, Spraul A, Guettier C, Humbert L, Schoonjans K, Rainteau D, Tordjmann T (2013) The receptor TGR5 protects the liver from bile acid overload during liver regeneration in mice. *Hepatology* 58:1451-60
- Donepudi AC, Boehme S, Li F, Chiang JY (2017) G-protein-coupled bile acid receptor plays a key role in bile acid metabolism and fasting-induced hepatic steatosis in mice. *Hepatology* 65:813-827
- Duszka K (2022) Versatile Triad Alliance: Bile Acid, Taurine and Microbiota. *Cells* 11:2337
- Majait S, Nieuwdorp M, Kemper M, Soeters M (2023) The Black Box Orchestra of Gut Bacteria and Bile Acids: Who Is the Conductor? *Int J Mol Sci* 24:1816
- Thomas JP, Modos D, Rushbrook SM, Powell N, Korcsmaros T (2022) The Emerging Role of Bile Acids in the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease. *Front Immunol* 13:829525
- Lin S, Wang S, Wang P, Tang C, Wang Z, Chen L, Luo G, Chen H, Liu Y, Feng B, Wu D, Burrin DG, Fang Z (2023) Bile acids and their receptors in regulation of gut health and diseases. *Prog Lipid Res* 89:101210
- Sinha SR, Haileselassie Y, Nguyen LP, Tropini C, Wang M, Becker LS, Sim D, Jarr K, Spear ET, Singh G, Namkoong H, Bittinger K, Fischbach MA, Sonnenburg JL, Habtezion A (2020) Dysbiosis-Induced Secondary Bile Acid Deficiency Promotes Intestinal Inflammation. *Cell Host Microbe* 27:659-670.e5
- Vavassori P, Mencarelli A, Renga B, Distrutti E, Fiorucci S (2009) The bile acid receptor FXR is a modulator of intestinal innate immunity. *J Immunol* 183:6251-61
- Sorrentino G, Perino A, Yildiz E, El Alam G, Bou Sleiman M, Gioiello A, Pellicciari R, Schoonjans K (2020) Bile Acids Signal via TGR5 to Activate Intestinal Stem Cells and Epithelial Regeneration. *Gastroenterology* 159:956-968.e8
- Li R, Andreu-Sánchez S, Kuipers F, Fu J (2021) Gut microbiome and bile acids in obesity-related diseases. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 35:101493
- Browning MG, Pessoa BM, Khoraki J, Campos GM (2019) Changes in Bile Acid Metabolism, Transport, and Signaling as Central Drivers for Metabolic Improvements After Bariatric Surgery. *Curr Obes Rep* 8:175-184
- Risstad H, Kristinsson JA, Fagerland MW, le Roux CW, Birkeland KI, Gulseth HL, Thorsby PM, Vincent RP, Engström M, Olbers T, Mala T (2017) Bile acid profiles over 5 years after gastric bypass and duodenal switch: results from a randomized clinical trial. *Surg Obes Relat Dis* 13:1544-1553
- Xie AJ, Mai CT, Zhu YZ, Liu XC, Xie Y (2021) Bile acids as regulatory molecules and potential targets in metabolic diseases. *Life Sci* 287:120152
- Zhou W, Anakk S (2022) Enterohepatic and non-canonical roles of farnesoid X receptor in controlling lipid and glucose metabolism. *Mol Cell Endocrinol* 549:111616
- Fiorucci S, Distrutti E, Carino A, Zampella A, Biagioli M (2021) Bile acids and their receptors in metabolic disorders. *Prog Lipid Res* 82:101094
- Comeglio P, Cellai I, Mello T, Filippi S, Maneschi E, Corcetto F, Corneo C, Sarchielli E, Morelli A, Rapizzi E, Bani D, Guasti D, Vannelli GB, Galli A, Adorini L, Maggi M, Vignozzi L (2018) INT-767 prevents NASH and promotes visceral fat brown adipogenesis and mitochondrial function. *J Endocrinol* 238:107-127
- Xie C, Jones KL, Rayner CK, Wu T (2020) Enteroendocrine Hormone Secretion and Metabolic Control: Importance of the Region of the Gut Stimulation. *Pharmaceutics* 12:790
- Karra E, Chandarana K, Batterham RL (2009) The role of peptide YY in appetite regulation and obesity. *J Physiol* 587:19-25
- Ducastel S, Touche V, Trabelsi MS, Boulinguiez A, Butruille L, Nawrot M, Peschard S, Chávez-Talavera O, Dorchie E, Vallez E, Annicotte


- JS, Lancel S, Briand O, Bantubungi K, Caron S, Bindels LB, Delzenne NM, Tailleux A, Staels B, Lestavel S (2020) The nuclear receptor FXR inhibits Glucagon-Like Peptide-1 secretion in response to microbiota-derived Short-Chain Fatty Acids. *Sci Rep* 10:174
39. Xie C, Huang W, Young RL, Jones KL, Horowitz M, Rayner CK, Wu T (2021) Role of Bile Acids in the Regulation of Food Intake, and Their Dysregulation in Metabolic Disease. *Nutrients* 13:1104
40. Wu Y, Zhou A, Tang L, Lei Y, Tang B, Zhang L (2020) Bile Acids: Key Regulators and Novel Treatment Targets for Type 2 Diabetes. *J Diabetes Res* 2020:6138438
41. Zhang Y, Cheng Y, Liu J, Zuo J, Yan L, Thring RW, Ba X, Qi D, Wu M, Gao Y, Tong H (2022) Tauroursodeoxycholic acid functions as a critical effector mediating insulin sensitization of metformin in obese mice. *Redox Biol* 57:102481
42. Therdtatha P, Song Y, Tanaka M, Mariyatun M, Almunifah M, Manurung NEP, Indriarsih S, Lu Y, Nagata K, Fukami K, Ikeda T, Lee YK, Rahayu ES, Nakayama J (2021) Gut Microbiome of Indonesian Adults Associated with Obesity and Type 2 Diabetes: A Cross-Sectional Study in an Asian City, Yogyakarta. *Microorganisms* 9:897
43. Evangelakos I, Heeren J, Verkade E, Kuipers F (2021) Role of bile acids in inflammatory liver diseases. *Semin Immunopathol* 43:577-590
44. Xue R, Su L, Lai S, Wang Y, Zhao D, Fan J, Chen W, Hylemon PB, Zhou H (2021) Bile Acid Receptors and the Gut-Liver Axis in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Cells* 10:2806
45. Grzych G, Chávez-Talavera O, Descat A, Thuillier D, Verrijken A, Kouach M, Legry V, Verkindt H, Raverdy V, Legendre B, Caiazzo R, Van Gaal L, Goossens JF, Paumelle R, Francque S, Pattou F, Haas JT, Tailleux A, Staels B (2021) NASH-related increases in plasma bile acid levels depend on insulin resistance. *JHEP Rep* 3:100222
46. Mouzaki M, Wang AY, Bandsma R, Comelli EM, Arendt BM, Zhang L, Fung S, Fischer SE, McGilvray IG, Allard JP (2016) Bile Acids and Dysbiosis in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *PLoS One* 11:e0151829
47. Keitel V, Donner M, Winandy S, Kubitz R, Häussinger D (2008) Expression and function of the bile acid receptor TGR5 in Kupffer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 372:78-84
48. Arab JP, Karpen SJ, Dawson PA, Arrese M, Trauner M (2017) Bile acids and nonalcoholic fatty liver disease: Molecular insights and therapeutic perspectives. *Hepatology* 65:350-362
49. Di Ciaula A, Wang DQ, Molina-Molina E, Lunardi Baccetto R, Calamita G, Palmieri VO, Portincasa P (2017) Bile Acids and Cancer: Direct and Environmental-Dependent Effects. *Ann Hepatol* 16:s87-s105
50. Zaborska KE, Cummings BP (2018) Rethinking Bile Acid Metabolism and Signaling for Type 2 Diabetes Treatment. *Curr Diab Rep* 18:109



# The role of bile acids in the therapy of selected diseases

Aleksandra Boguszewska, Anna Kiersztan 

Department of Metabolic Regulation, Institute of Biochemistry, Faculty of Biology, University of Warsaw

corresponding author: a.kiersztan@uw.edu.pl

**Keywords:** bile acids, farnesoid X receptor, TGR5 receptor, inflammatory bowel diseases, metabolic diseases, regulation of glucose and lipid metabolism

## ABSTRACT

The main function of bile acids (BA) is participation in the emulsification of dietary fats. Recent studies indicate that BA may also act as signaling molecules. Most of the regulatory activities of BA are mediated by their receptors, the most important of which are the farnesoid X receptor (FXR) and the G protein-coupled receptor -TGR5, found in large amounts in the intestine, liver, adipose tissue and other tissues of the body. The article describes how BA regulate their own synthesis, glucose and lipid metabolism, as well as their impact on the intestinal microbiota, gastrointestinal motility and food intake. The current knowledge regarding the effect of BA on various diseases and the possibilities of their use in therapy, including: inflammatory bowel disease, liver disease, type 2 diabetes and obesity, was also summarized.

