УДК

АПЕЛІН ТА ФАКТОР НЕКРОЗУ ПУХЛИН-α У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ПАНКРЕАТИТ ТА ПРИ ЙОГО ПОЄДНАННІ З ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ ТИПУ 2

Л.В. Журавльова, Ю.О. Шеховцова
Харківський національний медичний університет

Резюме. *Ціль дослідження* – вивчення взаємозв'язків між концентраціями апеліну, фактору некрозу пухлин-α (ФНП-α) у плазмі крові та рівнями фекальної панкреатичної еластази-1 у хворих на хронічний панкреатит (ХП), цукровий (ЦД) діабет типу 2 та при їх поєднанні. *Матеріали та методи.* Було обстежено 49 хворих (22 чоловіка та 27 жінок) середнім віком 56,77 ± 1,79 років з ХП, ЦД типу 2 та при їх поєднанні. Контрольну групу склали 20 практично здорових осіб. *Результати та обговорення.* Встановлені достовірні кореляційні зв'язки між рівнем апеліну та ФНП-α та негативні зв'язки між апеліном та фекальною панкреатичною еластазою-1, а також підвищення вмісту цих адипоцитокінів поряд з погіршенням екзокринної функції підшлункової залози (ПЗ). *Висновки.* Підвищення рівнів апеліну та ФНП-α в крові, їхня пряма взаємодія, а також зв'язок цих адипоцитокінів з показниками функціонального стану ПЗ можуть впливати на прогресування патологічного процесу в ПЗ, регулюючи метаболічні порушення в ній у хворих на ХП у поєднанні з ЦД типу 2.

Ключові слова: хронічний панкреатит, цукровий діабет типу 2, апелін, ФНП-α, еластаза-1.

ХП являє собою групу хронічних захворювань ПЗ, переважно запального характеру, з фазово-прогресуючими вогнещевими, сегментарними чи дифузними дегенеративно-деструктивними змінами, атрофією залозистих елементів (панкреацитів) і заміщенням їх сполучною тканиною; змінами у протоковій системі ПЗ з утворенням кіст і конкрементів, з різним ступенем порушення екзо- та ендокринної функції ПЗ [3]. Недостатність ендокринної функції ПЗ клінічно проявляється в маніфестації метаболічних порушень. Зовнішньосекреторна недостатність ПЗ (ЗНПЗ) (особливо легкого та середнього ступеня тяжкості) спостерігається при різних захворюваннях, у тому числі при ХП, ЦД, остеопорозі, після операцій на шлунку та ПЗ, при ожирінні та інших патологічних станах [1].

Патоморфологічною особливістю ХП є запальна клітинна інфільтрація та розвиток фіброзу ПЗ. Підвищена кількість нейтрофілів і макрофагів у ПЗ є результатом запалення паренхіми ПЗ, ураження ацинарних клітин та фіброзу [5, 7, 8]. Ступінь ЗНПЗ, яка визначається за рівнем еластази-1, опосередковано вказує на поширеність перебудови паренхіми ПЗ.

Поряд з відомими патогенетичними аспектами розвитку ХП, існує ряд факторів, які вивчені недостатньо, серед них – гормони жирової тканини (адипоцитокіни). Вплив окремих адипоцитокінів на функціональний стан ПЗ, особливо у поєднанні з ЦД типу 2, активно вивчаються в останні роки [6].

Апелін та ФНП-α – адипоцитокіни, відомі як своєю здатністю порушувати обмінні процеси, так і своїми властивостями безпосереднього впливу на функціональний стан ПЗ шляхом здійснення про- та протизапальної та про- та протифіброгенної дій у клітинах ПЗ.

При ХП в ацинарних клітинах відбувається активація продукції ФНП-α, що опосередковано стимулює підвищення плазмових рівнів апеліну. Панкреатичний комплекс апелін-ФНП-α функціонально регулює процеси ремоделювання ПЗ при ХП. Вони можуть бути поєднуючою ланкою між метаболічними порушеннями у організмі та розвитком патологічних змін у ПЗ у хворих на ХП у поєднанні з ЦД типу 2.

Тому перспективним напрямком є ретельне дослідження участі адипоцитокінів у патогенезі ХП, особливо при поєднанні з ЦД типу 2. Своєчасне виявлення вищезазначених порушень сприяє поліпшенню результатів діагностики даної патології ПЗ у хворих як ізольованим ХП, так і з коморбідною патологією.

Ціль дослідження – вивчення взаємозв’язків між концентраціями апеліну, ФНП-α у плазмі крові та рівнями фекальної панкреатичної еластази-1 у хворих на ХП, ЦД типу 2 та при їх поєднанні.

Матеріали і методи

В умовах гастроентерологічного і ендокринологічного відділень КЗОЗ «Обласна клінічна лікарня - центр екстреної медичної допомоги та медицини катастроф» міста Харкова було обстежено 49 хворих (22 чоловіка та 27 жінок) середнім віком 56,77 ± 1,79 років. Хворі були поділені на 3 групи: 14 хворих на ХП склали 1 групу; 15 хворих з ЦД типу 2 - 2 групу і 20 хворих з поєднанням цих нозологій склали 3 групу. Всі досліджувані пацієнти мали нормальну масу тіла. Контрольну групу склали 20 практично здорових осіб, що були репрезентативні за віком і статтю.

Верифікація діагнозу ХП проводилась згідно класифікації МКХ-10, 1998 (К86 – Хронічний панкреатит), уніфікованою клініко-статистичною класифікацією хвороб

органів травлення (Київ, 2004); верифікація ЦД типу 2 - згідно класифікації порушень глікемії Всесвітньої організації охорони здоров'я (1999). У всіх досліджуваних хворих ЦД типу 2 був субкомпенсований. Критеріями виключення стали пацієнти, у яких причиною розвитку патології ПЗ були: хронічний калькулезний холецистит, аутоімунний панкреатит, клінічно значуще вживання алкоголю (більше 20 г на добу), токсичне ураження ПЗ.

Всім пацієнтам було проведено вимірювання маси тіла, росту. Оцінку трофологічного статусу проводили за рекомендаціями ВООЗ (1997) за індексом маси тіла (ІМТ). ІМТ визначався за формулою: ІМТ= вага (кг)/рост^2(м) та вимірювався в кг/м^2 . При ІМТ 18,5-24,9 кг/м^2 масу тела оцінювали як нормальну.

Ступень виразності ЗНПЗ визначалась за рівнем фекальної панкреатичної еластази-1 за допомогою імуноферментного методу (набір ScheBo-Tech, Gissen, Germany).

Рівень плазмового апеліну та ФНП-α визначалися імуноферментним методом за допомогою набору реактивів «Raybiotech» (США) та «Вектор-бест» (Росія), відповідно.

Статистичну обробку результатів досліджень здійснювали за допомогою дисперсійного та кореляційного аналізів з використанням пакетів програм Statistica версія 6.0.

Для порівняння середніх у декількох групах використовувався дисперсійний аналіз [2], який є найбільш загальним методом порівняння середніх, оскільки у порівнянні з іншими методами є найбільш ефективним і для малих вибірок більш інформативним.

Використання дисперсійного аналізу передбачає нормальність розподілу вибірок та однорідність їх дисперсій в кожній групі порівняння. Нормальність розподілу вибірок, які вивчаються, перевірялась за допомогою критерію Шапіро-Уилкса [2], а однорідність дисперсій – критерієм Левена [2]. Однак остання умова не була виконана, приймаючи до уваги робастість дисперсійного аналізу, а саме, можливість його використання навіть при де якому порушенні початкових передбачень, були проведені оцінки вибіркових середніх трьох вибірок. При цьому міжгрупові порівняння виконувались з використанням критерію Тьюкі для нерівних обсягів вибірок.

Оскільки умова однорідності дисперсій у групах порівняння не виконувалось, для перевірки отриманих результатів використовувався і непараметричний критерій Краскела-Уолліса [2], коли порівняння середніх в декількох групах проводилось при порівнянні рангів для всіх груп. Обидва підходи показали повний збіг.

Порівняння частот наявності чоловіків та жінок у досліджуваних групах виконувалось за допомогою біномінального критерію [4] та показало повну однорідність груп за статтю.

Результати та обговорення

Згідно з даними, наведеними в табл.1, середній вік пацієнтів з ХП склав (50,36 ± 3,53) років, з ЦД типу 2– (55,07 ± 2,89) років, з поєднанним перебігом ХП та ЦД типу 2 – (55,25 ± 1,33) років. Середня тривалість ХП у хворих 1-ої групи склала (9,5 ± 1,79) років, у хворих 3-ої групи – (5,45 ± 0,74) років. Середня тривалість ЦД типу 2 у хворих 2-ої групи склала (12,13 ± 1,54) років, у хворих 3-ої групи – (7,85 ± 0,92) років.

Показник	**Група 1: хворі на ХП n= 14**	**Група 2: хворі на ЦД n= 15**	**Група 3: хворі на ХП + ЦД n= 20**	**Контрольна група n= 20**
Вік, років	50,36 ± 3,53	55,07 ± 2,89	55,25 ± 1,34	49,55 ± 0,73
Стаж ЦД, років	-	12,13 ± 1,54	7,85 ± 0,92	-
Стаж ХП, років	9,5 ± 1,79	-	5,45 ± 0,74	-
Стать (ч/ж)	9/5	7/8	6/14	10/10

Таблиця 1. **Антропометричні показники у досліджуваних хворих (M ± m)**

Серед хворих з ізольованим ЦД типу 2 та поєднаним перебігом ХП та ЦД типу 2 переважали особи жіночої статі, а при ізольованому перебігу ХП частка жінок була значно менша. ЦД типу 2 підсилював «панкреатотоксичність» жіночої статі та комплексу гормонально-метаболічних чинників, що безпосередньо спричинювали більшу поширеність ХП у осіб жіночої статі (табл.1).

Відмічено достовірне ($p<0,05$) зниження рівня еластази-1 у хворих з ХП та поєднаним перебігом ХП та ЦД типу 2 у порівнянні з групою контролю з найменшими показниками в групі з поєднаним перебігом ХП та ЦД типу 2, що пов'язане з з структурно-функціональними змінами ПЗ, а саме наявністю ЗНПЗ, яка є наслідком процесів ремоделювання ПЗ, а саме запальних та фібротичних змін тканини ПЗ (табл. 2).

Показник	**Група 1: хворі на ХП n= 14**	**Група 2: хворі на ЦД n= 15**	**Група 3: хворі на ХП + ЦД n= 20**	**Контрольна група n= 20**
Апелін, пг/мл	254,5±18,7*#	262,8±8,3*	310,2±13,2*#	171±8,2
Еластаза-1, мкг/г	155,5±19,7*	190,9±3,3#	141,3±5,9*#	204,9±1
ФНП-α, пкг/мл	47,4±6*	38,6±3,8*	54,4±5,1*	17,2±1,2

Примітка. * Різниця з групою контролю статистично значуща ($p<0,05$).
Різниця між досліджуваними групами статистично значуща ($p<0,05$).

Таблиця 2. **Вміст апеліну, еластази-1 та ТНФ-α у досліджуваних хворих (M ± m)**

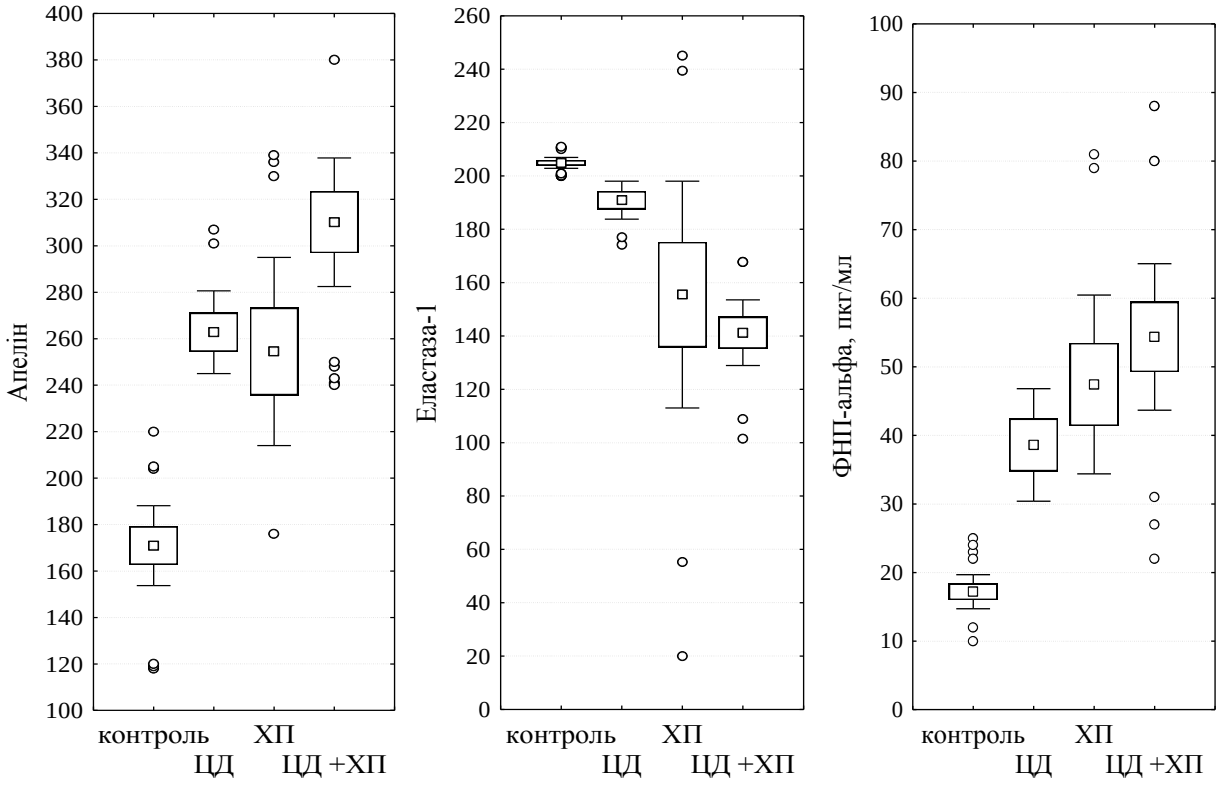
ЗНПЗ за показниками фекальної панкреатичної еластази-1 ЗНПЗ виявлялась у 8 (56%) хворих на ХП, серед яких переважали важка та середньоважка ступені; у 13 (87%)

хворих на ЦД, серед яких переважала легка ступень; у 19 (95%) хворих з поєднаним перебігом ХП та ЦД, серед яких переважали середньоважка та легка ступені ЗНПЗ (табл. 3).

Ступень важкості ЗНПЗ	**Група 1: хворі на ХП n= 14**	**Група 2: хворі на ЦД2 n= 15**	**Група 3: хворі на ХП + ЦД2 n= 20**	**Контрольна група n= 20**
Важка ЗНПЗ Еластаза-1 < 100 мкг/г	3 (21%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Середньоважка ЗНПЗ Еластаза-1 - 100-150 мкг/г	3 (21%)	0 (0%)	15 (75%)	0 (0%)
Легка ЗНПЗ Еластаза-1 – 150-200 мкг/г	2 (14%)	13 (87%)	4 (20%)	0 (0%)
Нормальна функція Еластаза-1 > 200 мкг/г	6 (44%)	2 (13%)	1 (5%)	20 (100%)

Таблиця 3**. Зовнішньосекреторна функція ПЗ у досліджуваних групах**

Відмічено достовірне ($p<0,05$) підвищення рівня апеліну у всіх досліджуваних хворих у порівнянні з групою контролю з найбільшими показниками в 3 групі хворих, які значно ($p<0,05$) відрізнялися від показників адипоцитокінів у 1 та 2 груп (табл. 2). Вірогідною була різниця між пацієнтами 1-ї та 3-ї груп (табл. 2).



Примітка. □ - середнє; ┌─┐ - середнє ± ст. помилка; ─┼─ - середнє ± 0,95 дов.інтервал; ○ - викіди.

Рисунок 1. **Досліджувані показники у порівнянні в усіх групах**

Рівень ФНП-α у пацієнтів всіх досліджуваних груп вірогідно перевищував контрольні значення. Підвищений рівень ФНП-α у хворих з поєднаним перебігом ЦД типу

2 та ХП достовірно перевищував цей показник у хворих з ізольованими ХП та ЦД типу 2 (рис.1).

Наявність ізольованого ХП супроводжувалась різкою активацією адипоцитокінів апеліну та ФНП-α, що пов`язано зі стимуляцією синтезу білків гострої фази, синтезу колагену та розвитку запального процесу у ПЗ. Але у хворих на ХП та ЦД типу 2 рівень даного показника був достовірно вищий (рис.1).

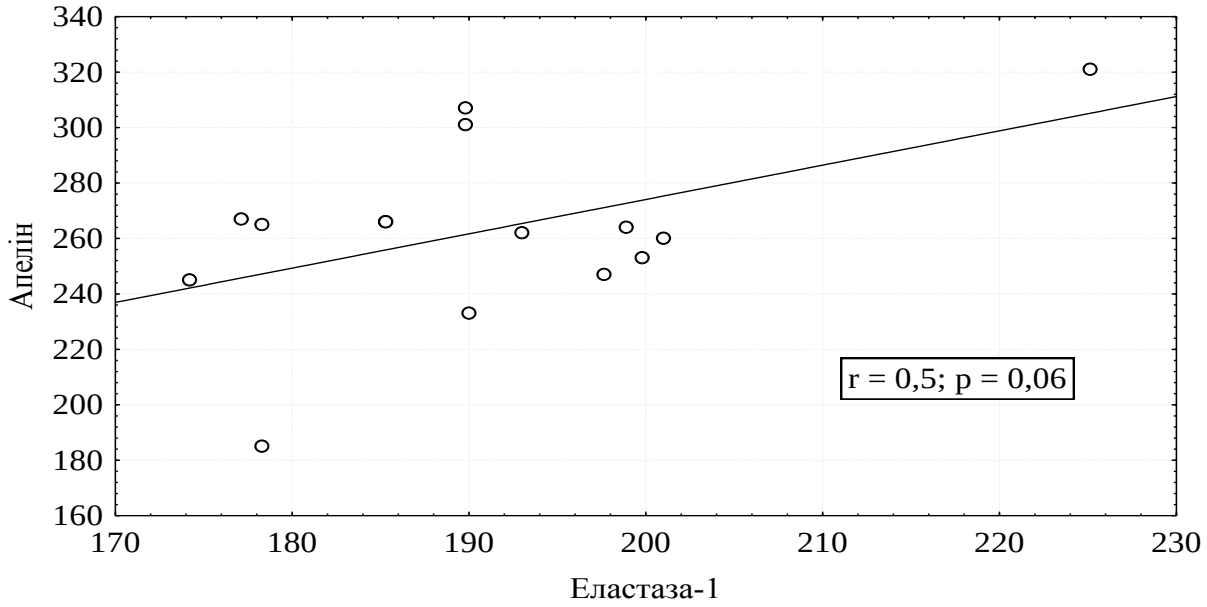


Рисунок 2**. Діаграма розсіювання апеліну та еластази-1 у хворих на ЦД типу 2**

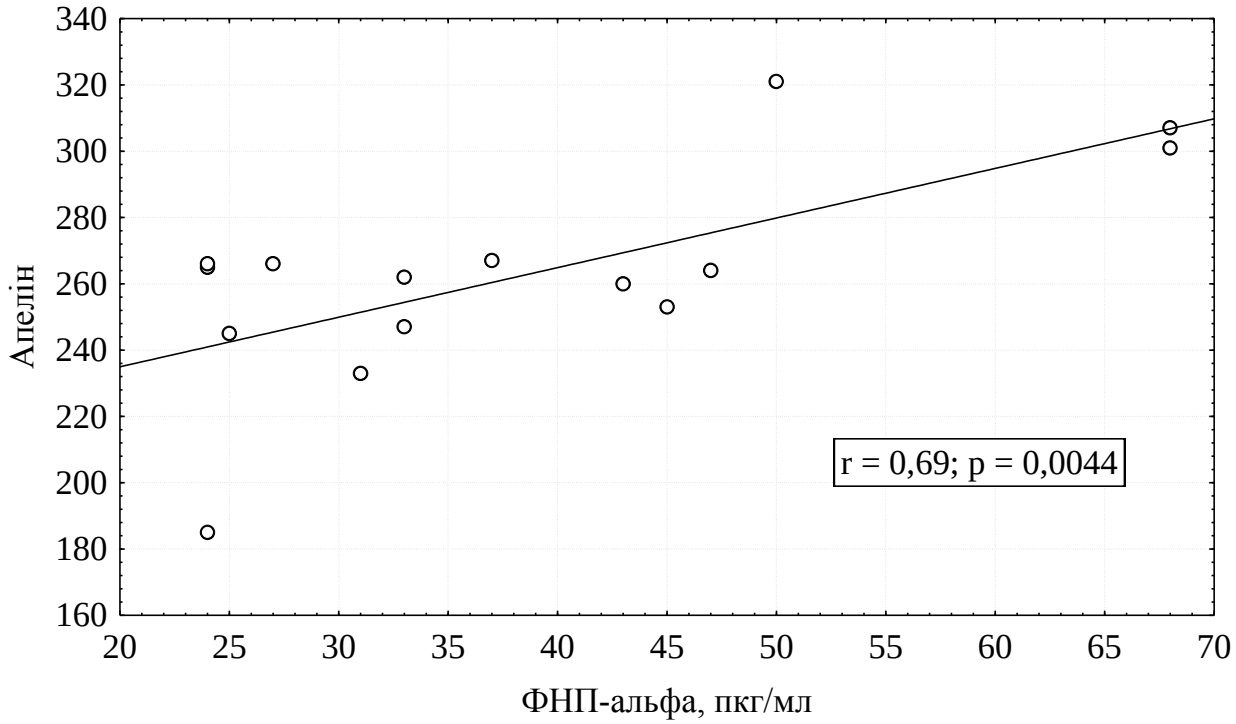


Рисунок 3**. Діаграма розсіювання апеліну та ФНП-α у хворих на ЦД типу 2**

Проведений кореляційний аналіз показав наявність достовірного кореляційного зв`язку між апеліном, еластазою-1 та ФНП-α у всіх досліджуваних групах. Виявлено наявність кореляційного зв`язку між апеліном та еластазою-1 (r = 0,79, p = 0,0007 - 1 група; r = 0,5, p = 0,06 - 2 група; r = 0,63, p = 0,0027 - 3 група) (рис. 2, 4, 6).

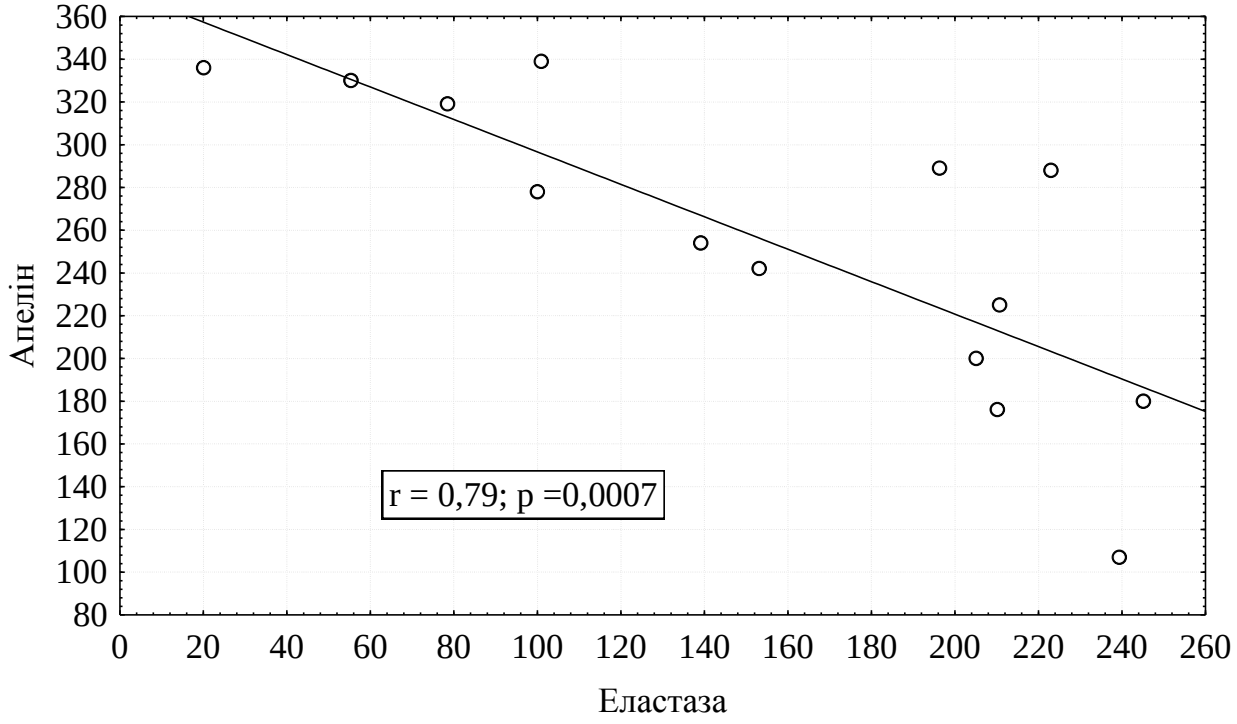


Рисунок 4**. Діаграма розсіювання апеліну та еластази-1 у хворих на ХП.**

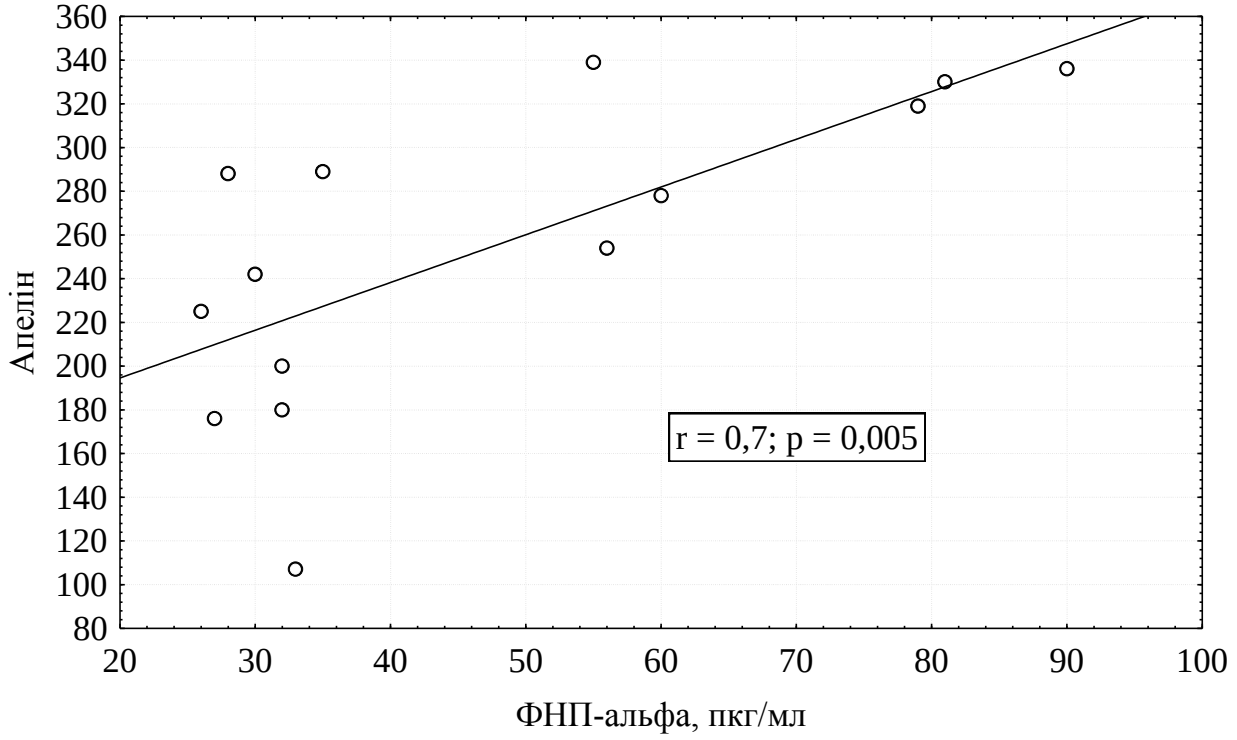


Рисунок 5**. Діаграма розсіювання апеліну та ФНП-α у хворих на ХП.**

Виявлено наявність кореляційного зв`язку між апеліном та ФНП-α (r = 0,69, p = 0,004 - 1 група; r = 0,7, p = 0,005 - 2 група; r = 0,59, p = 0,006 - 3 група) (рис. 3, 5, 7).

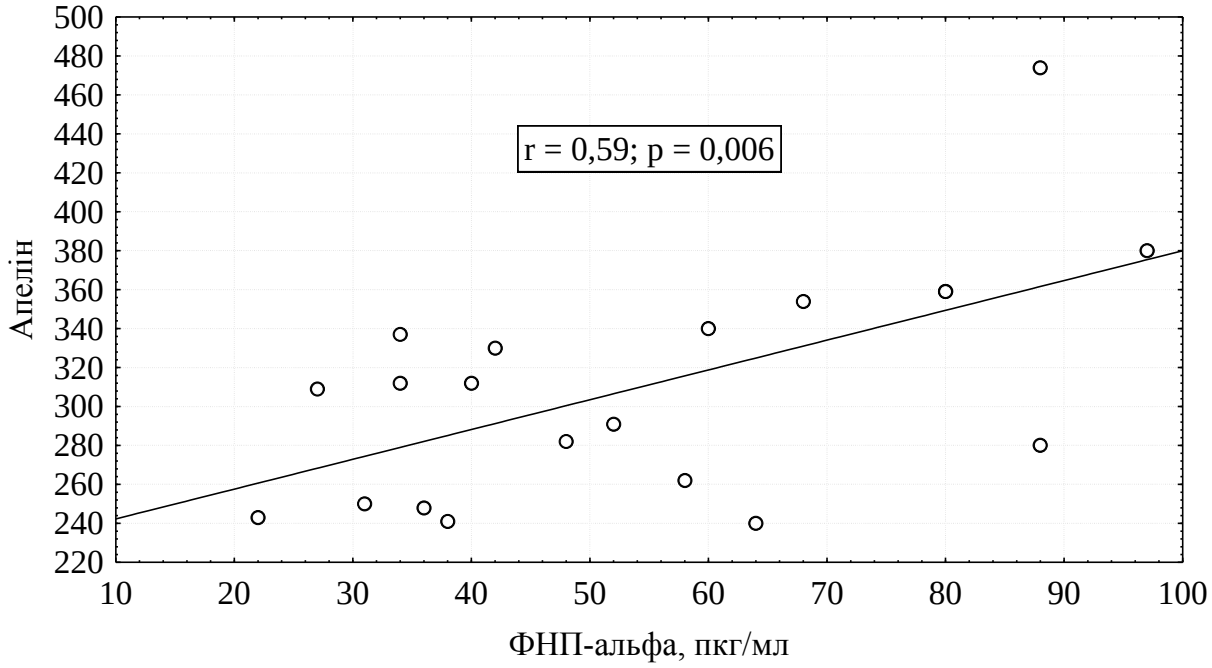


Рисунок 6. **Діаграма розсіювання апеліну та еластази-1 у хворих на ХП та ЦД типу 2.**

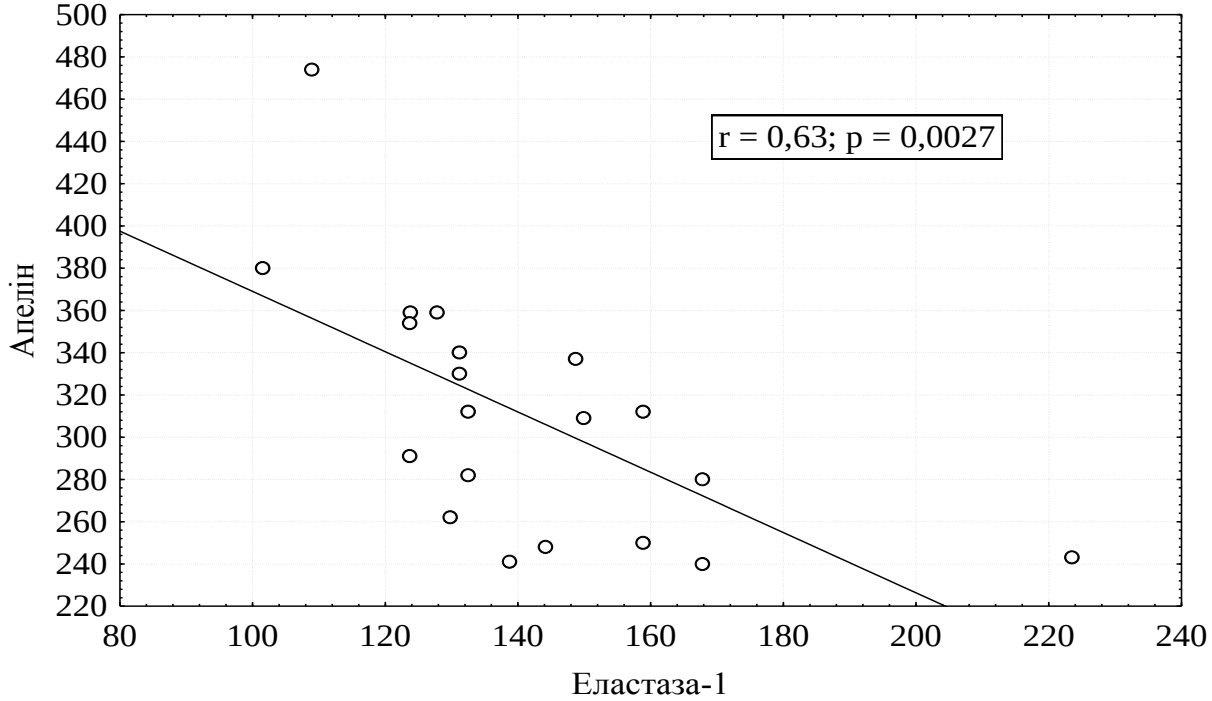


Рисунок 7. **Діаграма розсіювання апеліну та еластази-1 у хворих на ХП та ЦД типу 2.**

Фекальна панкреатична еластаза-1 являє собою неінвазивний маркер діагностики ХП, який оцінює ступінь ЗНПЗ, а опосередковано характеризує процеси ремоделювання ПЗ, а саме фіброзну та жирову перебудову паренхими ПЗ. Виявлені негативні кореляційні взаємозв`язки між апеліном та еластазой-1 у всіх досліджуваних групах свідчать о здібності даного адипоцитокіну приймати участь у процесах ремоделювання ПЗ.

Наявність ХП супроводжується різкою активацією адипоцитокінів апеліну та ФНП-α, що пов`язано зі стимуляцією синтезу білків гострої фази, синтезу колагену та розвитку запального процесу у ПЗ.

ФНП-α викликає формування феномену інсулінорезистентності та абдомінального розподілу жирової клітковини як одного з маркерів синдрому інсулінорезистентності, що підтверджується сильним кореляційним зв'язком у групі ізольованого ЦД типу 2. Пряма асоціація рівня ФНП-α з рівнем апеліну вказує на метаболічну обумовленість гіперреактивності цитокінової ланки імунорегуляції при цих захворюваннях.

Ймовірно, у хворих на ЦД типу 2 додатковим показником розвитку структурно-функціональних змін ПЖ є гіперапелінемія і підвищення рівня ФНП-α. Високодостовірні кореляційні зв’язки між апеліном, ФНП-α та еластазою-1 в усіх групах хворих можуть свідчити про взаємопотенціюючу роль цих чинників у розвитку ХП.

Висновки.

1. У хворих з ізольованим ХП виявляється помірна гіперапелінемія та виражено підвищені рівні ФНП-α.

2. У хворих з ізольованим ЦД типу 2 виявляється виражена гіперапелінемія, тоді як рівні ФНП-α підвищувалися помірно.

3. У хворих з поєднаним перебігом ХП та ЦД типу 2 виявлені максимально високі гіперапелінемія та рівні ФНП-α, поряд з найнижчими показниками ЗНПЗ.

Перспективи подальших досліджень. Перспективним напрямком є дослідження участі гормонів жирової тканини з різним спектром дії в патогенезі ХП, зокрема при поєднанні з ЦД типу 2. Вивчення динаміки змін цих показників дасть змогу оптимізувати відповідні діагностичні стратегії.

Список літератури

1. Губергриц Н.Б. Метаболическая панкреатология / Н.Б. Губергриц, А.Н. Казюлин.- Донецк: Лебедь, 2011.- 464 с.
2. Кобзарь А.И. Прикладная математическая статистика для инженеров и научных работников — 2 издание исправленное.- М.: ФИЗМАТЛИТ.-2012.- 816 с.
3. Минушкин О.Н. Хронический панкреатит: некоторые аспекты патогенеза, диагностики и лечения / О.Н. Минушкин // Consilium Medicum.-2002.-Т. 4, №1.- С.23-26.

4. Рунион Р. Справочник по непараметрической статистике: современный подход / Пер. С англ. Е.З. Демиденко; Предисл. Ю.Н. Тюрина.- М. : Финансы и статистика, 1982.- 198 с.
5. Braganza J.M. Chronic pancreatitis / J.M. Braganza, S.H. Lee, R.F. McCloy, M.J. McMahon // Lancet.-2011.-Vol. 377.- P. 1184-1197.
6. Han S. Pancreatitis activates pancreatic apelin-APJ axis in mice / S. Han, E.W. Englander, G.A. Gomez, J.F. Aronson et all./ American Journal of Physiology – Gastrointestinal and Liver Physiology.-2013.- Vol. 305.- G139-G150.
7. Thrower E.C. Molecular and cellular mechanisms of pancreatic injury / E.C. Thrower, F.S. Gorelick, S.Z. Husain // Curr. Opin. Gastroenterol.-2010.-Vol. 26.-P. 484-489.
8. Witt H. Chronic pancreatitis: challenges and advances in pathogenesis, genetics, diagnosis and therapy / H. Witt, M.V. Apte, V. Keim, J.S. Wilson // Gastroenterology.- 2007.- Vol. 132.- P. 1557-1573.

Апелин и фактор некроза опухоли-α у больных с хроническим панкреатитом и при его сочетании с сахарным диабетом типа 2.

Л.В. Журавлева, Ю.А. Шеховцова

Резюме. *Цель исследования* - изучение взаимосвязей между концентрациями апелина, фактора некроза опухолей-α (ФНО-α) в плазме крови и уровнями фекальной панкреатической эластазы-1 у больных хроническим панкреатитом (ХП), сахарным (СД) диабетом типа 2 и при их сочетании. *Материалы и методы.* Было обследовано 49 больных (22 мужчины и 27 женщин) со средним возрастом 56,77 ± 1,79 лет с ХП, СД типа 2 и при их сочетании. Контрольную группу составили 20 практически здоровых лиц. *Результаты и обсуждение.* Установлены достоверные корреляционные связи между уровнями апелина и ФНО-α и отрицательные связи между апелином и фекальной панкреатической эластазой-1, а также повышение содержания этих адипоцитокинов наряду с ухудшением экзокринной функции поджелудочной железы (ПЖ). *Выводы.* Повышение уровней апелина и ФНО-α в крови, их прямое взаимодействие, а также связь этих адипоцитокинов с показателями функционального состояния ПЖ могут влиять на прогрессирование патологического процесса в ПЖ, регулируя метаболические нарушения в ней у больных ХП в сочетании с СД типа 2.

Ключевые слова*:* хронический панкреатит, сахарный диабет типа 2, апелин, ФНО-α, эластаза-1.

Apelin and tumor necrosis factor-α in patients with chronic pancreatitis and combined course of chronic pancreatitis with type 2 diabetes mellitus

L.V. Zhuravlyova, Y.O. Shekhovtsova

Resume. *Purpose* - to study the relationship between the plasma concentrations of apelin, tumor necrosis factor-α (TNF-α) and levels of fecal pancreatic elastase-1 in patients with chronic pancreatitis (CP), type 2 diabetes mellitus (DM) and their combination. *Materials and methods.* The investigation involved 49 patients (22 men and 27 women) mean age 56,77 ± 1,79 years with CP, type 2 DM and their combination. The control group included of 20 healthy individuals. *Results and discussion.* Significant correlations between the levels of apelin and TNF-α and negative links between apelin and fecal pancreatic elastase-1 were founded. The increased levels of these adipocytokines, along with the deterioration of the exocrine function of the pancreas were founded. *Conclusions.* Increased blood levels of apelin and TNF-α, their direct interaction, and the relationship of these adipocytokines with indicators of the functional state of the pancreas may affect the progression of the pathological process in the pancreas, regulating metabolic disorders in it in patients with CP and type 2 DM.

Key words: chronic pancreatitis, type 2 diabetes mellitus, apelin, TNF-α, elastase-1