



УДК 616.36-004.4+616.37-002+616-072.5+616-079.1



МІЩУК В.Г., СКОРОПАД К.М.  
Івано-Франківський національний медичний університет

## РІВЕНЬ ФОСФОЛІПАЗИ А2 ТИПУ ІІА ТА КОЛАГЕНУ ІV У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ АЛКОГОЛЬНИЙ ПАНКРЕАТИТ У ПОЄДНАННІ З ЦИРОЗОМ ПЕЧІНКИ КЛАСУ А, В ЗА ЧАЙЛЬД — П'Ю

**Резюме.** У 49 хворих, у 20 з яких діагностовано поєднане ураження підшлункової залози (хронічний панкреатит у стадії загострення) та печінки (цироз печінки класу А, В за Чайльд — П'ю) алкогольної етіології, у 12 — хронічний панкреатит у стадії загострення без супутньої патології та в 17 — алкогольний цироз печінки аналогічної стадії без втягнення в процес підшлункової залози, проведено визначення концентрації фосфоліпази А2 типу ІІА та рівня колагену ІV у сироватці крові. Найбільш високу концентрацію фосфоліпази А2 типу ІІА виявлено у хворих із поєднаним алкогольним ураженням підшлункової залози та печінки ( $568,57 \pm 30,34$  пг/мл), що в 1,58 раза перевищувала її рівень в обстежених з ізольованим алкогольним ураженням підшлункової залози ( $P < 0,05$ ). У хворих на алкогольний цироз печінки класу А, В за Чайльд — П'ю концентрація фосфоліпази А2 типу ІІА становила ( $171,35 \pm 22,46$ ) пг/мл (у здорових — ( $123,00 \pm 10,12$ ) пг/мл). Відповідно до давності поєданого ураження підшлункової залози та печінки (понад 5 років) рівень фосфоліпази А2 типу ІІА знижувався, тоді як концентрація колагену ІV зростає у 2,5 раза порівняно з таким показником у хворих при давності захворювання до одного року, а між ними був встановлений обернений кореляційний зв'язок середньої сили.

**Ключові слова:** хронічний алкогольний панкреатит, алкогольний цироз печінки, фосфоліпаза А2 типу ІІА, колаген ІV типу.

Зловживання алкоголем є одним із провідних етіологічних чинників розвитку гострого та хронічного панкреатиту, а в промислово розвинутих країнах він як причина цих хвороб спостерігається в 38–94 % випадків [2, 15, 21]. У клінічній картині алкогольної інтоксикації значну роль відіграють системні поліорганні ураження, особливо підшлункової залози (ПЗ) та печінки, що можуть проявлятися як гострими, так і хронічними станами [8]. Оскільки на початкових стадіях алкогольний панкреатит перебігає за типом гострих атак, нерідко при цьому значно порушується функціональний стан печінки з розвитком печінкової недостатності. З іншого боку, між дозою алкоголю та розвитком панкреатиту чи патології печінки не існує прямої залежності, та й чутливість різних органів до нього

теж відрізняється, що призводить як до самостійного, так і спільного їх ураження. До того ж хронічний алкогольний панкреатит може перебігати як за типом первинного гострого з подальшою хронізацією процесу, так і за типом рецидивуючих гострих атак, особливо на початкових стадіях. При цьому стартовий запальний процес розвивається в паренхімі залози з активацією ферментів в ацинарних клітинах, появою вогнищ запалення з їх нейтрофільною інфільтрацією й утворенням вільних радикалів, активацією пероксидації ліпідів, білків клітинних струк-

© Міщук В.Г., Скоропад К.М., 2015

© «Гастроентерологія», 2015

© Заславський О.Ю., 2015

тур, лізосомальних ферментів та подальшою деструкцією тканини ПЗ [13]. Розвиток оксидантного стресу також призводить до пошкодження інших органів, зокрема печінки з подальшим втягненням її в патологічний процес. Під дією кінцевих продуктів перекисного окислення ліпідів активується фосфоліпаза А2, субстратом якої є фосфоліпіди клітинних мембран [4]. Після гідролізу і відщеплення від фосфоліпідів вільних жирних кислот утворюються медіатори широкого спектра клітинних процесів прозапального характеру. Утворення продуктів гідролізу фосфоліпідів за участю фосфоліпази А2 сприяє тканинному запаленню та порушенню гемостазу [1]. Фосфоліпаза А2 за результатами гістохімічних досліджень виявляється лише в окремих ацинарних клітинах незмінної підшлункової залози, а при хронічному панкреатиті концентрація даного ензиму в цих же клітинах в 5,7 раза вища [18]. Активація ліполітичних ферментів, зокрема фосфоліпази А2, відіграє провідну роль у патогенезі панкреатиту, а при його гострій формі чи загостренні хронічного її каталітична активність у сироватці крові корелює з тяжкістю захворювання [20]. При хронічному рецидивуючому панкреатиті активність даного ферменту в сироватці крові залежно від методів визначення (біохімічний чи радіоімунологічний) теж перевищувала показник у здорових в 1,8–3,1 раза [3]. Окрім того, синтезована в панкреатичних ацинарних клітинах фосфоліпаза А2 у вигляді неактивної форми при потрапленні у дванадцятипалу кишку активується трипсином для виконання своєї основної функції — розщеплення ліпідів, що надходять з їжею [5]. Фосфоліпаза А2 також відіграє істотну роль у патогенезі панкреатиту за рахунок тропності до ліпідів клітинних мембран і здатності викликати їх пошкодження. Відщеплюючи жирну кислоту від лецитину, фосфоліпаза А2 сприяє утворенню лізолецитину, що при потрапленні в головну панкреатичну протоку викликає набряк її слизової, а через декілька хвилин і некроз паренхіми ПЗ. Установлено, що підвищений рівень фосфоліпази А2 утримується в крові триваліше, ніж концентрація амілази, ізоамілази, трипсину, а гіперфосфоліпаземія корелює з тяжкістю загострення хронічного панкреатиту. Фосфоліпаза А2 також стає активною в результаті фосфорилування міогенактивованими протеїніназами, ендотоксинами, кількість яких в організмі зростає при цирозі печінки (ЦП), а фосфатидилхолін має властивості хемоатрактанту для циркулюючих моноцитів та здатний лізувати мембрани клітин ендотелію, ініціюючи їх смерть за типом апоптозу [9]. Даний ензим чинить і системну дію, впливаючи на функцію легень, нирок, печінки [10]. Зокрема, у хворих із хронічними захворюваннями печінки рівень сироваткової фосфоліпази А2 зростає паралельно з тяжкістю захворювання та супроводжується підвищенням гострофазних компонентів запалення (С-реактивний протеїн), активності основної фосфатази, концентрації сечовини в крові на фоні зниження синтетичної функції печінки [12]. Тоді ж S. Vannikuppe S. Vishwanath et al. [14], досліджуючи рівень різних типів фосфоліпази А2 (I, II типи) у тканинах нирки та печінки тварин із модельованим біліарним цирозом, установили підвищення її рівня II типу, тоді фосфоліпаза А2 I типу в

цих органах не виявлялася, а концентрація фосфоліпази А2 IV типу була дуже низькою. Призначення L-орнітин-L-аспартату при гострому алкогольному панкреатиті з печінковою недостатністю поряд із покращенням функціонального стану печінки сприяло зниженню рівня фосфоліпази А2 [6].

Виходячи з викладеного, метою дослідження було вивчити зміни рівня фосфоліпази А2 типу ІА при поєднанні алкогольного панкреатиту та цирозу печінки класу А, В за Чайльд — П'ю і її зв'язок з окремими маркерами фіброзу.

## Матеріал і методи

Обстежені 49 хворих, з яких у 20 діагностовано поєднане ураження підшлункової залози (хронічний алкогольний панкреатит (ХАП) у стадії загострення) та печінки (цироз печінки у фазі компенсації та субкомпенсації), у 12 — ізольований ХАП та в 17 — алкогольний цироз без втягнення в процес ПЗ. Діагноз ХАП установлювали згідно з критеріями, рекомендованими наказом МОЗ України № 638 від 10.09.2014 р. «Про затвердження та впровадження медико-технологічних документів зі стандартизації медичної допомоги при хронічному панкреатиті», а ЦП — згідно з наказом МОЗ України № 826 від 6 листопада 2014 року «Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої) медичної допомоги хворим на алкогольний гепатит». Серед обстежених переважали особи чоловічої статі, а середній вік хворих становив  $(42,5 \pm 2,3)$  року. Алкогольну етіологію ураження ПЗ та печінки підтверджували на основі анамнезу життя і захворювання, попередньої медичної документації, зокрема спостереження в лікарів-наркологів, опитувальників CAGE, MAST, шкали Le Go. Активність фосфоліпази А2 типу ІА визначали імуноферментним методом, оснований на твердофазному імуноферментному «сендвіч»-аналізі (ELISA) із використанням двох типів антитіл (sPIA2 human Type ІА) фірми Cayman Chemical. Рівень колагену ІV в сироватці крові теж визначали імуноферментним методом із використанням наборів Argutus Collagen ІV для його кількісної оцінки. Статистичну обробку отриманих результатів проводили з використанням програм Statistica 12.5 та Microsoft Excel із вирахуванням t-критерія Стьюдента, критерію Фішера, Пірсона та показника лінійної кореляції Пірсона.

## Результати та їх обговорення

Установлено, що у хворих із поєднаним алкогольним ураженням ПЗ у вигляді загострення хронічного панкреатиту на фоні цирозу печінки у фазі компенсації та субкомпенсації (клас А, В за Чайльд — П'ю) активність фосфоліпази А2 типу ІА в сироватці крові становила  $(568,57 \pm 30,34)$  пг/мл (у здорових —  $(123,00 \pm 10,12)$  пг/мл) та в 1,58 раза перевищувала її рівень в обстежених із загостренням ХАП без клінічних ознак ураження печінки  $((355,13 \pm 45,02)$  пг/мл,  $P < 0,01$ ). Більш виражене підвищення активності фосфоліпази А2 типу ІА при поєднаному алкогольному ураженні ПЗ і печінки можна пояснити розвитком морфофункціональних змін в інших органах (печінці, нирках, ле-

генах) у відповідь на системну ендотоксичну агресію даного ферменту [17]. Окрім того, алкоголь призводить до зниження стабільності мембран зимогенних гранул, що містять ферменти, шляхом впливу на них ефірів холестеролу та ефірів жирних кислот, та що накопичуються в підшлунковій залозі при хронічному алкоголізмі [19]. Також під впливом підвищеної концентрації фосфоліпази А2, окрім серозного набряку в ділянці головки і хвоста ПЗ при ХАП відмічено виражене повнокров'я печінки та нирок і дистрофічні зміни гепатоцитів, найбільш значимі під капсулою [11]. У хворих на алкогольний цироз печінки активність фосфоліпази А2 типу ІІА в сироватці крові визначалася лише в 70,59 % хворих, а її середня концентрація становила (171,50 ± 22,46) пг/мл та була у 2,1 рази нижчою, ніж при загостренні ХП, та в 3,4 рази — у випадках поєднання ХП і ЦП. Отримані дані якоюсь мірою узгоджуються з результатами досліджень Joanna Kaszeja-Wyeczomska et al. [16], що теж не у всіх випадках захворювань печінки (на прикладі неалкогольної жирової хвороби печінки) виявляли зростання рівня даного ензиму. Також, за даними цих дослідників, підвищення активності фосфоліпази А2 спостерігалось у пацієнтів чоловічої статі з гіперхолестеринемією в крові, а позитивна кореляція між цими показниками в чоловіків може сприяти прогресуванню стеатогепатиту та його трансформації в цироз печінки.

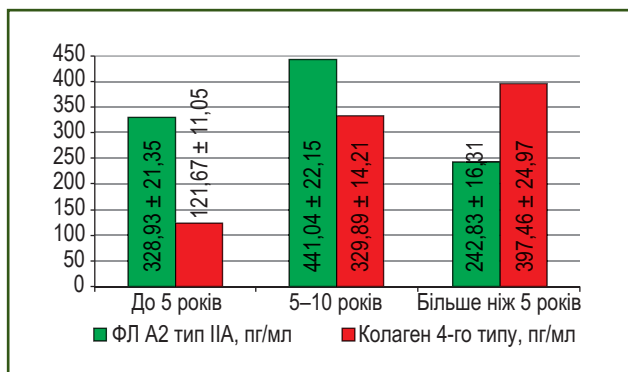
Аналіз взаємозв'язку між давністю захворювання та показниками рівня фосфоліпази А2 типу ІІА в сироватці крові (рис. 1) у хворих із поєднаним ураженням ПЗ (ХАП) та печінки (ЦП класу А, В за Чайльд — П'ю) показав, що найбільш висока активність даного ферменту виявлялась у хворих із давністю поєднаної патології до 5 років та становила (441,04 ± 22,15) пг/мл (при цьому у 8 із 12 хворих діагностовані кістозні зміни в протоковій системі підшлункової залози), тоді як при тривалості поєднаної патології більше ніж 5 років активність фосфоліпази А2 була нижчою та дорівнювала в середньому (242,83 ± 6,31) пг/мл (р < 0,01). Як вказують І.В. Маєв, Ю.А. Кучерявий [7], поряд із високою чутливістю (до 100 %) і специфічністю (до 90 %) підвищення активності фосфоліпази А2 для діагностики панкреатиту даний показник також може бути використаний для визначення прогнозу та вірогідних

ускладнень. Дослідження рівня колагену ІV у хворих із поєднаним ураженням ПЗ (ХАП) і печінки (алкогольний цироз класу А, В) свідчить про найвищий його рівень у сироватці крові при давності поєднаної патології більше 5 років — (329,89 ± 14,21) пг/мл, перевищуючи концентрацію у хворих на поєднану патологію з давністю один рік у 2,5 рази ((121,67 ± 11,05) пг/мл, Р < 0,05). Заміщення панкреоцитів сполучною тканиною з розвитком фіброзу та інтенсивність даного процесу визначають темпи прогресування хронічного панкреатиту і втягнення в патологічний процес інших органів і систем [9]. Проаналізувавши зв'язок між давністю поєднаної патології, активністю фосфоліпази А2 типу ІІА і рівнем колагену ІV, встановлено обернені кореляційні зв'язки між цими показниками (r = -0,47).

Таким чином, більш значне підвищення активності фосфоліпази А2 типу ІІА в сироватці крові може слугувати маркером одночасного алкогольного ураження підшлункової залози та печінки, а відповідно до давності поєднаної патології її концентрація поступово знижується, тоді як рівень колагену ІV, основного маркера фіброзу цих органів, поступово підвищується, і між цими показниками є середньої сили обернений кореляційний зв'язок.

## Список літератури

1. Влияние липидов ЛПНП на активность секреторной фосфолипазы А2 группы ІІА / Е.В. Самойлова, А.А. Пиркова, Н.В. Проказова и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2010. — Т. 150, № 7. — С. 45-47.
2. Губергерц Н.Б. Хронический алкогольный панкреатит / Н.Б. Губергерц, Ю.А. Загоренко // [http://www.mif-ua.com/archive/article\\_print/3977](http://www.mif-ua.com/archive/article_print/3977)
3. Диагностическое значение определения активности фосфолипазы А в крови и ее связь с другими биохимическими и иммунологическими показателями у больных хроническим рецидивирующим панкреатитом / Н.Б. Губергерц, Г.М. Лукашевич, Л.В. Климова и др. // Лабораторная диагностика. — 1999. — № 4. — С. 3-6.
4. Ишутина Н.А. Активность фосфолипазы А2 и состояние процессов перекисного окисления липидов в периферической крови беременных с герпес-вирусной инфекцией / Н.А. Ишутина // Успехи современного естествознания. — 2013. — № 2. — С. 12-14.
5. Кишкун А.А. Биохимические исследования в клинической практике: Руководство для врачей / А.А. Кишкун. — М.: Медицинское информационное агентство, 2014. — 528 с.
6. Клинико-лабораторная оценка эффективности L-орнитила-L-аспартата в терапии острого панкреатита алкогольного генеза / В.А. Бунятян, А.П. Власов, В.Г. Крылов // Тезисы XVII Российского национального конгресса «Человек и лекарство». — М., 2010. — С. 60.
7. Маев И.В. Болезни поджелудочной железы: Практ. рук. / И.В. Маев, Ю.А. Кучерявий. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. — 736 с.
8. Махов В.М. Алкогольная болезнь печени и неалкогольная жировая болезнь печени — общность и различия / В.М. Махов // Лечащий врач. — 2012, август. — № 7. — С. 22-28.
9. Минушкин О.Н. Некоторые спорные вопросы патогенеза и лечения хронического панкреатита / О.Н. Минушкин, В.А. Максимов // Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. — 2007. — № 4. — С. 25-30.



**Рисунок 1 — Рівні фосфоліпази А2 типу ІІА та колагену ІV типу залежно від тривалості хронічного панкреатиту та цирозу печінки алкогольної етіології**

10. Молекулярные основы эффективности мембранопротекторной терапии при эндотоксикозе / А.П. Власов, О.В. Логинова, И.Г. Козлов и др. // Лечебное дело. — 2010. — № 3. — С. 15-19.
11. Структурная реорганизация органов гепатопанкреатодуоденальной зоны при жировом и смешаном панкреонекрозе / М.А. Бокарев, Л.М. Непомнящих, А.В. Васильев и др. // Фундаментальные исследования. — 2013. — № 3. — С. 255-259.
12. Титов В.Н. Диагностическое значение определения содержания фосфолипазы А 2 в липопротеинах плазмы крови и функциональные связи с С-реактивным белком / В.Н. Титов // Клиническая лабораторная диагностика. — 2010. — № 8. — С. 3-16.
13. Христич Т.Н. Хронический панкреатит: возможные механизмы развития и хронизации / Т.Н. Христич // Сучасна гастроентерологія. — 2011. — № 1(57). — С. 98-102.
14. Bannikuppe S. Vishwanath, Felix J. Frey, Genevieve Escher. Liver Cirrhosis Induces Renal and Liver Phospholipase A2 Activity in Rats // J. Clin. Invest. — 1996. — Vol. 98 (2 July). — 365-371. — doi:10.1172/JC1118801.
15. Chronic pancreatitis / Joan M. Braganza, Stephen H. Lee, Rory F. McCloy, Michael J. McMahon // Lancet. — 2011. — 377. — 1184-97. — doi: 10.1016/S0140-6736(10)61852-1.
16. Secretory phospholipase A2 activiti is linked to hypercholesterolemia and genderin non-alcocholic fatty liver disease individuals / Joanna Kaczeja-Wyczomirska, Krzysztof Safranow, Agnieszka Synkowsk // Prz. Gastroenterol. — 2013. — 8(3). — 172-175.
17. Increased serum phospholipase A 2 activity in advanced chronic liver disease as an expression of the acute phase response / Mario Pirisi, Carlo Fabris, Maria Pira Panozzo et al. // Disease Markers. — 1993. — 11. — 103-111. — doi:10.1155/1993/414529.
18. Phospholipase A2 Isoforms Are Altered in Chronic Pancreatitis / Helmut Friess, Shailesh Shrikhande, Erick Riesle et al. // Annals of Surgery. — 1998. — Vol. 227(2). — 220-228. — doi:10.1097/0000658-200102000-00009.
19. Minoti V. Apte Mechanisms of alcocholic pancrtratitis / Minoti V. Apte, Romano C. Pirola, Jeremy S. Wilson // Journal of Gastroenterology and Hepatology. — 2010. — 26. — 1816-1826. — doi: 10.1111/j.1440-1746.2010.06445.
20. Nevalainen T.J. Phospholipase A 2 in acute pancreatitis: review // Am. J. Surg. — 2007. — Vol. 194(4). — 828-832. — doi: 10.1016/j.amjsurg.2007.04.004.
21. Sand J., Lankisch P.G., Nordback I. Alcohol Consumption in Patients with Acute or Chronic Pancreatitis / J. Sand, P.G. Lankisch, I. Nordback // Pancreatology. — 2007. — 7. — 147-156. — doi: 10.1159/000104251.

Отримано 05.10.15 ■

Мищук В.Г., Скоропад К.М.

Ивано-Франковский национальный медицинский университет

#### УРОВЕНЬ ФОСФОЛИПАЗЫ А2 ТИПА IIA И КОЛЛАГЕНА IV У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ АЛКОГОЛЬНЫМ ПАНКРЕАТИТОМ В СОЧЕТАНИИ С ЦИРРОЗОМ ПЕЧЕНИ КЛАССА А, В ПО ЧАЙЛЬД — ПЬЮ

**Резюме.** У 49 больных, у 20 из которых диагностировано сочетанное поражение поджелудочной железы (хронический панкреатит в стадии обострения) и печени (цирроз печени класса А, В по Чайльд — Пью) алкогольной этиологии, у 12 — хронический панкреатит в стадии обострения без сопутствующей патологии и у 17 — алкогольный цирроз печени, аналогичной стадии без вовлечения в процесс поджелудочной железы, проведено определение концентрации фосфолипазы А2 типа IIA и уровня коллагена IV в сыворотке крови. Наиболее высокая концентрация фосфолипазы А2 типа IIA выявлена у больных с сочетанным алкогольным поражением поджелудочной железы и печени ( $568,57 \pm 30,34$  пг/мл), которая в 1,58 раза превышала ее уровень у обследованных с изолированным

алкогольным поражением поджелудочной железы ( $P < 0,05$ ). У больных алкогольным циррозом печени класса А, В по Чайльд — Пью концентрация фосфолипазы А2 типа IIA составляла ( $171,35 \pm 22,46$ ) пг/мл (у здоровых — ( $123,00 \pm 10,12$ ) пг/мл). В соответствии с давностью сочетанного поражения поджелудочной железы и печени (более 5 лет) уровень фосфолипазы А2 типа IIA снижался, в то время как концентрация коллагена IV увеличилась в 2,5 раза по сравнению с таким показателем у больных при давности заболевания до одного года, а между ними была установлена обратная корреляционная связь средней силы.

**Ключевые слова:** хронический алкогольный панкреатит, алкогольный цирроз печени, фосфолипаза А2 типа IIA, коллаген IV.

Mishchuk V.H., Skoropad K.M.

Ivano-Frankivsk National Medical University, Ivano-Frankivsk, Ukraine

#### LEVELS OF TYPE IIA PHOSPHOLIPASE A2 AND TYPE IV COLLAGEN IN PATIENTS WITH CHRONIC ALCOHOLIC PANCREATITIS ASSOCIATED WITH LIVER CIRRHOSIS CLASS A, B BY CHILD-PUGH

**Summary.** In 49 patients, of whom 20 were diagnosed with combined lesions of the pancreas (chronic pancreatitis in the acute stage) and liver (cirrhosis class A, B by Child-Pugh) of alcoholic origin, 12 — with exacerbation of chronic pancreatitis without concomitant pathology, and 17 — with alcoholic cirrhosis of the same stage without involving in the process of the pancreas, we have determined the concentrations of type IIA phospholipase A2 and type IV collagen levels in the blood serum. The highest levels of type IIA phospholipase A2 were identified in patients with combined alcohol-induced pancreatic and liver injuries ( $568.57 \pm 30.34$  pg/ml), which is 1.58 times higher than its level in patients with isolated

alcohol-induced pancreatic injury ( $P < 0.05$ ). In patients with alcoholic cirrhosis class A by Child-Pugh, concentration of type IIA phospholipase A2 was ( $171.35 \pm 22.46$ ) pg/ml (in healthy people — ( $123.00 \pm 10.12$ ) pg/ml). According to the prescription of combined injury of the pancreas and liver (over 5 years), the level of type IIA phospholipase A2 decreased, whereas type IV collagen concentration increased 2.5 times compared with that of in patients with disease duration up to one year, and between them a moderate inverse correlation was detected.

**Key words:** chronic alcoholic pancreatitis, alcoholic liver cirrhosis, type IIA phospholipase A2, collagen type IV.