

DOI: 10.26693/jmbs04.05.192

УДК 616-092.19:616.37-002-13.002.2

Сірчак Є. С., Опаленик С. М.

ДОСЛІДЖЕННЯ РІВНЯ ГРЕЛІНУ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ПАНКРЕАТИТ ТА АТЕРОСКЛЕРОЗ

ДВНЗ «Ужгородський національний університет», Україна

kyzma16011993@ukr.net

У статті описано та проаналізовано рівень греліну у хворих на хронічний панкреатит та атеросклероз. Метою роботи було дослідити зміни рівня греліну у хворих на хронічний панкреатит та атеросклероз залежно від показників ліпідограми та ступеня зовнішньосекреторної недостатності підшлункової залози. Для встановлення діагнозу хронічного панкреатиту було проведено аналіз скарг, анамнестичних даних, лабораторно-інструментальних методів дослідження відповідно до марсельсько-римських критеріїв (1989 р.) з доповненнями Я. С. Циммермана (1995 р.) та уточненнями МКХ-10 та на основі бальної системи M-ANNHEIM. Також всім хворим було проведено ультразвукове дослідження органів гепато-біліарної системи. Всім хворим було проведено ^{13}C -змішаний тригліцеридний дихальний тест та ^{13}C -амілазний дихальний тест для виявлення зовнішньосекреторної недостатності підшлункової залози. Атеросклеротичні зміни діагностували вимірюючи товщину шару «інтиму-медіа» у сонній артерії та за наявності порушень в ліпідограмі (визначенням вмісту загального холестерину плазми крові, тригліцеридів, холестерину ліпопротеїдів високої щільності і ліпопротеїдів низької щільності, коефіцієнта атерогенності). Рівень сироваткового греліну визначали за допомогою імуноферментного аналізу згідно методики виконання. Рівень греліну сироватки крові у групі практично здорових осіб знаходився в межах $108,167 \pm 4,73$ нг/мл. Дані показники були нами прийняті в якості нормальних значень рівня греліну. Натомість, у I групи концентрація сироваткового греліну склала $173,154 \pm 7,76$ нг/мл, а у II групи даний показник знаходився на рівні $285,929 \pm 9,971$ нг/мл. За результатами проведеного дослідження спостерігалася висока концентрація та статистично достовірна різниця рівня сироваткового греліну у хворих на хронічний панкреатит та атеросклероз порівняно з контрольною групою та хворими на хронічний панкреатит без атеросклеротичних змін. За результатами ^{13}C -АДТ та ^{13}C -ЗТДТ у хворих з менш вираженими порушеннями зовнішньосекреторної недостатності підшлункової залози та без атеросклерозу рівень греліну був статистично дос-

товірно вищим порівняно з контрольною групою. Натомість, у обстежених нами пацієнтів з вираженою зовнішньосекреторною недостатністю підшлункової залози та атеросклерозом цей показник був достовірно вищим порівняно з контрольною групою та групою хворих на хронічний панкреатит з менш вираженою недостатністю підшлункової залози та без атеросклерозу.

Ключові слова: грелін, ^{13}C -змішаний тригліцеридний дихальний тест, ^{13}C -амілазний дихальний тест, хронічний панкреатит, атеросклероз.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Наукова стаття є фрагментом НДР «Поліморбідна патологія при захворюваннях органів травлення, особливості патогенезу, можливості корекції», № державної реєстрації 0118U004365.

Вступ. З моменту відкриття греліну в 1999 році безліч доклінічних і клінічних досліджень показали, що грелін має дивовижне різноманіття метаболічних впливів на фізіологічні процеси в організмі, такі як: регуляція споживання їжі та ситості, модуляція енерговитрат через регуляцію термогенезу бурого жиру, регулювання рівня ліпідів та ожиріння в цілому, секреторну функцію підшлункової залози, метаболізм глюкози, запалення, вплив на ендотеліальну дисфункцію та багато інших [1].

Грелін переважно секретується P/D1-клітинами слизової оболонки фундального відділа дна шлунка. Однак, 35% до 45% рівня греліну все ще виявляються у пацієнтів після тотальної гастректомії. Використовуючи імуногістохімію та гібридизацію *in situ* на людських зразках підшлункової залози, визначили п'ятий підтип клітин підшлункової залози які експресують грелін, що представляє собою окрему популяцію острівців. Примітно, що в людських фетальних і неонатальних зразках підшлункової залози (ПЗ) до 10% ендокринних клітин експресують грелін. Цей відсоток знижується до ~ 1 % у дорослих [2].

Крім добре встановлених орексигенних і ліпогенних ефектів, грелін має протизапальний та антиоксидантний впливи при різних патологічних

станах, в тому числі – при атеросклерозі та запальних процесах панкреатобіліарної зони [3].

Розвиток численних захворювань, зокрема хронічного панкреатиту (ХП), пов'язаний з прогресуючою ішемією ПЗ внаслідок атеросклерозу судин. Результатом цього є дистрофічні вогнища, фіброз та склероз, що призводить до розвитку екзокринної та ендокринної недостатності ПЗ [4]. У зв'язку з цим важливим є покращення та пошук принципово нових методів ранньої діагностики захворювання при поєднаному перебігу ХП та атеросклерозу.

Мета роботи – дослідити зміни показника греліну у хворих на хронічний панкреатит та атеросклероз.

Матеріал та методи дослідження. Під нашим спостереженням знаходились 87 хворих на ХП та атеросклероз, які знаходилися на стаціонарному лікуванні в гастроентерологічному та ендокринологічному відділеннях ЗОКЛ ім. А. Новака, а також на амбулаторно-диспансерному спостереженні у сімейного лікаря (гастроентеролога) за місцем проживання. Вік хворих склав – 34-68 років. Серед обстежуваних пацієнтів чоловіків було 56 (64,0 %), жінок – 31 (36,0 %). Контрольну групу склали 20 практично здорових осіб (ПЗО) віком від 30 до 65 років. Чоловіків – 11 (55,0 %), жінок – 9 (45,0 %) відповідно.

Діагноз хронічного панкреатиту виставляли з урахуванням скарг, анамнестичних даних, лабораторно-інструментальних методів дослідження відповідно до марсельсько-римських критеріїв (1989 р.) з доповненнями Я. С. Циммермана (1995 р.) та уточненнями МКХ-10 та на основі бальної системи M-ANNHEIM [5, 6]. Також всім хворим було проведено ультразвукове дослідження органів гепатобіліарної системи на апараті Philips HDI – 1500 із датчиком для сканування з частотою 3,5 МГц. При цьому, визначали розміри, контур, структуру та ехогенність ПЗ, наявність чи відсутність кальцифікатів паренхіми, ретенційних кіст, мікролітів у протоці ПЗ та її розміри [6].

Для оцінки інтрадуоденальної активності ліпази та амілази ПЗ, а також для встановлення ступеня зовнішньосекреторної недостатності ПЗ, було проведено ^{13}C -змішаний тригліцеридний дихальний тест (^{13}C –ЗТДТ) та ^{13}C -амілазний дихальний тест (^{13}C –АДТ) згідно методики виконання [7].

Діагноз атеросклерозу виставляли на основі аналізу порушень показників ліпідограми: рівня загального холестерину (ЗХ), тригліцеридів (ТГ), ліпопротеїдів низької щільності (ЛПНЩ), ліпопротеїдів дуже низької щільності (ЛПДНЩ), ліпопротеїдів високої щільності (ЛПВЩ) та коефіцієнта атерогенності (КА). А також вимірюючи товщину шару

"інтиму-медіа" у сонній артерії під час дуплексного сканування судин шиї. Біохімічні показники визначали на автоматичному біохімічному аналізаторі ChemWell, Awareness Technology INC (США) [8].

Рівень сироваткового греліну визначали за допомогою імуноферментного аналізу згідно методики виконання. Для проведення дослідження використовували імуноферментний набір Human/Mouse/Rat Ghrelin Enzyme Immunoassay Kit фірми RayBiotech. Зчитування абсорбції проводили при довжині хвилі 450 нм.

Всіх обстежених нами пацієнтів, залежно від наявності порушень в ліпідограмі, було поділено на 2 групи. В 1 групу ввійшло 40 хворих на ХП без атеросклерозу, в 2 групу – 47 хворих на ХП та атеросклероз.

Дослідження виконані з дотриманням основних положень «Правил етичних принципів проведення наукових медичних досліджень за участю людини», затверджених Гельсінською декларацією (1964–2013 рр.), ІСН GCP (1996 р.), Директиви ЄС № 609 (від 24.11.1986 р.), наказів МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р., № 944 від 14.12.2009 р., № 616 від 03.08.2012 р. Кожен пацієнт підписував інформовану згоду на участь у дослідженні, і вжиті всі заходи для забезпечення анонімності пацієнтів.

Статистичну обробку результатів обстеження хворих здійснювали за допомогою комп'ютерної програми STATISTICA 10.0 (фірми StatSoft Inc, USA).

Результати дослідження. Для комплексної оцінки та порівняння ступеня атеросклеротичних порушень з рівнем сироваткового греліну, всім хворим на ХП було проведено дослідження ліпідограми (**таблиця 1**) та визначено концентрацію сироваткового греліну.

Таблиця 1 – Показники ліпідограми у хворих на ХП та атеросклероз, а також у групи ПЗО

Показник	ПЗО (n=20)	I група (n=40)	II група (n=47)
ТГ (ммоль/л)	1,0±0,14	1,92±0,19*	3,87±0,86** [^]
ЗХ (ммоль/л)	4,33±0,26	4,58±0,75*	7,36±0,74**
ЛПНЩ (ммоль/л)	2,28±0,13	3,3±0,18	4,69±0,34*
ЛПДНЩ (ммоль/л)	0,18±0,01	0,36±0,08**	2,13±0,53**
ЛПВЩ (ммоль/л)	2,63±0,22	2,14±0,18*	0,9±0,02*
КА	1,19±0,28	3,88±0,17**	5,79±0,08**

Примітки: 1. Різниця між показниками контрольної групи та хворими I та II груп достовірна: * (p<0,05); ** (p<0,01). 2. Різниця між показниками I та II груп достовірна: [^] (p<0,05).

Рівень греліну сироватки крові у групі ПЗО знаходився в межах 108,167±4,73 нг/мл. Дані показники були нами прийняті в якості нормальних значень рівня греліну. Натомість, у I групи концентрація сироваткового греліну склала 173,154±7,76 нг/мл, а у II групи даний показник знаходився на рівні 285,929±9,971 нг/мл.

Для виявлення ступеня зовнішньосекреторної недостатності (ЗСН) ПЗ у хворих на ХП та атеросклероз всім хворим було проведено ¹³C-ЗТДТ (таблиця 2) та ¹³C-АДТ (таблиця 3).

Таблиця 2 – Результати ¹³C-ЗТДТ у хворих на ХП та атеросклероз та групи ПЗО

Показник	ПЗО (n=20)	1 група (n=40)	2 група (n=47)
максимальна концентрація ¹³ CO ₂ між 150 і 210 хв. дослідження	17,4 ± ± 1,43 %	7,0 ± ± 0,52 %*	4,6 ± ± 0,96 %*
сумарна концентрація ¹³ CO ₂ в кінці дослідження (360 хв.)	31,6 ± ± 1,91 %	18,8 ± ± 0,58 %*	14,3 ± ± 0,77 %*

Примітки: * – p<0,05 – різниця між показниками у хворих та контрольної групи достовірна; показники у хворих на ХП першої групи та другої групи достовірно відрізняються: ** – p<0,05.

Таблиця 3 – Результати ¹³C-АДТ у хворих на ХП та атеросклероз та групи ПЗО

Показник	ПЗО (n=20)	1 група (n=40)	2 група (n=47)
сумарна концентрація ¹³ CO ₂ в кінці дослідження (360 хв.)	23,4 ± ± 0,85 %	11,8 ± ± 1,27 %**	5,7 ± ± 1,36 %*

Примітки: * – p<0,05 – різниця між показниками у хворих та контрольної групи достовірна; показники у хворих на ХП першої групи та другої групи достовірно відрізняються: ** – p<0,05.

Обговорення отриманих результатів. Аналізуючи наведені вище результати, нами було виявлено статистично достовірні порушення ліпідограми у хворих II групи, а саме: гіпертригліцеридемія, гіперхолестеринемія, зниження рівня ЛПВЩ, підвищення рівня ЛПНЩ, ЛПДНЩ та КА. Показники ліпідограми у хворих I групи знаходилися на рівні верхньої межі норми, проте були статистично достовірно вищими в порівнянні з контрольною групою.

Аналізуючи рівень греліну у хворих на ХП без атеросклеротичних змін, нами було відмічено ста-

тистично достовірно вищі його показники порівняно з контрольною групою ПЗО. Це вказує на можливу участь даного пептиду у патогенетичних механізмах розвитку ХП через стимуляцію апетиту та, внаслідок цього, порушення харчової поведінки даних пацієнтів.

Висока концентрація та статистично достовірна різниця рівня сироваткового греліну у хворих на ХП та атеросклероз порівняно з контрольною групою та хворими на ХП без атеросклеротичних змін вказує на системний вплив греліну в організмі хворих на атеросклероз. Дані зміни можна пояснити запуском каскаду компенсаторних механізмів на системне ураження судин при атеросклерозі та локальне ураження тканини ПЗ при ХП. Виявлені зміни підтверджують такі функції греліну, як: участь у запаленні (протизапальний вплив), формування харчової поведінки та, як наслідок, переїдання, яке може супроводжуватися атеросклеротичним ураженням судин та ожирінням.

За результатами проведеного ¹³C-ЗТДТ у всіх хворих нами було виявлено порушення зовнішньосекреторної функції ПЗ. Натомість, за результатами С₁₃-АДТ різко виражена ЗСН ПЗ спостерігалась у хворих на ХП з атеросклеротичними змінами. При цьому у хворих на ХП без атеросклеротичних змін даний показник знаходився на рівні нижньої межі норми.

Аналіз результатів проведеного дослідження показав, що у хворих з менш вираженими порушеннями ЗСН ПЗ за результатами ¹³C-АДТ та без атеросклерозу рівень греліну склав 173,154±7,76 нг/мл. Натомість, у обстежених нами пацієнтів з вираженими порушеннями ЗСН ПЗ та атеросклерозом цей показник знаходився на рівні 285,929±9,971 нг/мл. Виявлені зміни підтверджують можливу інгібуючу дію греліну на секреторну активність ПЗ при ХП та його участь у регуляції функцій травлення підшлунковою залозою.

Висновки

1. У хворих на ХП та атеросклероз спостерігається підвищення рівня сироваткового греліну.
2. Підвищення греліну сироватки крові по відношенню до норми може слугувати критерієм при встановленні ступеня важкості ХП та атеросклерозу, а також маркером для прогнозування їх подальшого перебігу.

Перспективи подальших досліджень – подальше дослідження та вивчення ролі греліну у патогенезі атеросклерозу та хронічного панкреатиту.

References

1. Ukkola O. Ghrelin and atherosclerosis. *Current opinion in lipidology*. 2015; 26(4): 288-91. doi: 10.1097/MOL.000000000000183

- Coldén G, Tschöp M, Müller T. Therapeutic Potential of Targeting the Ghrelin Pathway. *International journal of molecular sciences*. 2017; 18(4): 798. PMID: 28398233. PMCID: PMC5412382. doi:10.3390/ijms18040798
- Napolitano T, Silvano S, Vieira A, Balaji S, Garrido-Utrilla A, Friano ME, et al. Role of ghrelin in pancreatic development and function. *Diabetes Obes Metab*. 2018; 20(2): 3–10. PMID: 30230184. <https://doi.org/10.1111/dom.13385>
- Wang L, Chen Q, Ke D, Li G. Ghrelin inhibits atherosclerotic plaque angiogenesis and promotes plaque stability in a rabbit atherosclerotic model. *Peptides*. 2017; 90: 17-26. PMID: 28189525. DOI: 10.1016/j.peptides.2017.01.013
- Denysiuk VI, Denysiuk OV. Khronichnyi pankreatyt: standarty diahnostryky ta likuvannia za rekomendatsiiamy dokazovoi medytsyny. *Hostri ta nevidkladni stany u praktytsi likarya*. 2011; 5-6 (29): 57-67. [Ukrainian]
- Babinets LS, Zakharchuk UM, Pidruchna SR. Vprovadzhennia mizhnarodnykh standartiv otsiniuvannia kliniky khronichnoho pankreatytu u simeinii medytsyni. *Semeinaia medytsyna*. 2014; 1: 70-2. [Ukrainian]
- Manzhaliy EH. Problemni pytannia diahnostryky ta likuvannia khronichnoho pankreatytu. *Suchasna gastroenterolohiia*. 2013; 1: 122-8. [Ukrainian]
- Khrystych T.M. Lipidnyi spektr krovi pry khronichnomu pankreatyti za komorbidnosti z ishemichnoiu khvoroboiu sertsia: mozhlyvosti korektsii. *Hastroenterolohiia*. 2014; 53 (3): 56-63. [Ukrainian]

УДК 616-092.19:616.37-002-13.002.2

ИССЛЕДОВАНИЕ УРОВНЯ ГРЕЛИНА У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ПАНКРЕАТИТОМ И АТЕРОСКЛЕРОЗОМ

Сирчак Е. С., Опаленик С. М.

Резюме. В статье описано и проанализировано уровень грелина у больных хроническим панкреатитом и атеросклерозом. Целью работы было исследовать изменения уровня грелина у больных хроническим панкреатитом и атеросклерозом в зависимости от показателей липидограммы и степени внешнесекреторной недостаточности поджелудочной железы. Для установления диагноза хронического панкреатита был проведен анализ жалоб, анамнестических данных, лабораторно-инструментальных методов исследования в соответствии с марсельско-римскими критериями (1989) с дополнениями Я. С. Циммермана (1995.) И уточнениями МКБ-10 и на основе балльной системы M-ANNHEIM. Также всем больным было проведено ультразвуковое исследование органов гепатобилиарной системы. Всем больным было проведено ¹³C-смешанный триглицеридный дыхательный тест и ¹³C-амилазный дыхательный тест для выявления внешнесекреторной недостаточности поджелудочной железы. Атеросклеротические изменения диагностировали, измеряя толщину слоя «интима-медиа» в сонной артерии и при наличии нарушений в липидограмме (определением содержания общего холестерина плазмы крови, триглицеридов, холестерина липопротеидов высокой плотности и липопротеидов низкой плотности, коэффициента атерогенности). Уровень сывороточного грелина определяли с помощью иммуноферментного анализа по методике выполнения. Уровень грелина сыворотки крови в контрольной группе находился в пределах 108,167±4,73 нг/мл. Данные показатели были нами приняты в качестве нормальных значений уровня грелина. В I группе концентрация сывороточного грелина составила 173,154±7,76 нг/мл, а во второй группы данный показатель находился на уровне 285,929±9,971 нг/мл. По результатам проведенного исследования наблюдалась высокая концентрация и статистически достоверная разница уровня сывороточного грелина у больных хроническим панкреатитом и атеросклерозом по сравнению с контрольной группой и больными хроническим панкреатитом без атеросклеротических изменений. По результатам ¹³C-АДТ и ¹³C-ЗТДТ у больных с менее выраженной недостаточностью поджелудочной железы и без атеросклероза уровень грелина был статистически достоверно выше по сравнению с контрольной группой. Зато в обследованных нами пациентов с выраженной недостаточностью поджелудочной железы и атеросклерозом этот показатель был достоверно выше по сравнению с контрольной группой и группой больных хроническим панкреатитом с менее выраженной недостаточностью поджелудочной железы и без атеросклероза.

Ключевые слова: грелин, ¹³C-смешанный триглицеридный дыхательный тест, ¹³C-амилазный дыхательный тест, хронический панкреатит, атеросклероз.

UDC 616-092.19:616.37-002-13.002.2

Study of the Ghrelin Level in Patients with Chronic Pancreatitis and Atherosclerosis

Sirchak Ye. S., Opalenyk S. M.

Abstract. The article describes and analyzes the level of ghrelin in patients with chronic pancreatitis and atherosclerosis.

The purpose of the work was to investigate the changes in the level of ghrelin in patients with chronic pancreatitis and atherosclerosis, depending on the lipidogram and the degree of external secretion of pancreatic insufficiency.

Material and methods. For the diagnosis of chronic pancreatitis, we analyzed complaints, anamnesis, laboratory-instrumental methods of research in accordance with the Marseilles-Roman criteria (1989), supplemented by Ya. S. Cimmermann (1995), and refinements of ICD-10 on the basis of the ballroom system M-ANNHEIM. All patients also had an ultrasound examination of the hepatotoxic biliary system. We conducted mixed triglyceride ^{13}C breath test (^{13}C -MTBT) and amylase ^{13}C -breath test (^{13}C -ABT) for detection of exocrine pancreatic insufficiency. Atherosclerotic changes were diagnosed by measuring the thickness of the intima-media layer in the carotid artery and changes in the lipid profile of the blood (by determining the total blood plasma cholesterol, triglycerides, high density lipoprotein cholesterol, low density lipoprotein and atherogenicity). Serum ghrelin levels were determined using an enzyme-linked immunosorbent assay according to the implementation method. The human immunodeficiency kit RayBiotech Human/Mouse/Rat Ghrelin Enzyme Immunoassay Kit was used for the study. The exocrine pancreatic insufficiency was observed in all patients by using the triglyceride respiratory test.

Results and discussion. The level of ghrelin in serum in the control group was within 108.167 ± 4.73 ng/ml. These figures were taken as normal values of the ghrelin level. In contrast, in Group I, the concentration of ghrelin in the blood serum was 173.154 ± 7.76 ng/ml, while in Group II its level was 285.929 ± 9.971 ng/ml. According to the results of the study, a high concentration and a statistically significant difference in serum ghrelin levels in patients with chronic pancreatitis and atherosclerosis were observed compared to the control group and those with chronic pancreatitis without atherosclerotic changes.

Conclusions. Based on the results of mixed triglyceride ^{13}C breath test and amylase ^{13}C -breath test in patients with less severe exocrine pancreatic insufficiency disorders and without atherosclerosis, the level of ghrelin was statistically significant and higher compared to the control group. This indicator was significantly higher in patients with severe exocrine pancreatic insufficiency with atherosclerosis in comparison with the control group and the group of patients with chronic pancreatitis with less pronounced exocrine pancreatic insufficiency and without atherosclerosis.

Keywords: Ghrelin, ^{13}C -mixed triglyceride breath test, ^{13}C -amylase breath test, chronic pancreatitis, atherosclerosis.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.

Стаття надійшла 09.06.2019 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування