

Міністерство освіти і науки України
Чернівецький національний університет
імені Юрія Федьковича

Навчально-науковий інститут біології, хімії та біоресурсів
Кафедра біохімії та біотехнології

**Інформативність біохімічних показників крові
у хворих на рак підшлункової залози**

Дипломна робота
ОР «магістр»

Виконала: студентка VI курсу
Юлія Іллівна Кривко
спеціальність – біологія,
ОПП– Біохімія та лабораторна діагностика

Керівник: д.б.н., професор Копильчук Г.П.

До захисту допущено:

Протокол засідання кафедри № ____

від „____” _____ 2022 р.

зав. кафедри _____ проф. Копильчук Г.П.

Чернівці
2022

Анотація

Метою роботи стало – на основі аналізу клініко-біохімічних показників дослідити наявність чи відсутність впливу цукрового діабету на структурно-функціональний стан органів у хворих на рак підшлункової залози (ПЗ) із супутнім цукровим діабетом.

Результати біохімічного аналізу, проведені в онкоцентрі, дозволяють підсумувати, що у хворих на рак підшлункової залози із супутнім цукровим діабетом тригером структурно-функціональних порушень гепато-біліарної системи можна вважати рак підшлункової залози, тоді як цукровий діабет здійснював вплив лише на ступінь деструктивних змін у самій панкреатичній залозі, що відображалось на здатності реалізувати екзокринну функцію.

Зміст

Анотація.....	2
Вступ.....	4
Розділ I. Огляд літератури.....	6
1.1. Лабораторна діагностика функціональної активності підшлункової залози.....	6
1.2. Найагресивніша патологія підшлункової залози – злоякісні новоутворення: причини канцерогенезу, особливості діагностики.....	8
1.2.1. Симптоматика раку підшлункової залози.....	9
1.2.2. Лабораторна діагностика раку підшлункової залози.....	10
1.3. Рак підшлункової залози та цукровий діабет.....	12
1.4. Хронічний панкреатит – предиктор розвитку раку підшлунко- вої залози.....	14
1.4.1. Біохімія хронічного панкреатиту.....	5
1.5. Онкомаркери в діагностиці раку підшлункової залози.....	16
Розділ 2. Методи досліджень.....	18
Розділ III. Результати та їх обговорення.....	25
Висновки.....	38
Список інформаційних джерел.....	39
Додатки.....	43

Вступ

Нині рак підшлункової залози – одне з найнебезпечніших злоякісних новоутворень серед більш, ніж 60 їх різновидів [1].

Захворюваність і смертність від раку підшлункової залози в усьому світі неухильно зростає. Його відносять до найрозповсюдженіших пухлин після раку легень, товстої кишки, шлунка, молочної залози тощо. Він зумовлює близько 6% всіх смертей, спричинених злоякісними новоутвореннями у світі.

Рак підшлункової залози за частотою виникнення займає дванадцятую позицію серед злоякісних новоутворень у світі та посідає четверте місце серед причин смертності від злоякісних пухлин в Європі. У більше, ніж 80% випадків – це так званий спорадичний рак, а в менш, ніж 10% захворюваність викликається спадковими мутаціями [2, 3].

Доброякісні епітеліальні пухлини – аденоми, а також пухлини не-епітеліального походження – фіброми, ліпоми, гемангіоми, лімфангіоми – дуже рідкісне явище у ПЗ і становить 0,05 %. Небезпечними є пухлини гормонального походження – інсулома та аденома острівців підшлункової залози. Перша призводить до періодичних гіпоглікемічних кризів і псевдоепілептичних нападів, друга – до утворення рецидивних виразок шлунка [4].

Злоякісне новоутворення підшлункової залози являє собою різнорозмірні вузли (2-10 см). Пухлини голівки ПЗ, як правило, малорозмірні, бо стискаючи загальну жовчеву та панкреатичну протоки, призводять до важких наслідків. Пухлини тіла та хвоста виявляються дещо пізніше, тому можуть сягати значних розмірів.

Походження раку ПЗ може бути різноманітне – із залозистих елементів, епітелію вивідних проток та острівців Лангерганса. За гістологічною класифікацією розрізняють аденокарциному, недиференційований і неklasифікований рак.

Рак ПЗ – це інтенсивно метастазуючий рак. Лімфогенно метастази поширюються передусім у лімфатичні вузли голівки ПЗ, а згодом – у печінку. Можлива рання дисемінація по очеревині з появою асцити. Гематогенні метастази розповсюджуються до легенів, кісток, нирок, мозку. Можливі також віддалені метастази Вірхова (ураження лімфатичних вузлів лівої надключичної ділянки), Шніцлера (у параректальні лімфовузли), Крукенберга (у яєчники) [3].

Відомо, що, особи з цукровим діабетом більшою мірою, ніж популяція в цілому, схильні до розвитку злоякісних новоутворень. Доведено, що у 8–18% випадків рак супроводжується цукровим діабетом. Такий супровід раку цукровим діабетом, переважно 2 типу, встановлено в епідеміологічних дослідженнях для злоякісних новоутворень печінки, ендометрія, товстої кишки, грудної залози [5].

Результати відразу декількох досліджень американських медиків указують на те, що цукровий діабет 2 типу може слугувати тривожним сигналом розвитку раку підшлункової залози. До такого висновку привели результати обстеження 50 тисяч пацієнтів в період з 1993 до 2013 року [6].

З огляду на встановлені епідеміологічні зв'язки між цими двома захворюваннями на спільному консенсусному звіті American Cancer Society та American Diabetes Association (2010 р.) прийнято рекомендацію щодо регулярного скринінгу раку в пацієнтів із цукровим діабетом [7].

Мета даної роботи – на основі аналізу клініко-біохімічних показників дослідити особливості структурно-функціонального стану органів у хворих на рак підшлункової залози із супутнім цукровим діабетом.

Розділ 1

Огляд літератури

1.1. Лабораторна діагностика функціональної активності підшлункової залози.

Підшлункова залоза – надзвичайно важливий орган, оскільки здійснює вплив не тільки на процеси травлення, а й на обмін речовин в цілому. Відомо, що гормони, які продукуються підшлунковою залозою, регулюють обмін вуглеводів, від яких залежить енергетичний баланс організму. Інсулін підвищує проникність клітинних мембран скелетних м'язів і жирової тканини для глюкози, тобто забезпечує надходження глюкози в клітини.

Порушення роботи підшлункової залози небезпечне для всього організму і може призвести до його смерті. Тому при найменших збоях функціональної активності цього органу необхідно проводити його лабораторну діагностику.

Гострий період уражень панкреатичної залози характеризується гіперсекрецією ензимів. Тому лікар призначає аналіз ферментів у крові, сечі або калі.

Підшлункова залоза має тісний функціональний взаємозв'язок з печінкою. Тому патологічні зміни в підшлунковій залозі викликають певні негативні зміни в печінці. Для оцінки глибини цих змін призначають печінкові проби.

Взагалі обстеження за умов порушення функціональної активності панкреатичної залози розпочинається із загального клінічного аналізу крові.

При виявленні в крові підвищеного рівня ШОЕ, лейкоцитів, паличкоядерних і сегментоядерних нейтрофілів можна припускати розвиток гострого запального процесу в організмі.

Біохімічний аналіз крові може виявити білірубінемію (загальну і пряму), зростання вмісту гамма-глобуліну, серомукоїдів і саліцилатів. Проте ці

показники не вважаються маркерами патології підшлункової залози, їхні відхилення можуть виявлятися при патології різних органів.

Для діагностики панкреатичних порушень у лабораторній діагностиці використовують специфічні біохімічні маркери функціонального стану підшлункової залози. Охарактеризуємо основні.

Найбільш специфічним і високочутливим є тест на визначення активності панкреатичної еластази (еластаза-1) в калі. Цей тест дає можливість продіагностувати екзокринну функцію органу. Він використовується при підозрі на канцерогенез, цукровий діабет, холелітіаз чи хронічний холецистит. Референсні значення – більше 200 мкг/г калу.

У сироватці крові визначають рівень глюкози та глікованого гемоглобіну. Деструктивні процеси в острівцях Лангерганса призводять до зниження рівня секреції інсуліну, наслідком чого є підвищення вмісту глюкози в крові, що в свою чергу призводить до посиленого неензиматичного глікування гемоглобіну. Підвищений рівень глікованого гемоглобіну свідчить про тривалий період (біля 120 діб) підвищеного рівня глюкози і використовується як маркер цукрового діабету. Ще одним актуальним тестом для виявлення порушення вуглеводного обміну, пов'язаного зі збоями роботи підшлункової залози, є тест толерантності до глюкози.

Досить чутливим тестом є визначення активності панкреатичної альфа-амілази у сироватці крові. Відомо, що панкреатична альфа-амілаза – це основний ензим гідролізу харчових полісахаридів у тонкому кишечнику. Референсні значення не перевищують 50 Од / мл. Збільшення рівня цього ензиму в сироватці крові спостерігається під час запального процесу, інфекційного ураження чи розвитку злоякісного новоутворення.

Ще одним важливим гідролітичним ензимом, який слугує біохімічним маркером патологічних змін підшлункової залози, є панкреатична ліпаза, яка у тонкому кишечнику гідролізує харчові жири. Нормою вважаються показники в межах 8-78 Од/л.

Ще одним біохімічним маркером глибини порушень функціональної активності підшлункової залози є рівень активності трипсину в сироватці крові (норма 0-4 Од/мл). Відомо, що трипсин синтезується в підшлунковій залозі та є ензимом панкреатичного соку. Відхилення показників активності трипсину в сироватці крові від референсних величин пов'язані з глибиною ураження підшлункової залози.

У сечі визначають активність амілази, рівень амінокислот для виявлення запального процесу.

При зниженні активності панкреатичної залози роблять копрограму, яка виявляє неперетравлену целюлозу, жир, крохмаль тощо [8].

1.2. Найагресивніша патологія підшлункової залози – злоякісні новоутворення: причини канцерогенезу, особливості діагностики.

Новоутворення в підшлунковій залозі може локалізуватися в різних її ділянках, зокрема, в головці ПЗ (65 %), в тілі або хвості (25 %), а в 10 % випадків має мультифокальний характер.

Новоутворення ПЗ характеризується високим рівнем агресивності, що проявляється у швидкому рості та інтенсивній інфільтрації сусідніх органів (дванадцятипалої кишки, шлунка, ободової кишки), а також позапечінкових жовчевих шляхів, портальної вени, черевного стовбура, брижової вени та артерії, черевного сплетіння; метастазуванні до очеревини, інфільтрації вздовж нервових волокон, метастазуванні лімфатичним та кровоносним шляхами (в печінку, легені, плевру, кістки, головний мозок, нирки).

Факторами ризику розвитку злоякісного новоутворення підшлункової залози є ожиріння (приріст ІМТ на 5 кг/м² підвищує ризик розвитку раку приблизно на 10 %); цукровий діабет, тютюнопаління, хронічний панкреатит, інфекції *H. pylori*, HBV, HCV; тип харчування (споживання великої кількості масла, насичених жирних кислот, червоного м'яса тощо).

Водночас вживання великої кількості фруктів і овочів зменшує ризик захворювання.

Серед факторів ризику слід відмітити генетичну схильність, яка провокує приблизно 10 % випадків розвитку раку ПЗ – це генетичні неопластичні синдроми, пов'язані з мутацією гена *BRCA*, синдром сімейної атипової множинної меланоми (FAMMM), синдром Пейтца-Єгерса, синдром Лінча, сімейний аденоматозний поліпоз товстого кишечника (FAP), атаксія-телеангіектазія (синдром Луї-Бар), синдром Лі-Фраумені.

Рак підшлункової залози – це наслідок накопичення набутих мутацій багатьох генів, що з'являються у певній послідовності. 85–100% випадків цього захворювання зумовлено мутацією онкогену *KRAS*. Окрім цього актуальною є мутація генів-супресорів – *p16 (CDKN2A)*, *TP53*, *SMAD4*, а також генів репарантів ДНК – *hMLH1*, *MSH2* [2].

1.2.1. Симптоматика раку підшлункової залози.

Симптоми онкозахворювання ПЗ пов'язані з локалізацією новоутворення.

Рак голівки ПЗ проявляється симптомами порушення функції печінки, 12-палої кишки та самої ПЗ. Ці порушення є наслідком стискання печінкових та панкреатичних проток, проростання у 12-палу кишку, що й спричиняє дисфункцію цих органів. Рання симптоматика найчастіше відсутня.

У 90 % випадків раку голівки ПЗ розвивається механічна жовтяниця, яка супроводжується симптомами інтоксикації та свербіння шкіри. Утруднення відтоку жовчі призводить до розтягу жовчевого міхура, гепатомегалії, що виявляється шляхом пальпації. Метаболіти жовчі накопичуються в крові та інших тканинах, провокуючи важку інтоксикацію організму, порушення функцій печінки, нирок, системи гемостазу.

Згодом обтурація протоки ПЗ індукує порушення процесів травлення, що супроводжується діареєю, нудотою, втратою апетиту, схудненням. Проростання пухлини в 12-палу кишку призводить до звуження її порожнини та стенозу, а також виходу вмістимого шлунка та блювоти [3, 9].

Встановлено, що у значної частини хворих рак голівки підшлункової залози супроводжується розвитком канцероматозного панкреатиту, що суттєво змінює клініку протікання захворювання, тактику лікування та його результати [10, 11].

Причини канцероматозного панкреатиту пов'язані з обструкцією пухлиною панкреатичної протоки, руйнуванням паренхіми ПЗ з передчасною активацією панкреатичних ферментів, збоями органного кровообігу, гіпертензією у протоковій системі залози [12].

Нераціональне харчування, яке супроводжується стимуляцією екскреторної функції органа, лікарські препарати та післяопераційна травма провокують прогресування панкреатичного запально-деструктивного процесу аж до панкреонекрозу [13, 14].

Клініка раку тіла та хвоста ПЗ радикально відмінна. Основна відмінність – це відсутність жовтяниці. Загальні симптоми проявляються болями в надчеревній ділянці та анорексією.

Біль не пов'язаний із прийомами їжі, може спостерігатися іррадіація болю в спину. Характерна прогресуюча білірубінемія за рахунок прямого білірубіну. Оскільки жовч не надходить до кишок, у калі відсутній стеркобілін, а в сечі –уробілін. У калі, як наслідок перекривання протоки підшлункової залози та ненадходження панкреатичних ферментів у кишечник, виявляють неперетравлені жири та білки (стеаторея і креаторея) [3, 9].

1.2.2. Лабораторна діагностика раку підшлункової залози.

Всі сучасні методи діагностики недостатньо інформативні, а тому раннє виявлення раку ПЗ практично неможливе. Пухлини діаметром до 2 см діагностуються, як правило, випадково. Так, шляхом ультразвукового обстеження виявляють до 30-50 % випадків. Комп'ютерна томографія дає можливість діагностики 40-70 % випадків. Діагноз раку ПЗ встановлюють в основному через 6 місяців після появи перших симптомів, тому на момент діагнозу 80 % хворих вже мають метастази.

Для диференційної діагностики вірусної та механічної жовтяниці актуальним виявляється біохімічний аналіз крові. Дворазове чи триразове зростання рівня сироваткових амінотрансфераз та альдолази характерне для вірусного гепатиту, при механічній жовтяниці їх суттєвих змін не спостерігається, натомість визначається підвищена активність лужної фосфатази та кількісного рівня холестеролу в крові [9].

Зазвичай у хворих на рак ПЗ зміни клініко-біохімічних показників крові досить неспецифічні. На початкових стадіях захворювання вони, як правило, в нормі. На пізніших стадіях захворювання приблизно у 50% хворих проявляються симптоми холестазу – пряма гіпербілірубінемія, підвищена активність ЛФ і ГГТ, може спостерігатися анемія.

За умови запущеності хвороби при значних втратах маси тіла лабораторне обстеження може виявити загальні симптоми мальнутриції, зокрема гіпоальбумінемію.

Немаловажне значення для діагностики раку ПЗ може мати розгорнутий загальний аналіз крові, печінкові проби. Так, при обструктивній жовтяниці спостерігається значне підвищення рівня загального та кон'югованого білірубіну, лужної фосфатази, гамма-глутамілтрансферази; меншою мірою зростають АсТ та АлТ. Доцільним виявляється визначення рівня амілази та/або ліпази у сироватці крові, а також онкомаркерів (у 75-85% випадків встановлюють зростання рівня СА 19-9, у 40-45% – СЕА).

Однак, СА 19-9 – це неспецифічний маркер для раку підшлункової залози. Концентрація цього антигену зростає не лише при аденокарциномі підшлункової залози, а й при інших злоякісних пухлинах шлунково-кишкового тракту, а також під час неонкологічних захворювань, наприклад, холангіту, гострого та хронічного панкреатиту. Антиген СА 19-9 являє собою похідне системи Льюїс (Lewis). Через занадто низьку чутливість та специфічність визначення онкомаркера СА 19-9 неефективне для діагностики раку та для скринінгових досліджень. Однак, цей показник виявляється доцільним для діагностики рецидиву раку підшлункової залози після резекції. Його та-

кож можна використовувати як прогностичний фактор, оскільки його висока концентрація перед резекцією пухлини корелює зі ступенем важкості та стадією захворювання і може слугувати маркером несприятливого післяопераційного прогнозу. Інформативним є використання цього антигена в якості предиктивного маркера для передбачення відповіді на лікування, зокрема, зменшення його концентрації ≤ 90 Од/мл після резекції корелює з кращою відповіддю на додаткове системне лікування [2].

Згідно з вимогами Європейського товариства медичної онкології (ESMO) діагностичний протокол раку ПЗ передбачає УЗД органів черевної порожнини, ендоскопічну ультрасонографію, комп'ютерну томографію (КТ) із контрастним підсиленням, магнітно-резонансну томографію (МРТ) у поєднанні з магнітно-резонансною холангіопанкреатографією; ендоскопічну ретроградну холангіопанкреатографію (ЕРХПГ) для виключення обструкції жовчевих шляхів, ЕРХПГ зі стентуванням жовчевих шляхів (при неможливості виконання операції). Щодо біопсії, то вона рекомендована лише у випадках неоднозначності результатів візуалізаційних методів.

Додатково до вищезазначених методів, NCCN рекомендує лапароскопію за умови, що величина СА 19-9 ≥ 150 Од/мл, спостерігається малооб'ємний асцит, локалізація пухлини в тілі підшлункової залози, розмір пухлини >3 см, лімфаденопатія в зоні спільної жовчевої протоки [15].

1.3. Рак підшлункової залози та цукровий діабет.

Актуальною проблемою сьогодення є взаємозв'язок злоякісної трансформації панкреатичних клітин із цукровим діабетом. Значна кількість наукових робіт, присвячених цій проблематиці, підтверджують існування такого взаємозв'язку: встановлено, що біля 80 % хворих на рак підшлункової залози страждали порушенням толерантності до глюкози або хворіли на цукровий діабет. Більше того, у пацієнтів на першому році діагностованого цукрового діабету в 16 разів частіше розвивається рак підшлункової залози порівняно зі здоровими людьми [16].

За визначенням Міжнародного Експертного Комітету з діагностики і класифікації цукрового діабету (1997), цукровий діабет – це група метаболічних порушень, що характеризуються гіперглікемією, яка є наслідком дефектів секреції інсуліну, дії інсуліну або поєднання обох цих чинників [17].

У хворих на цукровий діабет визначають рівень глікованого гемоглобіну (HbA1c), який водночас може слугувати маркером для ранньої діагностики раку панкреатичної залози. Доведено, що перевищення референтних значень вмісту глікованого гемоглобіну більше, ніж у 2 рази, провокує інтенсивний розвиток раку підшлункової залози та сприяє розвитку його клінічних симптомів [18].

Зв'язок між раком і цукровим діабетом може бути прямим і непрямим. Прямий полягає в тому, що гіперглікемія може стимулювати біологічні фактори ризику розвитку раку, а непрямий пов'язаний із загальними факторами ризику, зокрема віком, ожирінням, незначною фізичною активністю, дієтою, надмірним вживанням алкоголю, палінням тощо.

Проте взаємозв'язок між раком і цукровим діабетом дещо обмежений. Досить дискусійним є питання щодо ролі гіперглікемії як прямої причини розвитку раку. Гіперглікемію можна розглядати як маркер резистентності до інсуліну та вторинної гіперінсулінемії, що властиво для метаболічного синдрому.

За умов гіперінсулінемії інтенсифікується синтез інсуліноподібного фактора росту 1-го типу (ІФР-1, або соматомедину С) з одночасним послабленням синтезу ІФР-зв'язуючих білків. Як наслідок, зростає рівень вільного ІФР-1, здатного зв'язуватися з рецептором інсуліноподібного фактора росту 1-го типу (ІФР-1Р) [19].

Внаслідок функціональної активації ІФР-1Р відбувається стимуляція сигнальних шляхів мітоген-активованої протеїнкінази (МАРК) і фосфоінозитид-3-кінази (PI3K)-Akt-m-TOR шляхів, сигнальних каскадів, які мають стосунок до дисрегуляції багатьох видів злоякісних пухлин [20].

Окрім того, ІФР-1 разом з гіперінсулінемією знижують експресію естрогеновмісного глобуліну в печінці, таким чином збільшуючи його експозиції в естрогени, що підвищує ризик розвитку раку молочної залози.

Ще одним механізмом взаємозв'язку діабету зі злоякісними новоутвореннями є хронічне запалення під час канцерогенезу. Зростання рівня запальних цитокінів характерне як для цукрового діабету, так і для раку.

Результати деяких досліджень засвідчують, що перебіг злоякісного захворювання у пацієнтів з цукровим діабетом більш несприятливий. Проте невідомо, чи впливає цукровий діабет безпосередньо на смертність від раку чи зумовлює агресивніший перебіг онкозахворювання [7].

1.4. Хронічний панкреатит – предиктор розвитку раку підшлункової залози.

Хронічний панкреатит (ХП) – це прогресуюче запально-дегенеративне, поліетіологічне захворювання.

За умов хронічного панкреатиту спостерігається атрофія ацинарної ділянки підшлункової залози, фіброз, жирове переродження клітин, хронічне запалення та розвиток аномальних проток. У екзокринних ацинарних клітинах підшлункової залози синтезуються гідролази, а у протоках ПЗ секретуються муцини, необхідні для потрапляння секрету панкреатичної залози до тонкого кишечника.

Окрім традиційних клінічних симптомів, таких як біль, недостатність екзокринної функції, цукровий діабет, хронічний панкреатит підвищує ризик розвитку раку підшлункової залози, зокрема, протокової аденокарциноми [21-23].

Рак підшлункової залози має досить невтішний прогноз та негативну динаміку насамперед через пізню діагностику. Понад 90% хворих на рак підшлункової залози діагностують це захворювання тільки на III та IV стадіях, що робить неможливим радикальне оперативне втручання [24].

Авторами [25] встановлено, що з 6942 хворих на рак підшлункової залози тільки 200 (3 %) мали 0 або 1 стадію і тільки 25 % з них мали бодай якісь скарги щодо функціонування травного тракту.

З часу розвитку хронічного панкреатиту до появи злоякісного новоутворення у підшлунковій залозі проходить 10 - 20 років, хоча частота ракової трансформації становить лише 0,1 – 5% [26].

Відомо, що хронічний запальний процес супроводжується злоякісною трансформацією клітин. Патогенез хронічного панкреатиту базується на поєднанні деструкції ацинарної ділянки з прогресуючим хронічним запаленням, що «виливається» у фіброз, атрофію, гіпертензію у протоковій системі панкреатичної залози. Фіброз уражених ділянок органу є провідним у розвитку протокової гіпертензії, оскільки обмежує можливості залози до розширення під час екзокринної секреції та поглинання тиску, який виникає через збільшення об'єму протоки.

Отже, патоморфологічні зміни у хворих на хронічний панкреатит проявляються у комплексі склеротичних, атрофічних та регенеративних процесів.

1.4.1. Біохімія хронічного панкреатиту.

Хронічний панкреатит супроводжується окисним стресом, тобто посиленим продукуванням активних форм кисню (АФК) та активних форм азоту (АФА), які призводять до ушкодження ключових біомолекул клітинних мембран, а також ДНК. У відповідь активується імунна система, внаслідок чого продукується значна кількість цитокінів, хемокінів, які посилюють клітинну проліферацію [27].

Важлива роль у прогресуванні хронічного панкреатиту та клітинній проліферації належить циклооксигеназі -2 (ЦОГ-2), яка індукує утворення простагландинів – медіаторів запалення. Підвищений рівень ЦОГ-2 виявлено за наявності раку ПЗ. У більшості хворих (до 60 %) ракові клітини підшлункової залози посилено секретують ЦОГ-2 [28].

Щодо активації онкогенів, то вона відбувається в тому числі шляхом точкових мутацій та ампліфікації. Практично у всіх хворих на рак панкреатичної залози спостерігали точкові мутації у трьох кодонах гена Kras [29]. Внаслідок точкових мутацій Kras утворюється активна форма gas-протеїна, який у комплексі з ГМФ формує ГТФ-азу, задіяну в багатьох шляхах передачі сигналу. Неконтрольована система внутрішньоклітинних стимулюючих сигналів сприяє неконтрольованій клітинній проліферації та росту клітин. Таким чином мутації онкогена Kras слугують важливою ланкою молекулярного механізму ініціації та прогресії раку підшлункової залози.

Встановлено, що у хворих із хронічним панкреатитом частота мутації гена Kras становить в середньому 13 %, тоді як у пацієнтів з раком підшлункової залози цей відсоток зростає аж до 90, переважаючи цифри при інших формах раку [30].

Показано також, що у 95 % хворих на рак підшлункової залози інактивованний ген p16, внаслідок чого не пригнічується активність цикліну D, а, відповідно, не інгібується ріст злоякісно трансформованих клітин [31].

1.5. Онкомаркери в діагностиці раку підшлункової залози.

Для діагностики раку підшлункової залози використовують біохімічні маркери, зокрема, СА 19–9, СА 50, РЕА, DUPAN2. Найпопулярнішим є СА 19–9, що секретується клітинами панкреатичної залози у випадку її ураження. Цей білковий фактор вважається найважливішим маркером для прогнозу розвитку раку ПЗ у хворих з хронічним панкреатитом. Якщо його вміст у крові становить вище 127 МО/мл, то його чутливість становить більше 85 %, а специфічність зростає до 97 % [32]. Проте, враховуючи не специфічність СА 19–9 для раку підшлункової залози, його не можна вважати скринінговим для даного типу новоутворення. Деякі науковці [33] притримуються думки, що для того, щоб використовувати СА 19–9 у ролі прогностичного маркера розвитку раку підшлункової залози у хворих на хронічний панкреатит, треба,

щоб рівень цього білка в крові перевищував референтні значення більше, ніж у 5 разів.

У 2017 був запропонований новий біохімічний прогностичний онкомаркер – протеїн тромбоспондин – 2 (THBS2), який проявляє високу ефективність для ранньої діагностики у комплексі з СА 19–9 [34].

Окрім описаних вище білкових маркерів у сучасній науковій літературі є відомості про циркулюючі мікроРНК, що вивільняються в кров у значних кількостях злоякісно трансформованими клітинами. Серед них найбільш дослідженими є РПЗ є miR-21 та miR-155. Високий титр miR-21 та miR-155 корелює із найважчим перебігом раку підшлункової залози. Встановлено, що пригнічення експресії miR-21 та miR-155 зупиняє клітинний цикл у G1-періоді інтерфази, індукує апортом, корелює зі збільшенням відсотка виживаності та сприяє підвищенню ефективності хіміотерапії [35].

Отже, опираючись на зроблений нами огляд літератури, можна зробити висновок про тісний взаємозв'язок між розвитком раку підшлункової залози та наявністю у пацієнтів цукрового діабету та хронічного панкреатиту. Молекулярні механізми цього взаємозв'язку описані нами в цьому огляді, проте вони далеко невичерпні, оскільки результати новітніх досліджень відкривають сотні нових механізмів малігнізації клітин.

Методи досліджень

Робота виконувалась на базі Буковинського клінічного онкологічного центру.

Нами проаналізовано 20 історій хвороби пацієнтів, хворих на рак підшлункової залози без ознак цукрового діабету, та 15 історій хвороби пацієнтів, хворих на рак підшлункової залози із супутнім цукровим діабетом. Таким чином нами узагальнено результати біохімічних аналізів 35 хворих на рак підшлункової залози, які перебували на лікуванні в стаціонарі Буковинського клінічного онкологічного центру впродовж 2022 року. Середній вік пацієнтів – 50-55 років. Для дослідження сформовані дві групи: I – хворі на рак підшлункової залози без ознак цукрового діабету; II – хворі на рак підшлункової залози із супутнім цукровим діабетом.

Лабораторна діагностика глікемії. У клінічній практиці для виявлення глікемії використовують вимірювання концентрації глюкози в крові натще після 8-годинного голодування або тест толерантності до глюкози – 2-3-разове вимірювання концентрації глюкози в крові з 30-60 хвилинним інтервалом після вуглеводного навантаження.

Тест толерантності до глюкози надає можливість встановити порушення толерантності тканин до глюкози. Тест доцільно проводити зранку натще. Напередодні необхідно дотримуватися спеціального режиму – уникати будь-яких фізичних навантажень, вживання алкоголю та паління, а також харчових продуктів та медичних препаратів, які стимулюють зростання рівня глюкози в крові (адреналін, кофеїн, глюкокортикоїди тощо).

Суть досліджень полягає в тому, що пацієнту пропонують випити 75 грамів розчину чистої глюкози. Визначення концентрації глюкози в крові проводять двічі з годинним інтервалом після споживання розчину глюкози. Референсні значення концентрації глюкози повинні бути меншими за 7,8 ммоль/л через дві години після вживання глюкози. У випадку коливання вмісту глюкози в межах 7,8-11 ммоль/л стан хворого розцінюється як «пору-

шення толерантності до глюкози (переддіабет)». Якщо ж через дві години від початку тесту концентрація глюкози перевищує 11 ммоль/л, то можна говорити про діагноз «діабет».

Однак, як одноразове визначення глюкози в крові, так і тест толерантності до глюкози надають можливість оцінити рівень глікемії лише на момент часу, коли проводився забір крові.

Для оцінки рівня глікемії впродовж тривалішого періоду (приблизно 120 діб) доцільно визначити рівень глікованого гемоглобіну (HbA_{1c}), який прямо пропорційно залежить від концентрації глюкози в крові. Норма в середньому не повинна перевищувати 5,9 % від загального вмісту гемоглобіну.

Підвищення відсотка HbA_{1c} свідчить про стабільне підвищення вмісту глюкози в крові впродовж трьох останніх місяців [17].

У таблиці 1 наведені дані відповідності між вмістом HbA_{1c} та рівнем глюкози у плазмі крові.

Таблиця 1

HbA _{1c} (%)	вміст глюкози ммоль/л
6	7,5
7	9,5
8	11,5
9	13,5
10	15,5
11	17,5
12	19,5

Рівень глюкози в крові може сильно варіювати в залежності від фізіологічних станів і патологічних процесів. Хоча визначення концентрації глюкози в цільній крові, плазмі або сироватці є обов'язковим лабораторним

тестом в діагностиці цукрового діабету та переддіабетичних станів, воно не надає повної інформації про характер захворювання. Розрізняють 2 типи цукрового діабету, які характеризуються підвищеним вмістом сироваткової глюкози натще.

У клінічній лабораторії визначають ще вміст інсуліну та розраховують індекс інсулінорезистентності (HOMA-IR – Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance).

У випадку цукрового діабету першого типу (інсулінозалежний), який характеризується нестачею інсуліну внаслідок недостатності його секреції підшлунковою залозою через пошкодження β -клітин острівців Лангерганса, у сироватці крові виявляється високий рівень глюкози та низький рівень інсуліну.

Діабет другого типу (інсулінонезалежний) зумовлений втратою чутливості клітин до інсуліну, що призводить до порушення транспорту глюкози в клітини скелетних м'язів та жирової тканини. Як правило, такий стан супроводжується компенсаторним зростанням рівня інсуліну в крові, що викликає інсулінову токсичність, але не знижує рівня глюкози в крові, внаслідок чого зростає показник HOMA-IR.

Якщо рівень глюкози в крові перевищує значення 7 ммоль/л, то існує висока ймовірність наявності цукрового діабету.

Референсні значення рівня інсуліну в сироватці натще знаходяться в межах 2,6-24,9 мкОд/мл та HOMA-IR $\leq 3,0$

Глюкозооксидазний метод визначення глюкози в біологічних рідинах – найпоширеніший в клінічній лабораторній діагностиці.

Принцип методу оснований на здатності глюкози до окиснення киснем повітря в присутності глюкозооксидази до глюконової кислоти та гідроген пероксиду, який у свою чергу в присутності пероксидази реагує з фенолом та 4-амінофеназоном, утворюючи хінонімін червоно-фіолетового кольору, інтенсивність якого пропорційна до кількості глюкози в зразку.

Референсні значення: сироватка, плазма: 4,22 – 6,11 мМоль/л; капілярна кров: 3,38 – 5,55 мМоль/л; сеча: не більше 1,1 мМоль/л.

Хід визначення. У пробірку, де буде холоста проба, вносимо 0,2 мл фізіологічного розчину. У другу пробірку вносимо 0,2 мл сироватки. У пробірку, де буде калібрувальна проба, вносимо 0,2 мл калібрувального розчину. У кожену пробірку вносимо по 1,0 мл буферного розчину, 1,0 мл розчину ензимів. Штатив з пробірками поміщаємо у термостат на 12 хвилин для інкубації. Після завершення інкубації бачимо, що рідина змінила своє забарвлення. Екстинкцію розчинів вимірюємо на ФЕКу при довжині хвилі в діапазоні 510 нм при зеленому світлофільтрі.

Концентрацію глюкози розраховуємо за формулою: $C = (E_{\text{досл.}} / E_{\text{кал.}}) * K * 10$, де C – концентрація глюкози в дослідній пробі, ммоль/л; 10 – концентрація глюкози в калібрувальному розчині, ммоль/л; $E_{\text{досл.}}$ – оптична щільність дослідної проби, од. опт. щільності; $E_{\text{кал.}}$ – оптична щільність калібрувальної проби, од. опт. щільності; K – коефіцієнт розведення (1) [36].

Рівень інсуліну визначають імуноферментним методом.

Визначення активності амінотрансфераз. Ензими АлТ і АсТ – це індикаторні ензими, які у клініці використовують як біохімічні маркери порушення проникності плазматичних мембран гепатоцитів. У клініко-діагностичних цілях використовують не тільки абсолютні величини метаболічних показників, а й їхні співвідношення. Використання коефіцієнтів дає можливість оцінити метаболічний стан, діагностувати різні порушення без врахування фактора індивідуальних коливань. Одним із них є коефіцієнт де Рітіса – співвідношення активностей АсТ/АлТ у сироватці крові. У нормі він дорівнює $1,34 \pm 0,4$. АлТ локалізується тільки в цитозолі гепатоцитів, а АсТ – ще й в мітохондріях. У цитозолі концентрація АлТ вища за АсТ. Тому при захворюваннях з первинним ураженням клітинних мембран, наприклад, при різних запальних процесах, у кров виходить більше АлТ, ніж АсТ. У цьому випадку коефіцієнт де Рітіса буде меншим від 1. За умов цитолізу гепатоци-

тів у кров виходять також мітохондріальні трансамінази, а тому АсТ переважатиме, і коефіцієнт де Рітіса буде вищий, ніж референсні значення [37].

Ензими АлТ і АсТ каталізують оборотні реакції трансамінування відповідно L-аланіну та аспартату з утворенням пірувату, оксалоацетату та глютаму:

АлТ: L-аланін + α -кетоглутарат $\leftrightarrow$ піруват + L-глютамат.

АсТ: L-аспартат + α -кетоглутарат $\leftrightarrow$ оксалоацетат + L-глютамат

Визначення активності АлТ у сироватці крові проводили з використанням діагностичного набору фірми «СпайнЛаб» (Україна) відповідно до інструкції виробника.

Принцип методу базується на реакції трансамінування α -кетоглутарату та аланіну за участю АлТ, утворюючи при цьому глютамат і піруват.

Вимірювання екстинкції 2,4-динітрофенілгідразонів α -кетоглутарату та пірувату здійснювали в лужному середовищі. Оскільки гідразон пірувату має більший коефіцієнт молярної екстинкції, то виявляється прямо пропорційна залежність оптичної густини реакційного розчинника від активності ензиму.

Хід визначення.

Відміряти, мл	Дослідна проба	Контрольна (холоста) проба	Контрольна проба на сироватку
Реагент 1, мл	0,25	0,25	0,25
Змішати, інкубувати 5 хв при 37°C на водяній бані, додати			
Сироватка крові, мл	0,05	-	-
Дистилят, мл	-	0,05	-
Змішати та інкубувати 30 хв при 37°C. на водяній бані, додати			
Реагент 2, мл	0,25	0,25	0,25
Сироватка крові, мл	-	-	0,05
Змішати та інкубувати 20 хв при кімнатній температурі, додати			
Реагент 3, мл	2,5	2,5	2,5
Змішати та інкубувати 5 хв при кімнатній температурі			

Вимірювали екстинкцію дослідного зразка (E_1) і контрольного зразка на сироватку (E_2) навпроти холостої проби. Референсні величини АлТ в сироватці крові жінок – до 31 Од/л, чоловіків – 45 Од/л.

Визначення активності АсТ методом Райтмана-Френкеля.

Внаслідок переамінування α -кетоглутарату L-аспартатом за участю АсТ утворюється L-глутамат та оксалоацетат, який самовільно декарбоксилюється з утворенням пірувату [38].

Принцип методу оснований на вимірюванні екстинкції 2,4-динітрофенілгідразонів α -кетоглутарату та пірувату в лужному середовищі. Оскільки гідразон ПВК має вищий коефіцієнт молярної екстинкції, то екстинкція реакційного розчинника прямо пропорційна до активності ензиму. Схема проведення аналізу в таблиці:

у пробірці, мл	Макроаналіз	
	Дослідна	Холоста
Субстратно-буферний розчин	0,04	0,04
Інкубують 3 хв при 37°C на водяній бані, додають		
Стоп-реагент	-	0,04
Сироватка крові	0,08	0,08
Інкубують 60 хв при 37°C на водяній бані, додають		
Стоп-реагент	0,04	-
Витримують 20 хв при кімнатній температурі та додають		
Розчин гідроксиду натрію	4,00	4,00
Інкубують 10 хв при кімнатній температурі. Вимірюють екстинкцію дослідної проби навпроти холостої. Розрахунок активності ензиму проводять за калібрувальною кривою.		

Референс АсТ для жінок – до 31 Од/л, чоловіків – 47 Од/л.

Визначення вмісту білірубіну в сироватці крові за методом Йєндрашека. Принцип методу: продукт реакції сульфанілової кислоти з азотистокислим натрієм – діазофенілсульфонова кислота, реагуючи з білірубінном сироватки крові формує рожево-фіолетове забарвлення, інтенсивність якого пропорційна кількості білірубіну [39].

Визначення активності α -амілази в крові амілокластичним методом Каравея. Принцип методу. α -амілаза гідролізує розщеплення крохмалю з утворенням кінцевих продуктів. Про активність α -амілази судять за зменшенням концентрації субстрату.

Біологічний матеріал. Сироватка крові. Сеча профільтрована і розведена дистиллятом 1:10. Колориметрування проводять при довжині хвилі 590-690 нм при червоному світлофільтрі в кюветі товщиною 10 мм проти дистилляту.

Розрахунок. Активність α -амілази виражають в грамах крохмалю, гідролізованого 1 л біологічної рідини за 1 годину інкубації при 37° С. Розрахунок проводять за формулою :

Активність α -амілази, г/год·л = $[(E_{\text{хол.}} - E_{\text{досл.}}) \cdot 160 \cdot K] / E_{\text{хол.}}$, де $E_{\text{хол.}}$ – екстинкція холостої проби, $E_{\text{досл.}}$ – екстинкція дослідної проби, 160 – коефіцієнт перерахунку на кількість крохмалю в пробі, гідролізованого біологічною рідиною в об'ємі 1 л за 1 годину інкубації, K – коефіцієнт розведення біорідини (10 – для сечі і 100 – для інших біорідин).

Норма в сироватці крові становить 12 – 32 г / год·л ; у сечі – 20 – 160 г / год·л [39].

Розділ III

Результати та їх обговорення

У 2022 році в Буковинському онкологічному центрі серед інших онкохворих переважають хворі на рак підшлункової залози. Тому для дослідження ми обрали пацієнтів саме з цим захворюванням.

Відомо, що рак підшлункової залози характеризується надзвичайно високим ступенем агресивності, що проявляється у швидкому рості та інтенсивній інфільтрації сусідніх органів.

Актуальною проблемою сьогодення є взаємозв'язок злоякісної трансформації панкреатичних клітин із цукровим діабетом. Значна кількість наукових робіт, присвячених цій проблематиці, підтверджують існування такого взаємозв'язку: встановлено, що біля 80 % хворих на рак підшлункової залози страждали порушенням толерантності до глюкози або хворіли на цукровий діабет [16].

Серед пацієнтів Буковинського онкоцентру з неоплазмою підшлункової залози ми відокремили групу тих, які госпіталізовані із супутнім діагнозом цукрового діабету, на тлі якого, очевидно, і розвинувся рак підшлункової залози.

Біохімічний аналіз крові показав, що середній рівень глюкози натще у досліджуваної вибірки пацієнтів розподілявся наступним чином. У хворих на рак підшлункової залози, госпіталізованих без діагнозу «цукровий діабет», рівень глюкози в сироватці крові знаходився в межах референсних величин і становив в середньому 5,5 ммоль/л, тоді як у групи хворих із супутнім цукровим діабетом середній рівень глюкози в крові перевищував верхню межу норми більше, ніж удвічі, сягаючи 14 ммоль/л (рис.1).

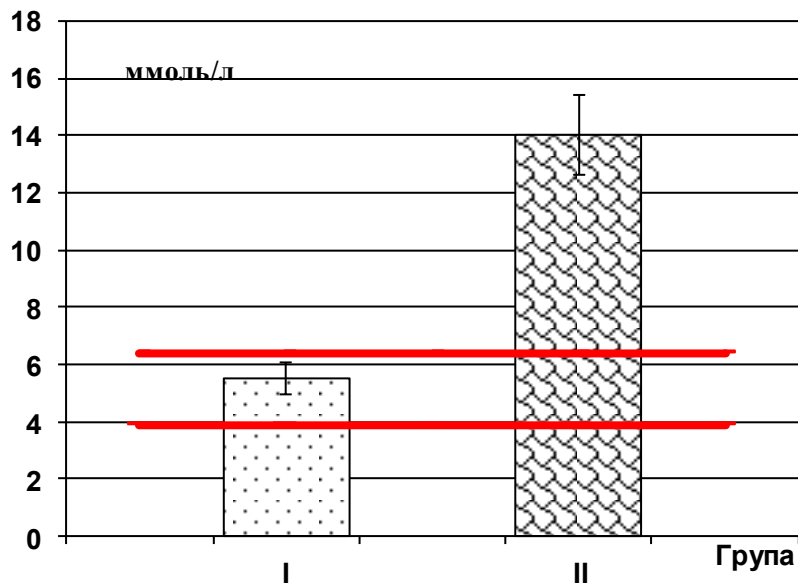


Рис.1. Рівень глюкози в сироватці крові хворих на рак підшлункової залози

Примітка:

Група I – хворі на рак підшлункової залози без ознак цукрового діабету

Група II – хворі на рак підшлункової залози з супутнім цукровим діабетом

Діагноз цукрового діабету виставлений онкохворим пацієнтам із підвищеним рівнем глюкози ще до госпіталізації в онкоцентр. Однак, підвищений рівень глюкози в крові – не єдиний критерій для такого діагнозу, оскільки цей показник надто мінливий та характеризує стан глікемії на момент забору крові для аналізу.

Значно стабільнішим та об'єктивнішим біохімічним показником вважається рівень глікованого гемоглобіну. Глікований гемоглобін утворюється внаслідок неферментативного глікування, а саме при конденсації глюкози з кінцевим валіном β -ланцюга молекули гемоглобіну. Такий асоціат глюкози з гемоглобіном існує протягом всього життя еритроцитів, а саме 100-120 діб. Це дає право за рівнем глікованого гемоглобіну судити про рівень глікемії за довготривалий проміжок часу (100-120 діб), тобто оцінювати стан хронічної гіперглікемії. У нормі його кількість знаходиться в межах 5-7% від усього гемоглобіну. Цей показник характеризується значно меншою варіабельністю

порівняно з показником рівня глюкози, оскільки не залежить від аліментарних чи емоційних факторів, прийому лікарських препаратів, стресу тощо.

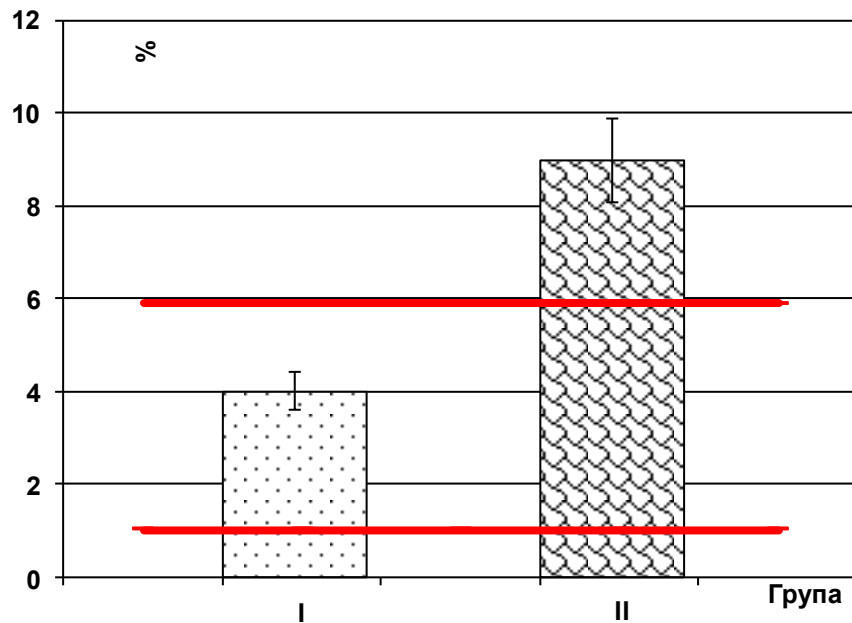


Рис. 2. Вміст глікованого гемоглобіну в крові хворих на рак підшлункової залози

Примітка:

Група I – хворі на рак підшлункової залози без ознак цукрового діабету

Група II – хворі на рак підшлункової залози з супутнім цукровим діабетом

За даними рис. 2 можна констатувати пряму залежність підвищеного рівня глікованого гемоглобіну (1,5 рази) з підвищеним рівнем глюкози в крові в пацієнтів II групи (рис.1). Очевидно, що комплексний аналіз описаних вище біохімічних маркерів вуглеводного обміну засвідчує суттєве його порушення і дає право говорити про діагноз «цукровий діабет» для вибірки хворих II групи. в пацієнтів II групи

Ймовірно, що саме цукровий діабет врешті-решт призвів до розвитку раку підшлункової залози.

Доведено, що перевищення референсних значень вмісту глікованого гемоглобіну більше, ніж у 2 рази, провокує інтенсивний розвиток раку підшлункової залози та сприяє розвитку його клінічних симптомів [18].

Нажаль рак підшлункової залози на ранніх стадіях практично неможливо діагностувати. Діагноз раку ПЗ встановлюють в основному через 6 місяців після появи перших симптомів, тому на момент діагнозу 80 % хворих вже мають метастази.

Зазвичай у хворих на рак ПЗ зміни клініко-біохімічних показників крові досить неспецифічні. На початкових стадіях захворювання вони, як правило, в нормі. На пізніших стадіях захворювання приблизно у 50% хворих проявляються симптоми холестазу, серед яких найхарактернішою є пряма гіпербілірубінемія [2].

Біохімічний аналіз крові досліджуваних груп пацієнтів онкоцентру засвідчив, що рівень загального сироваткового білірубіну у I та II груп хворих перевищував верхню межу норми в 5,0 та 3,6 рази відповідно (рис.3), тобто в обох групах відмічалася значно виражена гіпербілірубінемія.

Відомо, що 85 % білірубіну утворюється внаслідок розпаду відпрацьованих еритроцитів під час розпаду гему гемоглобіну. Решта білірубіну – це наслідок руйнування інших гемовмісних сполук, зокрема, цитохромів, міоглобіну. Саме тому білірубін відносять до гемоглобіногенних пігментів.

Стосовно руйнування еритроцитів, то цей процес здійснюється в основному в печінці, селезінці та кістковому мозку. За добу в організмі людини утилізується приблизно 1% еритроцитів, внаслідок чого утворюється до 300 мг білірубіну. Це означає, що цей пігмент виявляється в крові і в нормі, проте у незначних кількостях.

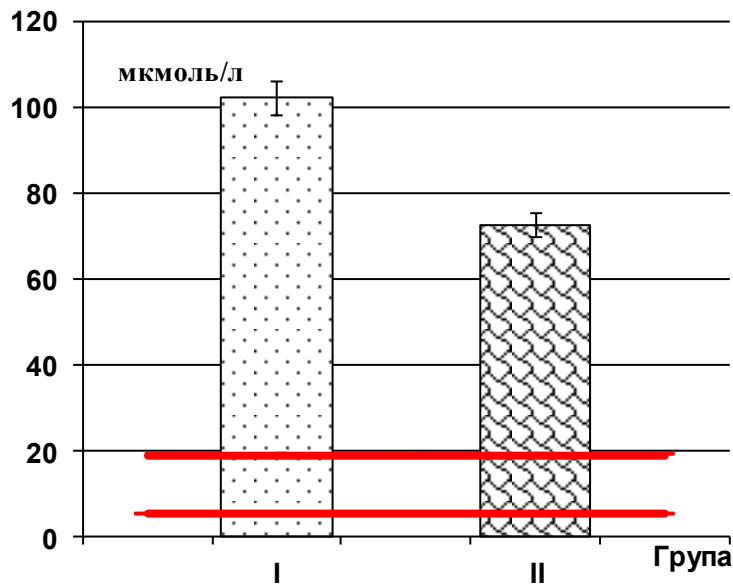


Рис.3. Вміст загального білірубіну в сироватці крові хворих на рак підшлункової залози

Примітка:

Група I – хворі на рак підшлункової залози без ознак цукрового діабету

Група II – хворі на рак підшлункової залози з супутнім цукровим діабетом

Причини підвищення вмісту білірубіну в крові можуть бути найрізноманітнішими. А тому для з'ясування генезу білірубінемії інформативним є показник рівня прямого білірубіну. Прямий, або кон'югований, зв'язаний білірубін утворюється в печінці шляхом кон'югації з глюкуроновою кислотою, що необхідно для його знешкодження та виведення з організму.

Результати біохімічного аналізу крові досліджуваних нами груп хворих засвідчили зростання кількості прямого білірубіну, зокрема, у сироватці крові хворих I групи перевищення верхньої межі норми становило 12,3 рази, у II групи досліджуваний показник перевищував референсні значення у 8,2 рази (рис.4).

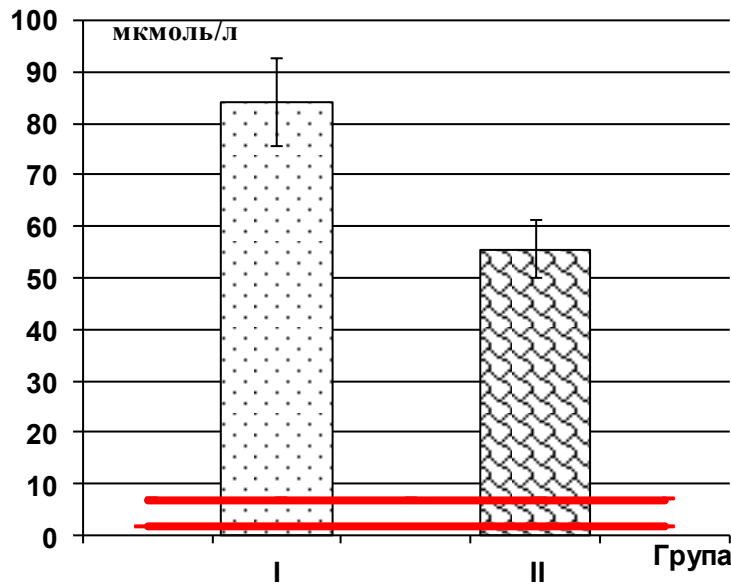


Рис. 4. Вміст прямого білірубину в сироватці крові хворих на рак підшлункової залози

Примітка:

Група I – хворі на рак підшлункової залози без ознак цукрового діабету

Група II – хворі на рак підшлункової залози з супутнім цукровим діабетом

Основними причинами підвищення рівня прямого білірубину в крові є захворювання жовчовивідних шляхів з порушенням відтоку жовчі, а також захворювання підшлункової залози. Це може призводити до розвитку жовтяниці, а також проявлятися у вигляді гострих болів у правому підребер'ї, свербінні шкіри, нудоти, блювоти, зниженні апетиту, періодичного здуття живота, діареї або закріпів, темного кольору сечі [40].

Саме такі симптоми переважали у досліджуваних нами хворих на рак підшлункової залози.

Слід зауважити, що цукровий діабет не виступає в ролі фактора, що провокує гіпербілірубінемію в цілому та пряму зокрема. Про це свідчать результати, подані на рис. 3-4. З рисунків видно, що середній рівень гіпербілірубінемії вищий у хворих I групи, у яких відсутні ознаки цукрового діабету. Можливо, у цих хворих предиктором розвитку раку підшлункової залози

став гострий чи хронічний панкреатит чи інші захворювання, для яких характерний холестаз.

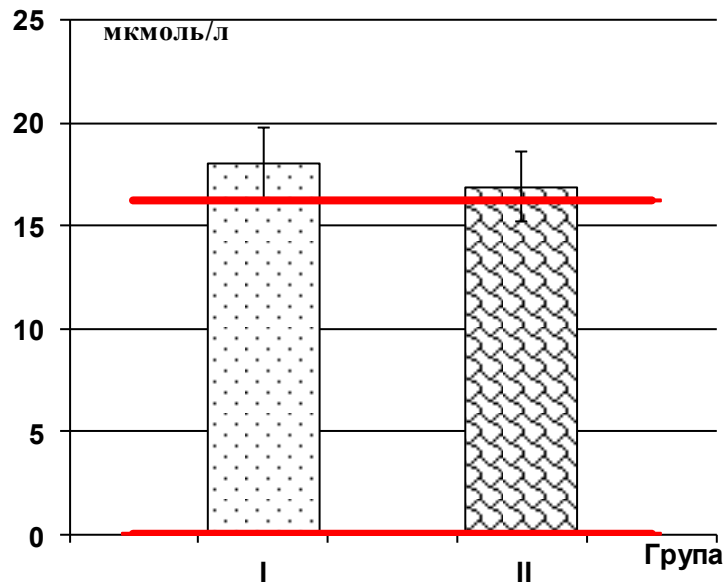


Рис. 5. Вміст непрямого білірубіну в сироватці крові хворих на рак підшлункової залози

Примітка:

Група I – хворі на рак підшлункової залози без ознак цукрового діабету

Група II – хворі на рак підшлункової залози з супутнім цукровим діабетом

Щодо непрямого білірубіну, то даний показник знаходиться у межах референсних величин в обох досліджуваних групах.

Отже, загальна гіпербілірубінемія зумовлена лише зростанням рівня прямого білірубіну.

Відомо, що білірубін у високих концентраціях токсичний, особливо для клітин головного мозку. Тому він підлягає знешкодженню у печінці. Внаслідок того, що білірубін має гідрофобні властивості його транспорт до печінки здійснюється альбуміном крові, який відокремлюється від білірубіну в печінці. Детоксикація білірубіну здійснюється в ендоплазматичному ретикулумі гепатоцитів шляхом кон'югації з глюкуроновою кислотою з утворенням білірубін-глюкуроніду. Білірубін-глюкуронід потрапляє у жовч, звідти в кишеч-

ник, де ензими мікрофлори відщеплюють глюкуронову кислоту, перетворюючи білірубін на стеркобіліноген, який надалі виводиться з кишечника, окислюючись на повітрі до стеркобіліну [41].

Очевидно, печінка, як основний компенсаторний орган, намагаючись відновити гомеостаз в організмі, посилено трансформує білірубін, проте рак підшлункової залози, який метастазує в усі органи, не дає можливості вивести з організму утворений кон'югат.

Щодо впливу цукрового діабету на протікання раку підшлункової залози, то тут існують різні думки. Результати деяких досліджень засвідчують, що перебіг злоякісного захворювання у пацієнтів з цукровим діабетом більш несприятливий. Проте невідомо, чи впливає цукровий діабет безпосередньо на смертність від раку чи зумовлює агресивніший перебіг онкозахворювання [7].

Підшлункова залоза має тісний функціональний взаємозв'язок з печінкою. Тому патологічні зміни в підшлунковій залозі викликають певні негативні зміни в печінці. Для оцінки глибини цих змін призначають печінкові проби, найчастіше – це ензими переамінування амінокислот (АлТ і АсТ).

Аланінамінотрансфераза та аспартатамінотрансфераза – це внутрішньоклітинні індикаторні ензими, задіяні в обміні амінокислот. Їх концентрація в клітинах значно вища, ніж в сироватці, тому в нормі тільки незначна кількість виявляється в крові.

Оскільки процеси переамінування амінокислот найінтенсивніше відбуваються в печінці, то АлТ і АсТ кількісно переважають саме в гепатоцитах. АлТ локалізується у цитозолі гепатоцитів, і при порушенні проникності мембран надходить у кров. АсТ локалізується як в цитозолі (менша кількість порівняно з АлТ), так і в мітохондріях. Тому при порушенні проникності клітинних мембран у кров надходить тільки цитозольна фракція АсТ, а при цитолізі у крові виявляється і мітохондріальна форма АсТ.

Тому показники ензиматичної активності АлТ і АсТ – надійний біохімічний критерій для оцінки структурно-функціонального стану гепатоцитів і печінки в цілому.

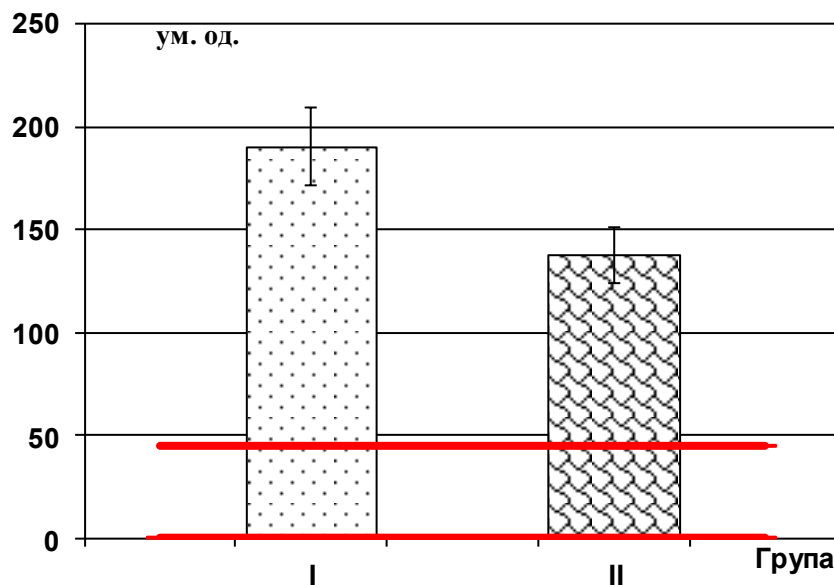


Рис. 6. Аланінамінотрансферазна активність у сироватці крові хворих на рак підшлункової залози

Примітка:

Група I – хворі на рак підшлункової залози без ознак цукрового діабету

Група II – хворі на рак підшлункової залози з супутнім цукровим діабетом

На рис. 6 подані результати аналізу крові щодо активності АлТ, які засвідчують, що в обох досліджуваних групах рівень активності даного ензиму перевищує допустимі межі у 4,2 рази у I групи і в 3 рази – у II групи. Ймовірно, це зумовлено більшим ступенем пошкодження гепатоцитів і підвищенням проникності клітинних мембран у хворих на рак підшлункової залози без ознак цукрового діабету.

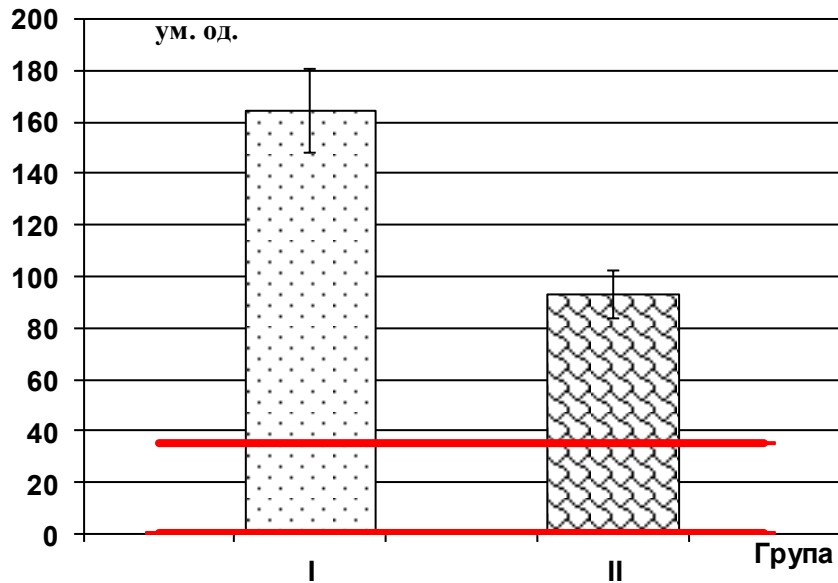


Рис.7. Аспартатамінотрансферазна активність у сироватці крові хворих на рак підшлункової залози

Примітка:

Група I – хворі на рак підшлункової залози без ознак цукрового діабету

Група II – хворі на рак підшлункової залози з супутнім цукровим діабетом

Аналогічні тенденції щодо рівня активності АсТ. В обох дослідних групах показники активності АсТ перевищують допустимі норми у 4,6 рази у I групи та в 2,7 рази – у II групи (рис.7), що ще раз підтверджує пошкодження гепатоцитів. Зауважимо, що рівень обох індикаторних ензимів у сироватці крові вищий у I групи хворих.

Для встановлення глибини пошкодження гепатоцитів слід визначити коефіцієнт де Рітиса, тобто співвідношення величин АсТ до АлТ. Для I групи він становить 0,9, а для II групи – 0,7 (рис. 8).

За величиною коефіцієнта де Рітиса можна стверджувати, що пошкодження гепатоцитів стосуються тільки підвищення проникності клітинних мембран. Той факт, що коефіцієнт де Рітиса менший від 1, означає, що в кровоплин надходить лише цитозольна форма АсТ, а мітохондрії залишаються

неушкодженими, тобто не відбувається цитолізу гепатоцитів у жодній із досліджуваних груп.

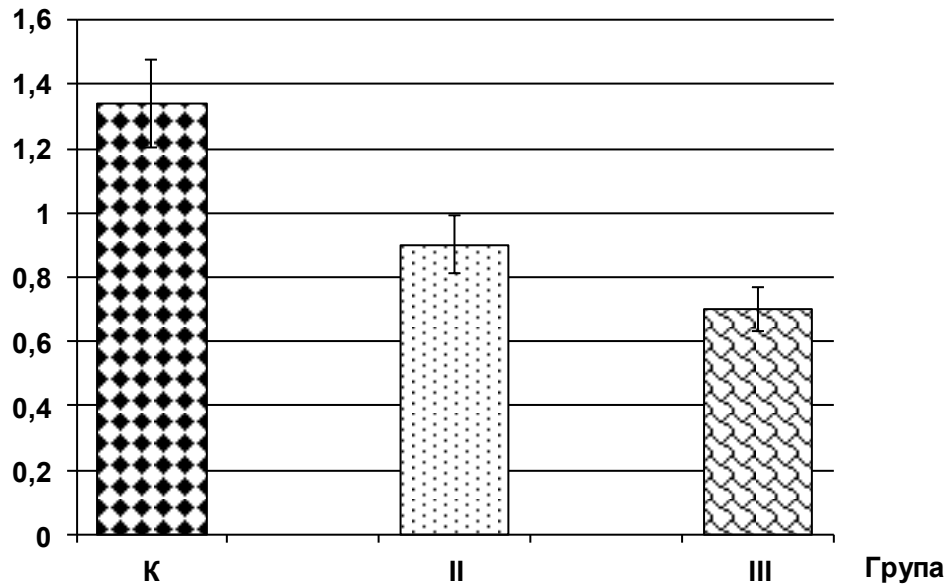


Рис. 8. Величина коефіцієнта де Рітиса

Примітка:

К – показник норми

Група II – хворі на рак підшлункової залози без ознак цукрового діабету

Група III – хворі на рак підшлункової залози з супутнім цукровим діабетом

Отже, у клітинах печінки досліджуваних груп хворих не спостерігається деструктивних змін, що, очевидно, пояснює встановлений нами факт посиленого виконання гепатоцитами компенсаторної функції щодо трансформації токсичного білірубін у малотоксичну, водорозчинну фракцію білірубін-глюкуроніду (рис.3-4).

Отже, аналіз отриманих результатів неспецифічних для раку підшлункової залози біохімічних маркерів функціонально-структурного стану органів гепато-біліарної системи, дає право констатувати ураження печінки, жовчового міхура та жовчевивідних проток у хворих обох досліджуваних груп без впливу цукрового діабету на ступінь вираженості ознак ушкодження.

Слід відзначити, що показники функціонального стану нирок – креатинін, сечовина – в усіх досліджуваних хворих знаходилися в межах референсних величин.

Характерним специфічним біохімічним маркером функціонального стану підшлункової залози є панкреатична альфа-амілаза.

Альфа-амілаза продукується екзокринними клітинами підшлункової залози і в нормі секретується в тонкий кишечник, де бере участь у процесі травлення харчових полісахаридів, гідролізуючи 1,4-глікозидні зв'язки.

Відомо, що при деяких патологіях підшлункової залози ензим потрапляє у внутрішню лімфатичну систему підшлункової залози і перитонеальну порожнину. Через судини амілаза надходить у загальний кровообіг. Дуже високий вміст даного ензиму в крові спостерігається протягом 12 годин від початку захворювання і практично нормалізується через 48-72 години після ліквідації причин обструкції. За умов персистуючого панкреатиту чи псевдокисті значення рівня амілази залишаються високими тривалий час [42].

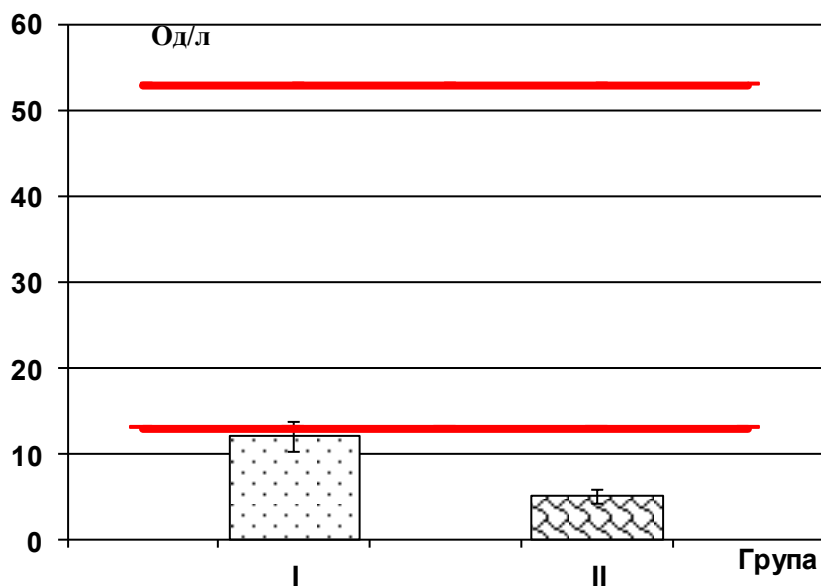


Рис. 9. Активність панкреатичної амілази в сироватці крові хворих на рак підшлункової залози

Примітка:

Група I – хворі на рак підшлункової залози без ознак цукрового діабету

Група II – хворі на рак підшлункової залози з супутнім цукровим діабетом

З рис. 9 видно, що рівень активності панкреатичної амілази у сироватці крові досліджуваних груп хворих знижений, зокрема, у II групи хворих він в середньому в 2,5 рази нижче норми і 2,4 рази нижчий від показника I групи хворих, що свідчить про більший ступінь деструктивних змін у підшлунковій залозі, які, ймовірно, спровоковані цукровим діабетом.

Зниження рівня активності амілази в сироватці крові хворих на рак підшлункової залози корелює із глибиною ушкодження органу та вказує на пізні стадії раку, оскільки відомо, що якщо рак розвивається до третьої-четвертої стадії, коли велика частина підшлункової залози руйнується і замінюється тканиною неоплазми, рівень амілази в крові різко знижується.

Отже, результати біохімічного аналізу, проведені в онкоцентрі, дозволяють зробити висновок, що у хворих на рак підшлункової залози із супутнім цукровим діабетом тригером структурно-функціональних порушень гепато-біліарної системи можна вважати рак підшлункової залози, тоді як цукровий діабет здійснював вплив лише на ступінь деструктивних змін у самій панкреатичній залозі, що відображалось на здатності реалізувати екзокринну функцію.

Висновки

1. На основі проведеного комплексного аналізу біохімічних маркерів вуглеводного обміну, якими є концентрація глюкози та рівень глікованого гемоглобіну, можна констатувати тривалу гіперглікемію та діагностувати цукровий діабет у хворих II групи.
2. Встановлена «пряма» гіпербілірубінемія в сироватці крові хворих на рак підшлункової залози обох досліджуваних груп свідчить про порушення функціональної активності біліарної системи. Цукровий діабет не виступав тригером для розвитку гіпербілірубінемії.
3. Результати аналізу активності індикаторних ферментів АлТ та АсТ у сироватці крові дають підстави стверджувати про підвищення проникності клітинних мембран гепатоцитів без цитолітичних змін у печінці досліджуваних груп хворих.
4. Отже, на основі результатів аналізу біохімічних маркерів функціонально-структурного стану органів гепато-біліарної системи можна констатувати їх ураження у хворих на рак підшлункової залози без впливу цукрового діабету на ступінь вираженості ознак ушкодження.
5. Встановлений у групи хворих на рак підшлункової залози із супутнім цукровим діабетом значно нижчий рівень активності панкреатичної амілази у сироватці крові порівняно з I групою свідчить про більший ступінь деструктивних змін у підшлунковій залозі, що може бути спровоковано цукровим діабетом.

Підсумок.

Отже, результати біохімічного аналізу, проведені в онкоцентрі, дозволяють підсумувати, що у хворих на рак підшлункової залози із супутнім цукровим діабетом тригером структурно-функціональних порушень гепато-

біліарної системи можна вважати рак підшлункової залози, тоді як цукровий діабет здійснював вплив лише на ступінь деструктивних змін у самій панкреатичній залозі, що відображалося на здатності реалізувати екзокринну функцію.

Список використаних інформаційних джерел

1. Warshaw A.L., Fernzndes Del Castillo C. Pancreatic carcinoma. *N. Engl. J. Med.* 1992. V. 326. No 7. P. 455-465. Doi: 10. 1056/negm199202133260706
2. <https://empendium.com/ua/manual/chapter/B72.III.H.5.1>.
3. Білинський Б.Т. Медичні помилки в онкології. Львів: Афіша, 2013. 324с. <https://www.twirpx.com/file/1832133/>
4. https://new.meduniv.lviv.ua/uploads/repository/kaf/kaf_oncology_fpge/
5. Janket S.J., Manson J.E., Sesso H. et al. A prospective study of sugar intake and risk of type 2 diabetes in women. *Diabetes Care*. 2003. No 26. P. 1008–1015.
6. <https://vista-mediclub.com/novosti/3764-rak-ta-cukrovij-diabet-chi-e-schos-spilne>
7. Шепіль О.В., Висоцький А.Г., Сивак Л.А. Протипухлинна терапія хворих на цукровий діабет.
<https://www.clinicaloncology.com.ua/article/19918/protipuxlinna-terapiya-xvorix-na-cukrovij-diabet>
8. <https://unimed.zp.ua/ua/laboratornye-issledovaniya-ispolzuyushhiesya-dlya-otsenki-funktsii-podzheludочноj-zhelezy/>
9. https://new.meduniv.lviv.ua/uploads/repository/kaf/kaf_oncology_fpge/
10. Beger H., Warshaw A., Büchler M. An Integrated Textbook of Basic Science, Medicine and Surgery. *Blackwell Publishing Limited*. Massachusetts, US, 2008. 1006 p.
11. Blumgart's Surgery of the Liver, Biliary Tract, and Pancreas / Editor In-Chief W. R. Jarnagin. – 6-th ed. – Elsevier, 2017. – 2401 p.
12. Modern Concepts in Pancreatic Surgery / Ed. S. W. Behrman. 2013. 739 p.

13. Neoptolemos J., Urrutia R., Abbruzzese J., Büchler M. Pancreatic Cancer. 2nd ed. Springer, 2019. 1661 p.
14. Безродний Б. Г., Колосович І. В., Слободяник В. П., Петренко О. М., Філатов М. С. Гострий канцероматозний панкреатит у хворих на рак головки підшлункової залози, ускладнений механічною жовтяницею. *Хірургія України*. 2019. № 2. С. 59-65.
15. Цюпа І. Рак підшлункової залози: стан проблеми та перспективні напрями терапії. *Здоров'я України. Тематичний номер*. 2021. Т.2. №69. С. 30-31.
16. Dankner R., Freedman L. S. et. al. Newly diagnosed type 2 diabetes may serve as a potential marker for pancreatic cancer. *Diabetes / Metabolism Research and Reviews*. 2018. Doi: 10.1002/dmrt.3018.
17. Кохан М. Ю. Методи діагностики цукрового діабету. *Медсестринство*. 2011. № 3. С. 24-26.
18. Sadr-Azodi O., Ljung R. Pattern of increasing HbA1c levels in patients with diabetes mellitus before clinical detections of pancreatic cancer- a population-based nationwide –case control study. *Acta. Oncol.* 2015. P. 986-992. Doi: 10.3109/0284186X.2015.1006402
19. Klapper D.G., Svoboda M.E., Van Wyk J.J. Sequence analysis of somatomedin-C: confirmation of identity with insulin-like growth factor I. *Endocrinology*. 1983. V. 112. No 6. P. 2215–2217.
20. Werooha S.J., Haluska P. The insulin-like growth factor system in cancer. *Endocrinol. Metab. Clin. North. Am.* 2012. V. 41. No 2. P. 335–350.
21. Maisonneuve P., Lowenfels A.B. Risk factors for Pancreatic Cancer: a Summary Review of Meta-Analytical Studies. *Int. J.Epidemiol.* 2015. 44. 1. P. 186-198. Doi.10.1093/ije/dyu?40
22. Hao L., Zeng X.P., Xin L., Wang D., Pan J., Bi Y.W. et al. Incidence of and risk factors for pancreatic cancer in chronic pancreatitis: a cohort of 1656 patients. *Dig. Liver. Dis.* 2017. 49. 11. 1249-1256. Doi: 10.1016/j.dld.2017.07.001.

23. Hezel A.F., Kimmelman A.C., Stanger B.Z., Bardeesy N., Depinho R.A. Genetics and biology of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Genes and Development*. 2006. 20.10. 1218-1249. Doi: 10. 1101/ gad.1415606
24. Kikuyama M., Kamisawa T., Kuruma S., Chiba K. Et al. Early Diagnosis to Improve the Poor Prognosis of Pancreatic Cancer. *Cancers*. 2018. 10. 2. 48. Doi: 10.3390/cancers 10020048].
25. Kanno A., Masamune A., Hanada K., Maguchi H. et al. Multicenter study of early pancreatic cancer in Japan. *Pancreatology*. 2018. 18. 1. 61-67. Doi: 10. 1016./j.pan. 2017. 11. 007
26. Fernandez E., La Vecchia C., Porta M. Et al. Pancreatitis and the risk of pancreatic cancer. *Pancreas*. 1995. 185-189. PMID 7479677
27. Суходоля А. І., Суходоля С. А., Мосійчук В. П., Макогонський М. В. Хронічний панкреатит та цукровий діабет – предиктори розвитку раку підшлункової залози. *Klinichna khirurgiia*. 2019. V. 86. No 4. P. 67-71. DOI: 10.26779/2522-1396.2019.04.67
28. Yu J.H., Kim H. Oxidative stress and cytokines in the pathogenesis of pancreatic cancer. *J. Cancer. Prev.* 2014. V. 19. No 2. P. 97-102. Doi: 10. 15430/JCP.2014.19.2.97.
29. Almoguera C., Chibata D. et al. Most human carcinomas of the exocrine pancreas contain mutant c-K-ras genes. *Cell*. 1988. V. 53. No 4. P. 539-540. PMID: 2453289.
30. Briant K.L., Mancias J.D. et. al. KRAS: Feeding pancreatic cancer proliferation. *Trends Biochem. Sci.* 2014. V. 39. No 2. P. 91-100. Doi: 10.1016/j. Tibs.2013.12.004.
31. Sarkar F. N., Banerjee S., Li Y. Pancreatic cancer: pathogenesis, prevention and treatment. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2007. V. 224. No 3. P. 326-336. Doi: 10.1016./j.taap.2006.11.007
32. Perunal S., Pillai S.A. et. al. Predictors of malignancy in chronic calcific pancreatitis with head mass. *World J. Gastrointest. Surg.* 2013. V. 5. No 4. P 97-103. Doi: 10.4240/wigs. V5i497

33. Klimenko A. Importance of onkomarker CA 19-9 in diagnostics of chronic pancreatitis. *Zaporozhye Medical Journal*. 2013. No 1. P. 29-31. Doi: org/10.14739/2310-1210.2013.1.15450
34. Kim J., Bamlet W. R., et. al. Detection of early pancreatic ductal adenocarcinoma with trombospondin-2 and CA 19-9 blood markers. *Sci. Transl. Med*. 2017. V. 398. No 9. P. 55-83. Doi:10.1126/scitranslmed aah5583
35. Park J. Y., Helm J., Coppola D., Kim D., et. al. MicroRNAs in pancreatic ductal adenocarcinoma. *World. J. Gastroenterol*. 2011. V. 17.No 7. P. 817-827. Doi: 10.3748/wjg.v17i7.817.
36. <https://www.genesislab.com.ua/data/files/1508913597-instrukciya-glyukoza-200.pdf>.
37. Клінічна біохімія. За ред.. О.Я. Склярова. К.: Медицина, 2006. 432 с.
38. Інструкція до набору реактивів для визначення аспартатамінотрансферази у сироватці крові (метод Райтмана-Френкеля). «Філісіт-Діагностика» Україна.
39. Горячковский А.М. Клиническая биохимия в лабораторной диагностике. Одесса: Экология, 2005. С. 324-326.
40. <https://www.donor.ua/pages/2140>
41. Копильчук Г.П. Функціональна біохімія. Чернівці: Чернівецький нац. ун-т ім. Юрія Федьковича, 2018. 344 с.
42. <https://medlabtest.ua/uk/patients/analizy/amilaza-pankreaticeskaa>

Додатки

Техніка безпеки під час роботи в біохімічній лабораторії

Вимоги безпеки під час виконання роботи

Дозволяється працювати тільки на заземлених об'єктах.

Забороняється:

- встановлювати запобіжники, що не відповідають номінальному значенню.
- виконувати заміну запобіжників при включеному обладнанні.
- виконувати будь-які ремонтні роботи об'єкту без зняття з нього напруги живлення.

При роботі на центрифугах:

- не працювати на частоті обертання, вищій за максимальну для даного ротору;
- не працювати з неповним та нерівномірно заповненими стаканами роторів типу РПУ К та з неповністю завантаженим ротором РЗ-21Т;
- не центрифугувати препарат із густиною, більшою за $1.2 \cdot 10^3$ кг/м³ на максимальній частоті обертання ротору;
- не працювати з роторами, що відпрацювали свій термін експлуатації.

Не запускайте жодного приладу без попередньої перевірки. Не залишайте діючий прилад без догляду.

Для попередження нещасних випадків через можливий викид реакційної суміші не заглядайте в пробірку чи колбу зверху.

Роботу з отруйними речовинами проводити у витяжній шафі. Не виносити із лабораторії прилади, посуд та реактиви.

Дотримуйтесь запобіжних заходів при роботі з вибуховими та легкозапальними речовинами.

Не виливайте до раковини залишки кислот, лугів, вогнебезпечних рідин тощо. Зливайте ці речовини до спеціальних склянок, що знаходяться під витяжною шафою. Не кидайте до раковини пісок, папір та інші тверді речовини.

Розчини, що містять кислоти та луги, перед тим як виливати до каналізаційної системи, необхідно нейтралізувати. Речовини, що мають різкий запах, а також отруйні речовини повинні бути знешкоджені хімічною обробкою або спалені у спеціально відведеному місці за межами лабораторії, бажано на повітрі.

Не залишайте жодних речовин у посуді без етикеток.

Вимоги безпеки в аварійних ситуаціях

При виникненні пожежі негайно вимкніть газ у всій лабораторії, приберіть із помешкання всі горючі речовини, засипте піском або закрийте

ковдрою полум'я та повідомте черговому пожежної охорони про те, що сталося. Дотримуйтесь правил протипожежної безпеки.

Якщо в лабораторії за якихось причин пролита значна кількість легкозапальної рідини, то необхідно загасити всі горілки та електронагрівачі прилади, відчинити вікна та збирати проливу рідину ганчіркою або рушником, місце проливу засипати піском, потім зібрати його дерев'яною лопаткою і винести у спеціально відведене місце.

При легких термічних опіках шкіру необхідно обмити спиртом, а потім змастити гліцерином або вазеліном. При сильніших опіках обпечене місце, після промивання концентрованим розчином перманганату калію та спиртом, необхідно змастити засобом від опіків (наприклад, сульфідиновою емульсією).

При опіках сильними кислотами потрібно промити обпечене місце великою кількістю води, а потім 3% розчином соди.

При опіках сильними лугами шкіру необхідно промити водою, а потім нейтралізувати 1% розчином борної кислоти. Аміак майже не діє на шкіру, але при попаданні в очі може викликати сильне пошкодження чи навіть сліпоту.

При випадковому потраплянні реактивів всередину рекомендується випити більше води. Поряд із цим необхідно: а) при отруєнні кислотами випити склянку 2% вуглекислої соди; б) при отруєнні лугами випити склянку 2% оцтової або лимонної кислоти.

При отруєнні необхідно вивести постраждалого на свіже повітря, зробити штучне дихання та викликати лікаря.

При необережному згинанні трубок, вставленні трубок або термометра до отвору колби, можливі порізи та поранення. При порізах у першу чергу необхідно видалити з рани уламки скла, краї рани продезинфікувати 3% спиртовим розчином йоду, а потім накласти стерильну пов'язку. При сильних кровотечах слід накласти вище рани джгут та викликати лікаря або направити постраждалого до амбулаторії (поліклініки).

У випадку загоряння горючої рідини необхідно загасити всі горілки, прикрити полум'я азбестовим рушником або засипати його піском, або скористатися вогнегасником із вуглекислим газом. Розчинні у воді вогненебезпечні речовини, такі як спирт, ацетон та інші, можна загасити водою. Якщо горить нерозчинна у воді речовина (наприклад, ефір, бензол, бензин, скипидар), то воду використовувати для гасіння пожежі не можна, оскільки вона не лише не буде ліквідована, але може навіть збільшитися. У цьому випадку полум'я слід гасити піском та використовувати вогнегасник.

Вимоги безпеки після закінчення роботи

По закінченню тієї чи іншої операції необхідно вимкнути газ та електроприлади, що використовувалися при виконанні даної роботи. Посуд, у

якому проводили роботу із вогнебезпечними реактивами, після закінчення роботи повинен бути одразу вимитий.

По закінченні роботи привести до ладу робоче місце, прилади та апаратуру, вимкнути головний газовий кран, головний електрорубильник, вентиляцію та світло, а також перевірити, чи видалені з приміщення лабораторії надлишки горючих та легкозапальних речовин, відпрацьовані рідини, сміття, промаслене ганчір'я, перевірити, чи весь посуд із реактивами закоркований та покладений на відведені місця.