

ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМ. М.І.ПИРОГОВА
МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ

СУХОДОЛЯ СЕРГІЙ АНАТОЛІЙОВИЧ

УДК: 617.55-089.168:611.018.2:616-008.9-092.4-092.9

**ДІАГНОСТИКА ТА ХІРУРГІЧНЕ ЛІКУВАННЯ
УСКЛАДНЕНИХ ФОРМ ХРОНІЧНОГО ПАНКРЕАТИТУ З ВИСОКИМ
РИЗИКОМ РОЗВИТКУ РАКУ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ
(КЛІНІКО-ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ)**

14.01.03 – хірургія

22 – Охорона здоров'я

Реферат

дисертації на здобуття наукового ступеня
доктора медичних наук

Вінниця – 2025

Дисертацією є рукопис

Робота виконана у Вінницькому національному медичному університеті ім. М.І. Пирогова МОЗ України.

Офіційні опоненти:

доктор медичних наук, професор, заслужений діяч науки і техніки України **Дзюбановський Ігор Якович**, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, завідувач кафедри хірургії факультету післядипломної освіти;

доктор медичних наук, професор **Пиптюк Олександр Володимирович**, Івано-Франківський національний медичний університет МОЗ України, завідувач кафедри хірургічних хвороб.

доктор медичних наук, професор **Дронов Олексій Іванович**, Національний медичний університет імені О.О. Богомольця МОЗ України, завідувач кафедри загальної хірургії № 1;

Захист відбудеться на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 05.600.03 Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова МОЗ України за адресою: 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56.

З дисертацією можна ознайомитись у науковій бібліотеці Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова МОЗ України (21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56).

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради Д 05.600.03,
д.мед.н., професор

Марія ШІНКАРУК-ДИКОВИЦЬКА

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження та її актуальність. На сьогодні хронічний панкреатит (ХП) займає третє місце серед всіх патологій органів шлунково-кишкового тракту. Розвиток фіброзу за ХП пов'язаний із накопиченням надмірної кількості позаклітинного матриксу (ECM) через посилене накопичення та дезорганізацію його білків (фібрoneктин, ламінін, колагени типу I, III, а також IV), що є причиною дисфункції тканин і органної недостатності. Ряд дослідників розглядають ХП, як один із головних факторів розвитку раку підшлункової залози (РПЗ) – хвороби, на яку припадає біля 10 % усіх видів раку органів травлення (Gasiogowska A., 2016; Kandikattu H. K., 2020; Le Cosquer G., 2023; Crowther J.R., 2000). Дійсно, неконтрольоване запалення ПЗ, що виникає за ХП, формує середовище, збагачене цитокінами й хемокінами, та сприяє злоякісному переродженню клітин на фоні погіршення імунного виявлення пухлини.

За останніми даними програми GLOBOCAN, 2018, проведеною міжнародною агенцією досліджень з раку, кількість діагностованих хворих на РПЗ зросла до 459 тисяч, а кількість смертей, спричинених РПЗ, до 432 тисяч впродовж року.

Натомість, вже за даними GLOBOCAN, 2022, кількість нових діагностованих випадків РПЗ продовжує збільшуватись і становить 511 тисяч, а кількість смертей від РПЗ – 467 тисяч протягом цього ж року.

В Україні в 2020 році було вперше виявлено 6246 випадків РПЗ. При цьому померло від даної патології 5923 особи, що спричинено ускладненнями РПЗ. Це вказує на негативну динаміку, так як в 2012 році було зареєстровано 4728 осіб із діагностованим РПЗ у обох статей. При цьому було зареєстровано 4168 смертей від РПЗ. Вище вказане підтверджує прогресування даної патології, проблему діагностики та боротьби з нею.

Крім того, РПЗ пов'язаний із підступним клінічним перебігом і неспецифічною симптоматикою на початкових, доклінічних стадіях захворювання (Moutinho-Ribeiro P., 2019; Луц А. М., 2020). Досить часто дана патологія виявляється на пізній стадії, проте, ще маючи безсимптомний перебіг (Caban M., 2022). Слід зауважити, що хірургічне лікування в обсязі великих резекцій та панкреатектомій є єдиним лікувальним методом, що дає шанс на більш тривале виживання. Тим не менш, хірургічна резекція та стандартна хіміотерапія призводять до 5-річної виживаності менше 30 % пролікованих пацієнтів.

Поганий прогноз та лікування пояснюються раннім системним поширенням даного захворювання і агресивним місцевим зростанням. Майже у 50–60 % пацієнтів спостерігається віддалене метастазування, у 25–30 % – регіонарне захворювання і лише у 10–15 % пацієнтів – локальне ураження ПЗ. Крім того, лише у 20–30 % хворих РПЗ діагностується на ранній резектабельній стадії захворювання (Roth M. T., 2018; Furuse J., 2018). Як наслідок, загальна 5-річна виживаність пацієнтів із РПЗ значно нижча і оцінюється лише приблизно у 10 % (Liu S., 2021).

Саме тому необхідно приділяти більше уваги пацієнтам із потенційним РПЗ, що вимагає підвищення клінічної уваги та прагнення до раннього виявлення. На сьогодні «СА19-9» залишається єдиним затвердженим біомаркером для діагностики та оцінки РПЗ, проте, достовірність його результату обмежена недостатньою чутливістю та

специфічністю. Незважаючи на численні дослідження, спрямовані на пошук та впровадження нових біомаркерів діагностики та верифікації РПЗ, жоден з них не був встановлений для використання в клінічній практиці. На жаль, поки що не існує рекомендованої комбінації біомаркерів, затвердженої для діагностики та прогнозу розвитку РПЗ (Hasan S., 2019; Kapszewicz M., 2021).

Результати сучасних численних досліджень також свідчать про існування тісного взаємозв'язку між механізмами, залученими у загоєння ран, хронічний фіброз та розвиток/прогресування раку, які поширюються на клітини та оточуюче їх мікросередовище (Baluka D., 2016; Grippo P. J., 2012; Rakashanda S., 2012). Принциповими компонентами цих механізмів є цитокіни та ростові фактори, що регулюють поширення процесів запалення і загоєння, включаючи системи протеолізу, залучені у ремоделювання ЕСМ та фіброгенез. Життєво необхідні протеолітичні реакції представлені переважно сериновими, до яких належать компоненти системи активації плазміногену (plasminogen activation system, PAS), та металовмісними матриксними протеазами (matrix metalloproteinases – MMP) (Vizovisek M., 2021). Останні є родиною ферментів, відповідальних за деградацію колагенових і неколагенових компонентів позаклітинного матриксу. MMP виділяються різними клітинами, включаючи фібробласти, ендотеліальні клітини, макрофаги та лімфоцити в неактивній формі, що потребує подальших впливів для активації.

Вирішальне значення різних ізоформ MMP у розвитку панкреатиту та РПЗ вказане численними дослідженнями (Sri M. K., 2017; Raksha N., 2019; Zhai L. L., 2015; Slapak, E.J., 2020).

Не дивлячись на те, що проблема хірургічного лікування ХП, його ускладнень та РПЗ розроблялась в Україні і за кордоном відомими науковцями (Копчак В. М., 2012; Тодуров І. М., 2005; Усенко О. Ю., 1999, 2022; Хобзей М. К., 2014; Христич Т. Н., 2018; Шкарбан В. П., 2016; Ahmed Ali U., 2016; Andersen D. K., 2017; Buchler M., 2020; Canto M. I., 2018 та ін.) та іншими послідовниками Шалімова О.О., зростання захворюваності на дані патології свідчить про актуальність та необхідність наукового обґрунтування удосконалення підходів щодо підвищення ефективності їх діагностики та хірургічного лікування пацієнтів.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є фрагментом планової науково-дослідної роботи кафедри хірургії № 1 з курсом урології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова: «Розробка оптимальних методів хірургічного лікування та профілактика післяопераційних ускладнень у хворих з захворюваннями органів черевної та грудної порожнини з використанням мініінвазивних технологій» (номер державної реєстрації 0118U005500; 2019 – 2023 рр.), а також «Обґрунтування та розробка інноваційних методів діагностики, хірургічного лікування і профілактики ускладнень при захворюваннях і пораненнях органів грудної і черевної порожнини» (номер державної реєстрації 0124U001265; 2024 – 2028 рр.).

Мета дослідження: удосконалити сучасні підходи та підвищити ефективність діагностики і хірургічного лікування пацієнтів з ускладненими формами хронічного панкреатиту з високим ризиком розвитку раку підшлункової залози за рахунок впровадження нових і вдосконалених методів до- та інтраопераційної діагностики та

оперативного лікування.

Завдання дослідження:

1. Визначити якісний і кількісний склад пептидних пулів у щурів із хронічним панкреатитом та визначити наявність зв'язку між гістопатологічними особливостями підшлункової залози та змінами у пулах пептидів в її тканині у щурів із експериментально змодельованим хронічним панкреатитом та хронічним панкреатитом у поєднанні з цукровим діабетом.
2. Визначити вміст тригерних компонентів системи протеолізу та цитокінів у сироватці крові, печінці та підшлунковій залозі щурів із хронічним панкреатитом окремо та у поєднанні з цукровим діабетом.
3. Визначити вміст тригерних компонентів системи протеолізу та цитокінів у плазмі крові та підшлунковій залозі пацієнтів за умов розвитку хронічного панкреатиту та раку підшлункової залози.
4. Дослідити протеолітичну активність у плазмі крові та підшлунковій залозі пацієнтів із хронічним панкреатитом та раком підшлункової залози.
5. Визначити протеолітичну активність матричних металопротеїназ у крові та підшлунковій залозі пацієнтів за розвитку хронічного панкреатиту та раку підшлункової залози.
6. Дослідити протеолітичну активність трипсиноподібних серинових протеаз у крові та підшлунковій залозі пацієнтів за розвитку хронічного панкреатиту та раку підшлункової залози.
7. Проаналізувати вміст протеолітичних компонентів (плазміногену (Pg), протеїну C, тканинного активатору плазміногену (t-PA), їх модулятору (PAI-1) і матричних металопротеїназ (ММР-1, ММР-2, ММР-3, ММР-8, ММР-9, ММР-10), ростові фактори та цитокіновий профіль у хворих на ХП та РПЗ на рівні системної циркуляції та патологічно зміненої тканини підшлункової залози.
8. Розробити математичну модель ранньої діагностики злоякісної патології підшлункової залози на доклінічному етапі та на ранній стадії захворювання для вибору найоптимальнішого та радикального об'єму оперативного втручання.
9. Визначити переваги розробленої нами математичної моделі та продемонструвати її вплив на ранню діагностику патології ПЗ, а також вивчити можливий вплив на зміну вибору оперативного втручання.
10. Розробити алгоритми проведення розширених ранніх радикальних оперативних втручань на підшлунковій залозі у пацієнтів групи ризику.
11. Проаналізувати ефективність запропонованого нами поглибленого діагностичного алгоритму та вибору об'єму оперативного втручання в залежності від отриманого результату.

Наукова новизна одержаних результатів. Проведені дослідження та визначення параметрів у крові та панкреатичній тканині пацієнтів при хронічному панкреатиті і раку підшлункової залози дозволили виявити ряд особливостей, які є діагностичними критеріями переходу хронічного запалення у ПЗ до малігнізації.

Дисертантом встановлене в умовах ХП зростання переважної більшості досліджуваних параметрів (вміст Pg, PC, TM, IGF-1, ММР-1, -2, -3, -8, -10, TIMP-1, IL-1 β , -4, -6, -8, а також TNF- α) на рівні системної циркуляції та вдалося виявити

статистично достовірні відхилення в плазмі крові при РПЗ лише для протеїну С та тромбомодуліну.

Автором було доведене суттєве збільшення вміст MMP-2, -3, -9, -10 і TIMP-1, а також всіх досліджуваних ILs (окрім IL-4 і IL-6) у патологічно зміненій тканині ПЗ хворих на РПЗ, що статистично достовірно перевищувало значення відповідних показників у хворих на ХП.

Вперше досліджено та доведено зниження рівня протизапального цитокіна IL-10 в плазмі крові при ХП, та зростання його у гомогенаті тканин ПЗ при РПЗ, що сприяє пухлинним клітинам уникати розпізнання імунною системою та блокує їхнє виявлення і елімінацію.

Проведені дослідження автором дозволили виявити особливості протеолітичних процесів у крові і панкреатичній тканині за умов хронічного панкреатиту і раку. Встановлені зміни були пов'язані з акумуляцією низько- і середньомолекулярних білків і пептидів, серед яких значна кількість характеризується вираженими регуляторними функціями та токсичними впливами

Автором вперше було доведено, що як ХП, так і РПЗ супроводжуються ремодуляцією екстрацелюлярного матриксу за рахунок зміни складу матриксних металопротеїназ.

Дисертантом уточнено, що вміст трипсиноподібних серинових протеаз (TLPs) у плазмі крові хворих із патологіями ПЗ був вищим, ніж у тканині ПЗ відносно значень відповідних показників у групі умовно здорових осіб, а також вперше виявлено, що фракції TLPs, отримані з плазми крові пацієнтів з патологіями, містять велику кількість високомолекулярних протеїнів, тоді як TLPs з гомогенатів тканини ПЗ пацієнтів з патологіями представлені в основному низькомолекулярними білками.

Вперше виявлено, що серед TLPs, отриманих із плазми крові та гомогенатів тканини ПЗ пацієнтів із патологіями ПЗ, наявні ферменти із фібриногенолітичною, желатинолітичною та колагенолітичною активностями. У плазмі перші представлені середньомолекулярними білками, тоді як серед представників двох останніх груп переважають білки із великою (желатинази в хворих на ХП та РПЗ, колагенази в хворих на РПЗ) та дуже великою (колагенази в пацієнтів із ХП) молекулярною масою. У гомогенатах ПЗ фібриногенолітичну активність мають виключно низькомолекулярні білки, а желатинази і колагенази є білками із середньою та низькою молекулярною масою.

Вперше розроблена та науково доведена доцільність і ефективність застосування математичної моделі ранньої діагностики злоякісної патології підшлункової залози на доклінічному етапі та на ранній стадії захворювання.

Удосконалені та розроблені методики проведення біопсії підшлункової залози (свідоцтво про реєстрацію авторського права на твір: «Методика інтраопераційної біопсії підшлункової залози» № 115178 від 11.10.2022 та «Методика інтраопераційної множинної біопсії підшлункової залози» № 114856 від 19.09.2022).

Науково доведена доцільність і ефективність застосування впровадженої математичної моделі діагностики РПЗ, змін білкового профілю плазми у передопераційному періоді, інтраопераційного дослідження тканин підшлункової залози – експрес-діагностики для верифікації вірного діагнозу.

Практичне значення одержаних результатів. Отримані результати експериментального дослідження дозволили впровадити їх у клінічну практику, що дало змогу покращити ранню діагностику та застосовувати найефективніший метод хірургічної корекції злоякісної патології підшлункової залози.

Розроблена математична модель дала змогу проводити ранню діагностику РПЗ з точністю до 96 % у найгірших випадках, покращити її якість та виконати радикальні оперативні втручання.

Автором запропоновано спосіб лікування хронічного панкреатиту, ускладненого повною панкреатичною норицею з непрохідністю проксимального відділу вірсунгової протоки зі збереженням лівого анатомічного сегмента.

Покращені оперативні втручання при внутрішньочеревних та зовнішніх арозивних кровотечах з паралельною хірургічною корекцією ускладнень ХП. Основною нашою метою було проведення зупинки шлунково-кишкової кровотечі, а також паралельна хірургічна корекція ускладнень ХП таких, як протокова гіпертензія із вираженим больовим синдромом, вірсунголітіаз, нориця ПЗ. У післяопераційному періоді ми притримувались усіх канонів fast track хірургії. Пацієнти максимально швидко активізовувались, переконавшись у відсутності стазу у шлунку, дозволяли з другої післяопераційної доби пити воду та рідку їжу.

Доведено, що при формуванні асцити внаслідок травми ПЗ питання про хірургічну корекцію необхідно ставити якомога раніше, до виникнення ускладнень. При появі асцити у хворих на РПЗ лікування симптоматичне, оскільки це є ознакою декомпенсації процесу. На теперішній час відсутні уніфіковані протоколи хірургічного лікування ПА та ПН, тому у різних клініках застосовують різні підходи, від консервативних методів до обширних багатоетапних втручань.

Впроваджена інтраопераційна пункційна панкреатовірсунгографія у комплексній діагностиці є простим, безпечним та інформативним методом діагностики рідинних утворень із протоковою гіпертензією за умови ускладненого ХП, що дозволяє диференціювати тип змін протокової системи підшлункової залози, рівень обструкції, наявність конкрементів у просвіті, а також диференціювати вирогідність сполучення кістозних утворень із протоковою системою у хворих з ускладненим ХП.

Застосування інтраопераційної пункційної панкреатовірсунгографії доповнює відомі діагностичні методики і цим полегшує вибір методу операції та забезпечує кращий результат оперативного втручання при ускладнених формах ХП. Завдяки комплексному підходу та діагностиці нам вдалося диференціювати тип змін протокової системи підшлункової залози у хворих з ускладненим ХП та виявити у 64% протокову гіпертензію із стриктурою протоки у ділянці перешийка та голівки, а у 43,4% сполучення кістозних утворень з протокою ПЗ, у 9% – наявність внутрішньої нориці ПЗ.

Запропоновані та впроваджені нами нові та вдосконалені методи діагностики патології ПЗ, на які було отримано свідоцтво про реєстрацію авторського права: «Методика інтраопераційної біопсії підшлункової залози» №115178 (від 11.10.2022) та «Методика інтраопераційної множинної біопсії підшлункової залози» №114856 (від 19.09.2022), були причиною зміни хірургічної корекції патології підшлункової залози. Інтраопераційно після проведення панч-біопсії серед пацієнтів основної

групи, у 6 (26,1%) встановлена ацинарна метаплазія, у 8 (34,7%) зміни у тканині, котрі характерні для PanIN високого ступеню. У решти 9 (39,2%) інтраопераційно підтвердили наявність раку підшлункової залози з локалізацією в її головці у 5 з них (55,5%) та у 4 пацієнтів (44,5%) із локалізацією лівого анатомічного сегменту. Зміни у білковому профілі плазми, яку ми визначали на доопераційному етапі, а також характерні зміни у тканині підшлункової залози дозволили встановити вірний діагноз та дали підстави для виконання розширених резекційних втручань, що потрібно виконувати пацієнтам при злоякісній патології ПЗ.

Основні положення дисертації використовуються у навчальному процесі на кафедрі хірургії з курсом стоматології ФПО Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова МОЗ України, впроваджені у практичну роботу хірургічних стаціонарів КНП «Подільський регіональний центр онкології Вінницької обласної ради», КП «Хмельницька міська лікарня» Хмельницької міської ради та впроваджені у Навчально-науковому центрі «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка.

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 31 наукову працю, що повністю відображають основні результати дисертації, з них 6 статей – у наукових періодичних виданнях, проіндексованих у базах даних Scopus, з яких 3 – у закордонних наукових періодичних виданнях, внесених до міжнародної наукометричної бази Scopus, одна з яких у наукометричній базі Scopus, Q1; 14 статей – у наукових фахових виданнях України; 11 – у збірниках наукових конференцій з міжнародною участю. Отримано 5 свідоцтв про реєстрацію авторського права на твір.

Структура та обсяг дисертації. Загальний обсяг дисертації складає 404 сторінок. Робота містить анотацію, вступ, основну частину, що складається з огляду літератури, викладу матеріалів та методів дослідження, 4 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел і додатків. Робота ілюстрована 73 рисунками та 24 таблицями. Список використаних джерел складає 500 бібліографічних описів, з них 35 – кирилицею, 465 – латиницею. Список використаних джерел і додатки викладено на 82 сторінках.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. Дисертаційна робота присвячена науковому обґрунтуванню удосконалення сучасних підходів та підвищення ефективності діагностики і хірургічного лікування пацієнтів з ускладненими формами хронічного панкреатиту з високим ризиком розвитку раку підшлункової залози за рахунок впровадження нових і вдосконалених методів до- та інтраопераційної діагностики та оперативного лікування.

Дисертаційне дослідження проведене з дотриманням біоетичних принципів та норм і було схвалено Комітетом з біоетики ЗВО ВНМУ ім. М.І. Пирогова (Протокол № 7 від 16.09.2021 р. та протокол № 6 від 07.05.2025 р.). Для всебічного вивчення даної наукової проблеми було розроблено дизайн відповідно до поставленої мети та завдань (рис. 1).

Дизайн дослідження

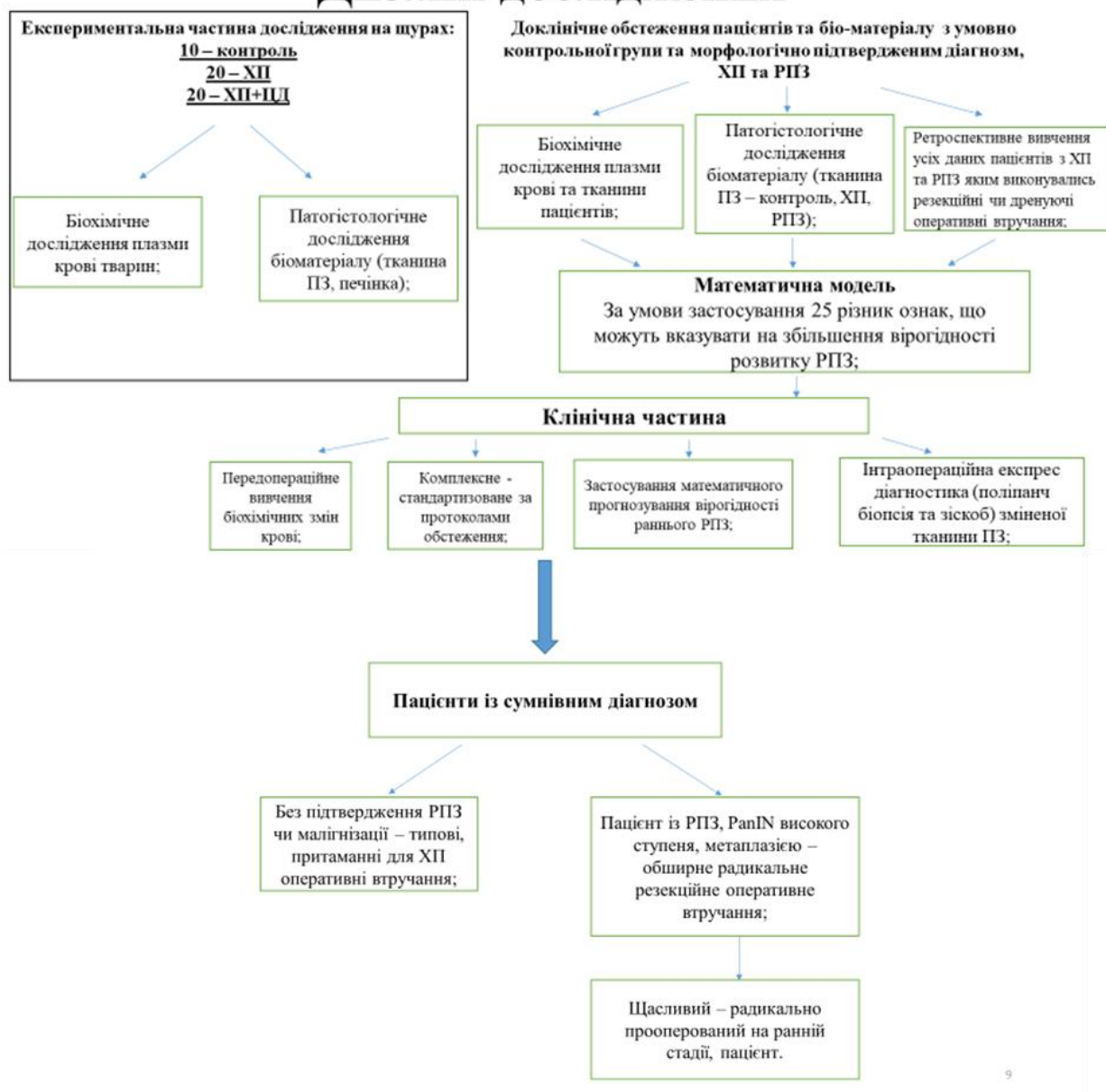


Рисунок 1 – Дизайн дослідження

У 2013 – 2017 рр. виконували ретроспективний набір та аналіз матеріалу, а з 2018 по 2024 рр. – проспективний. Серед усіх хворих чоловіків було 221 (57 %), жінок – 167 (43 %). Вік пацієнтів коливався від 22 до 83 років, становивши в середньому $52,5 \pm 10$ років. Клінічна частина роботи погоджена з Комітетом з біоетики ВНМУ ім. М.І. Пирогова, протокол № 15 від 26.09.2021р.

У представлений роботі проаналізовані результати обстеження та лікування 388 пацієнтів із морфологічно підтвердженою патологією підшлункової залози: а саме 197 (50,8 %) пацієнтів із ускладненими формами хронічного панкреатиту, 136 (35 %) пацієнтів із пухлинами різної локалізації підшлункової залози, а також 55 (14,2 %) пацієнтів із пограничними станами хвороби, серед яких 33 (60 %) чоловіків та 22 (40 %) відповідно жінки, де до виконання оперативного втручання та застосування загальноприйнятих методик обстеження не було змоги чітко та переконливо

спростувати наявність малігнізації процесу зміненої паренхіми ПЗ, та відповідно застосувати найоптимальніший та радикальний метод лікування притаманний для РПЗ. Саме ця група пацієнтів викликала найбільший інтерес та сприяла їх поглибленому вивченню із застосуванням та впровадженням запропонованих методик. Досліджувані пацієнти перебували на лікуванні у Комунальному неприбутковому підприємстві (КНП) «Хмельницька обласна лікарня» Хмельницької обласної ради (ХОР), ПП «Приватна хірургічна клініка професора Суходолі», а також у Sana klinikum Hof (м. Хоф, Німеччина) протягом 2013-2024рр. В рамках наукової співпраці із Sana klinikum Hof було залучено результати лікування 62 пацієнтів (16 %) та проведено поглиблений їх аналіз, зокрема, особливостей до- та післяопераційного періодів, прооперованих з приводу ускладнених форм ХП та РПЗ, що регламентовано відповідними договорами про співпрацю. Кількісний Розподіл пацієнтів за групами нозологій, які підлягали лікуванню та оперативному втручанню наведено у таблиці 1.

Таблиця 1 – Розподіл хворих із патологіями підшлункової залози

Основне захворювання	Кількість спостережень	
	абс.	%
Пухлини ПЗ	136	35
Хронічний панкреатит із ускладненнями	197	50,8
Пацієнти із сумнівним діагнозом	55	14,2
Разом	388	100

У даних пацієнтів, незважаючи на глибоке повноцінне передопераційне обстеження, чітко та переконливо віддиференціювати ХП від змін, котрі викликали у нас підозру щодо наявного злоякісного переродження ПЗ, було неможливим, тому що клінічні симптоми та діагностична картина у цих захворюваннях – спільні. Власне, дані пацієнти були поділені на основну групу 34 (61,8 %) та групу порівняння 21 (38,2 %), що продемонстроване на рисунку 2.



Рисунок 2 – Схема розподілу пацієнтів на основну групу та групу порівняння

Для встановлення взаємозв'язку між характером якісного і кількісного складу біохімічних маркерів та гістопатологічними особливостями підшлункової залози при хронічному панкреатиті та ХП у поєднанні з цукровим діабетом було виконано експериментальне дослідження на лабораторних щурах. Експериментальна робота зі щурами проводилася у віварії Навчально-наукового центру «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка відповідно до договору про творчу співдружність.

В експериментальній частині роботи досліджували біохімічні та гістоморфологічні змін крові і тканин. Досліди проводили на 50 білих нелінійних щурах-самцях масою 200 ± 10 г. Щури були народжені від декількох самок з різницею у один-два дні. При роботі з лабораторними тваринами дотримувалися загальноприйнятих міжнародних рекомендацій щодо проведення медико-біологічних досліджень на тваринах відповідно до «Загальних принципів роботи з тваринами», затверджених 1-м Національним конгресом з біоетики (Київ, Україна, 2001 р.) і узгодженим з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, Франція, 1986 р.). Робота з тваринами регламентувалася правилами проведення експериментальної роботи з експериментальними тваринами, що були затверджені

комісією з біоетики Київського національного університету імені Тараса Шевченка, протокол № 5 від 16.04.2018.

Тварин утримували в стандартних умовах існування з постійною температурою і вологістю.

Щури були поділені на 3 експериментальні групи:

- 1) Контрольна (n=10);
- 2) Хронічний панкреатит (ХП) (n=20);
- 3) ХП+ЦД (n=20).

Хронічний панкреатит був індукований у 40 щурів внутрішньоочеревинним введенням церулеїну (Sigma, St. Louis, MO, USA), який був розведений у фізіологічному розчині ($5 \text{ мкг} \times \text{кг}^{-1}$ маси тіла). Щурам вводили церулеїн п'ять разів на добу з інтервалом в годину. Контрольні щури отримували п'ять разів на добу з інтервалом в годину рівні об'єми 0,9 % NaCl внутрішньоочеревинно. Ін'єкції проводили п'ять днів поспіль. Після останнього дня ін'єкції церулеїну щурів утримували в стандартних умовах з вільним доступом до води протягом наступних дев'яти днів. Розвиток панкреатиту підтверджувався високим рівнем амілази в сироватці крові, а також дослідженнями патогістологічних змін паренхіми підшлункової залози піддослідних щурів, що підтверджувало вищевикладене. На 14-ту добу від початку експерименту половину тварин (20 осіб) із групи хронічного панкреатиту випадковим чином відібрали та використали для моделювання цукрового діабету 1 типу (ЦД1). ЦД індукували у щурів, які голодували протягом 16 годин, шляхом одноразової внутрішньоочеревинної ін'єкції стрептозотоцину (STZ; Sigma, США) у дозі $65 \text{ мг} \times \text{кг}^{-1}$ маси тіла, розчиненого в 0,5 мл 0,01 М цитратного буфера, pH 4.5. Інші тварини з групи ХП та всі контрольні щури отримували рівний об'єм плацебо (NaCl 0,9 %). Достовірність розвитку ЦД1 була підтверджена високою концентрацією глюкози в крові (вище $15 \text{ ммоль} \times \text{л}^{-1}$), а також високим рівнем глікозильованого гемоглобіну.

В останній день експерименту (44-й день) тварин виводили з дослідів шляхом декапітації, проводили забір крові, а потім відбирали зразки тканини ПЗ і печінки (рис. 3).

Статистичну обробку результатів дослідження проводили загальноприйнятими методами варіаційної статистики. Вірогідність різниці між контрольними та дослідними вимірами оцінювали за t-критерієм Ст'юдента. Вірогідною вважали різницю між порівнювальними показниками при $p < 0,05$. Розрахунки та побудову графіків виконували на комп'ютері з використанням прикладних програм: «OriginLab Origin 8.0» та «Microsoft Excel 2007». Аналіз білкових фракцій здійснювали з використанням програми TotalLab.

Для кожної з вибірок перевіряли чи є нормальним розподіл досліджуваного показника, застосовуючи критерій Шапіро-Вілка.

Оскільки наші дані виявилися нормально розподіленими, порівняння вибірок проводилося за допомогою t-критерію Ст'юдента для незалежних вибірок. Розраховували середнє значення (M), похибка середнього значення (m). Для наших даних ми приймали рівень значущості $p < 0,05$ (Горват А.А., 2019).

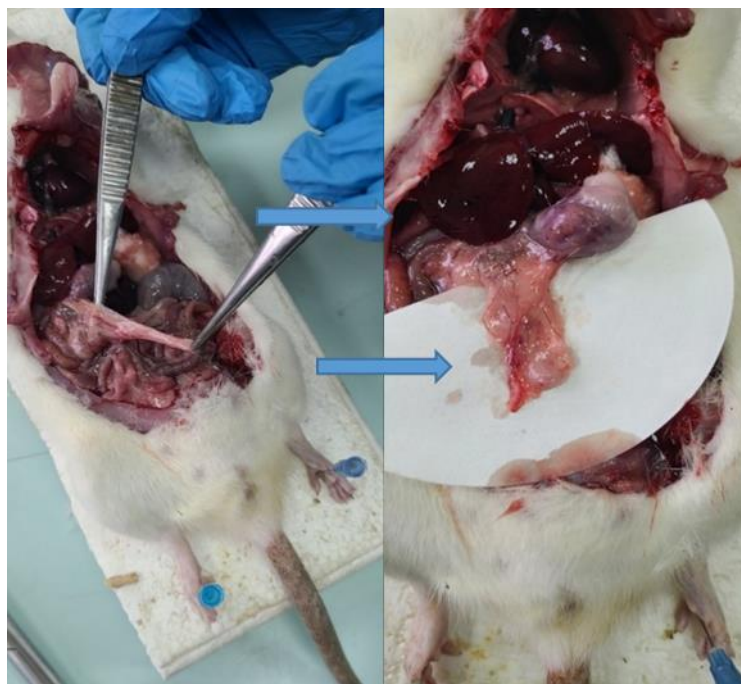


Рисунок 3 – Видалення досліджуваного матеріалу (підшлункової залози та печінки) після виведення щурів із експерименту

Результати дослідження та їх аналіз викладені у наступних 4 розділах відповідно до основних напрямків наукових розробок.

Розділ 3 присвячений дослідженню морфологічних змін паренхіми підшлункової залози та вивченню біохімічних змін у тканинах підшлункової залози і печінки та в плазмі крові щурів із змодельованими патологіями підшлункової залози.

Підшлункова залоза щурів групи ХП+ЦД1 мала більш виражені патологічні зміни (рис. 4). Наявність протокової дисплазії (рис. 4. А, Б) також поєднувалася з вираженою ацинарною метаплазією (рис. 4. В).

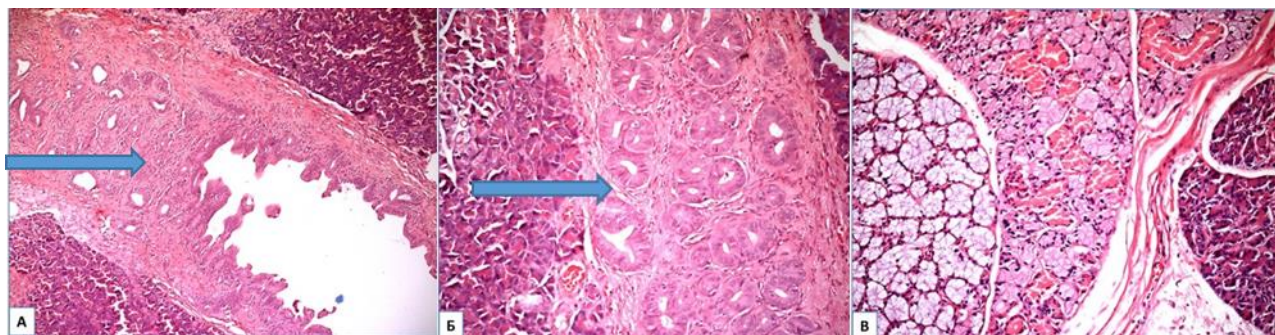


Рисунок 4 – Мікрофотографії підшлункової залози щурів групи хронічний панкреатит + цукровий діабет. Фарбування гематоксилін-еозином, збільшення $\times 100$ (А, В) та $\times 400$ (Б)

Відмічали утворення залоз у фіброзній тканині протоки, проліферація епітелію залоз з вираженою дисплазією, поява папілярних і крибриподібних (ситоподібних та решітчастих) структур, що відповідали високій і помірній дисплазії протоки за рівнем патогістологічної шкали як PanIN2 і PanIN3. Ці зміни є прямими та переконливими предикторами розвитку аденокарциноми у підшлунковій залозі. Порушення PanIN є

шляхом до розвитку раку підшлункової залози і безпосередньо до протокової аденокарциноми.

В обох групах тварин з модельованим патологічним станом виявлено зміни кількісного та якісного складу пептидних пулів сироватки крові та підшлункової залози (рис. 5.). Відмінності були помітніші в сироватці крові, ніж у підшлунковій залозі, і для пулів пептидів з молекулярною масою більше 700 Да. У сироватці крові тварин з ХП та ХП+ЦД1 виявлено появу піків пептидного пулу, які були відсутні в контрольних зразках.

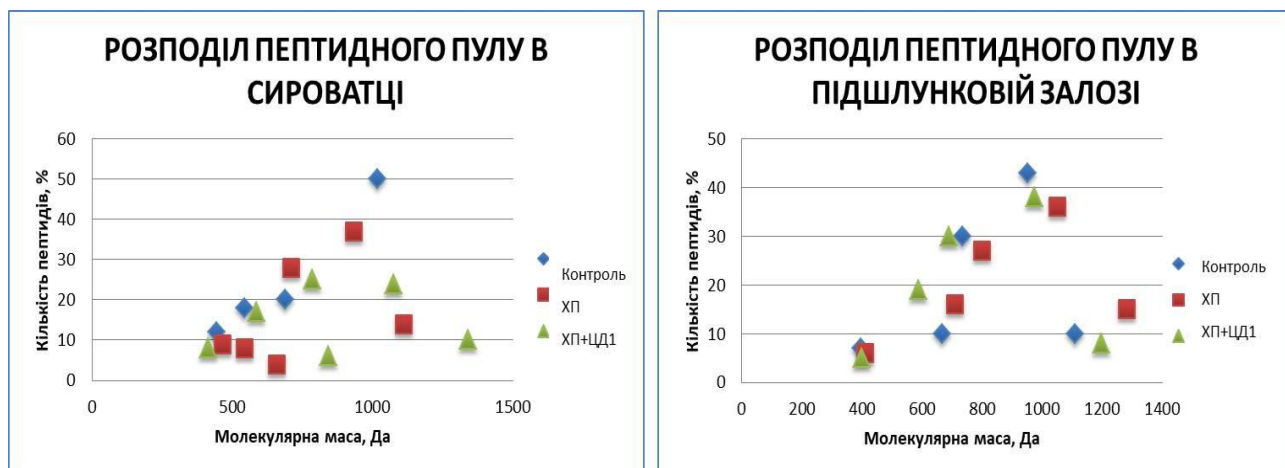


Рисунок 5 – Результати розподілу пептидного пулу в сироватці крові та підшлунковій залозі дослідних груп: контроль, ХП – хронічний панкреатит та ХП + ЦД1 – панкреатит + цукровий діабет

Результати, одержані у ході проведеного дослідження, свідчать про високу активність протеолітичних процесів у віддалені терміни патогенезу ХП як окремо, так і за умов ЦД 1 типу. Посилення протеолізу певною мірою пов'язано зі значним накопиченням у сироватці крові, печінці та ПЗ тварин матриксних металопротеїназ. Надмірна активація останніх призводить до порушення стабільності якісного та кількісного складу пептидних пулів організму та може розглядатися як одна з першопричин формування синдрому ендогенної інтоксикації за умов ХП.

Отримані результати експериментального дослідження є науковим обґрунтуванням їх впровадження у подальші клінічні дослідження, що дасть змогу покращити ранню діагностику та застосовувати найефективніший метод хірургічної корекції злоякісної патології підшлункової залози.

У розділі 4 висвітлені явища протеолізу та його регуляції в організмі людини за патологій підшлункової залози. Для дослідження «випадок-контроль» було відібрано 60 осіб віком 28–89 років, 20 з яких становили групу хворих на ХП, 20 – групу хворих на РПЗ та 20 осіб без патології ПЗ, які були об'єднані у групу умовно здорових осіб (УЗО). Всі групи мали однакове співвідношення пацієнтів за віком та статтю і були пацієнтами хірургічної клініки КНП «Хмельницька обласна лікарня» ХОР, які пройшли стандартне передопераційне обстеження, що включало: аналізи крові та сечі; комп'ютерну томографію органів грудної клітини, черевної порожнини та малого тазу з контрастним підсиленням для оцінки ступеня поширення раку;

біопсію пухлини з патологоанатомічним обстеженням. Усі пацієнти добровільно надали письмову згоду на участь у цих дослідженнях. Останні повністю відповідали етичним та морально-правовим вимогам відповідно до наказу МОЗ України № 281 від 01.11.2000 року, а також Гельсінській декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участі людини та були узгоджені з Комітетом з біоетики ВНМУ ім. М.І. Пирогова (протокол № 15 від 26.09.2021р.; протокол № 6 від 07.05.2025 р.).

Критеріями включення до групи ХП вважали абдомінальний больовий синдром та гістологічно підтверджені структурні зміни ПЗ (хронічне запалення, фіброз, ацинарна атрофія, жирова трансформація та розвиток аномальних проток) із порушенням зовнішньосекреторної функції ПЗ.

Критеріями включення до групи РПЗ була дезорганізація архітекtonіки циліндричного, муцинозного епітелію дрібних панкреатичних протоків з ядерною атипією (ядра цих клітин збільшені, плеїоморфні, хибно орієнтовані), тобто, морфологічні зміни, характерні для третьої, найвищої, стадії панкреатичної внутрішньоепітеліальної неоплазії, яку часто позначають як панкреатичну внутрішньопротокову карциному із найвищим ступенем дисплазії.

Передопераційні зразки плазми були відібрані в день перед операцією натщесерце, а зразки тканини ПЗ – інтраопераційно. Матеріал групи УЗО відбирали після аутопсій, у померлих пацієнтів від причин, не пов'язаних із онкопатологією.

Кров, відібрану пункційно з ліктьової вени пацієнтів у період з 8 до 9 години ранку натще, вносили у пластикову пробірку, що містила лимоннокислий натрій (38 мг/мл) у кінцевому співвідношенні 9:1 та обережно перемішували. Вміст пробірки центрифугували впродовж 40 хвилин при 900 g, надосадову рідину переносили у пластикові пробірки. Отриману плазму крові використовували для аналізу або, за необхідності, заморожували при -20°C у епендорфах. Плазму розморожували прогріванням на водяній бані (37°C) впродовж 20 хвилин, після чого обережно розмішували та перемішували на лід. Для отримання 10 % гомогенату ПЗ 1 г тканини гомогенізували в 9 мл охолодженого 50 мМ Трис- HCl буфера (pH 7,4) і центрифугували при 12000 g протягом 30 хвилин при $+4^{\circ}\text{C}$. Супернатант збирали та використовували для подальших досліджень чи заморожували як описано вище.

Рівні тканевого активатора плазміногену (tissue type plasminogen activator, t-PA) та його інгібітору (plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1), плазміногену (plasminogen, Pg), тромбомодуліну (thrombomodulin, TM), протеїну С (protein C, PC) у плазмі крові, а також цитокіновий профіль (рівні інтерлейкінів (interleukins, ILs) IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-8 та IL-10, фактору некрозу пухлин- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α), інтерферону- γ (interferon- γ , IFN- γ), вміст ростових факторів (інсуліноподібний фактор росту-1 (insulin-like growth factor-1, IGF 1)), фактор росту фібробластів (fibroblast growth factor 2, FGF 2), фактор росту пухлин- β 1 (tumor growth factor- β 1, TGF- β 1), рівні матриксних металопротеїназ (MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-8, MMP-9, MMP-10) та їхнього інгібітору TIMP-1 (tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1) у плазмі крові та в тканині ПЗ визначали методом імуноферментного аналізу із застосуванням відповідних антитіл за загальноприйнятою методикою для розчинних білків відповідно до стандартних інструкцій. Дослідження проводили в 96-лункових плашках, виготовлених з полістиролу, які характеризуються здатністю до сорбції

розчинних білкових макромолекул.

При дослідженні показників крові 10 мкл плазми розводили в буфері (50 мМ Трис-НСІ (рН 7,4), 150 мМ NaCl) до 100 мкл, а у випадку дослідження тканин, їх гомогенати розводили розчином (50 мМ Трис-НСІ (рН 7,4), 130 мМ NaCl) так, щоб концентрація білка становила 10 мкг/мл, та відбирали 100 мкл для нанесення в лунки.

Дослідження тканини ПЗ пацієнтів із ХП встановило збільшені рівні як про-, так і протизапальних цитокінів, за виключенням ІЛ-10, відносно таких у групі УЗО, причому це збільшення було більш вираженим, ніж у плазмі, і становило для протизапального ІЛ-4 – 2,9 раза, $P < 0,05$, а для прозапальних цитокінів (у порядку зменшення): ІЛ-6 – 2,7 раза, $P < 0,05$; TNF- α – 2,5 раза, $P < 0,05$; ІЛ-8 – 2,3 раза, $P < 0,05$; ІЛ-1 β – 2,1 раза, $P < 0,05$. Рівні IFN- γ зростали у 2,1 раза, $P < 0,05$.

У тканині ПЗ хворих на РПЗ вміст цитокінів також був збільшеним відносно такого у групі УЗО. Серед прозапальних цитокінів максимально зростав рівень TNF- α – в 3,3 раза, $P < 0,05$, і надалі у порядку зменшення: ІЛ-1 β – в 3,2 раза, $P < 0,05$, ІЛ-6 – в 2,9 раза, $P < 0,05$; ІЛ-8 – в 2,7 раза, $P < 0,05$; рівні протизапальних цитокінів також були збільшені у 2,5 раза (ІЛ-4) та на 50% (ІЛ-10) ($P < 0,05$).

Збільшеним у 3,1 раза ($P < 0,05$) виявився і вміст IFN- γ . При цьому рівні ІЛ-1 β , ІЛ-8, ІЛ-10, TNF- α та IFN- γ у пухлинній тканині хворих на РПЗ достовірно перевищували значення відповідних показників у групі хворих на ХП (на 54%, 16%, 70%, 34%, 48%, відповідно, $P < 0,05$).

Отримані нами дані узгоджуються з результатами, наведеними іншими дослідниками. Так, за наявною інформацією, ключовими цитокінами, що спостерігаються в сироватці крові та підшлунковій залозі під час ГП та ХП, є інтерлейкіни ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-8, а також фактор некрозу пухлини (TNF- α), причому їхні сироваткові рівні корелюють із тяжкістю захворювання.

Виділення ферментів виконували методом афінної хроматографії з сорбентом бензамідин-сефарозою. Використовували скляну колонку з бензимедин-сефарозою об'ємом 3 мл, попередньо колонку урівноважували 10 об'ємами буферу трис-НСІ (10 мМ, рН 8,0). Для очищення від незв'язаного матеріалу після нанесення колонку промивали 15 об'ємами буферу трис-НСІ (10 мМ, рН 8,0). Елюцію проводили буферним розчином наступного складу: 50 мМ гліцин-НСІ + 1М NaCl, рН буферу становив 3,0. На наступному етапі збирали фракції трипсиноподібних серинових протеїназ, об'єднували між собою та заморожували при -20°C для подальших досліджень.

Зважаючи на те, що вміст загального білка у виділених фракціях трипсиноподібних серинових протеїназ відповідає вмісту зазначених ферментів, вміст серинових протеаз в отриманих фракціях плазми крові та гомогенату тканини ПЗ визначали за методом Бредфорд і виражали у мг/мл. Надалі готували проби для проведення електрофорезу в поліакриламідному гелі (ПААГ).

Диск-електрофорез проводили у поліакриламідному гелі (ПААГ) за присутності денатуруючого додецилсульфату натрію. Використання концентруючого гелю дозволяє результативно розділяти білки у діапазоні молекулярних мас від 10 кДа до 150 кДа, що цілком відповідало вимогам експерименту. Електрофорез проводили у пластинках 10 % акриламиду для розділяючого та 4 % – для концентруючого гелів.

Електрофорез проводили в камері для вертикального препаративного диск-

електрофорезу (Bio-Rad, США) у пластинах товщиною 1 мм з силою струму 19 мА для концентруючого гелю та 36 мА для розділяючого гелів. Після закінчення електрофоретичного поділу досліджуваних зразків, яке контролювали за переміщенням фронту барвника, гелі фіксували у розчині 7,5 % оцтової кислоти та 37,5% ізопропілового спирту впродовж 10 хвилин. Отримані результати дозволили встановити що, при досліджуваних патологіях спостерігаються виражені зміни не лише в кількості білків різної молекулярної маси, а й в розподілі та кількості смуг-бендів у білкових групах різних молекулярних мас як у плазмі, так і в тканинах.

Зимографію трипсиноподібних ферментів та матриксних металопротеїназ за допомогою електрофоретичного розділення проводили згідно загальновідомого та прийнятого методу (Ostapchenko L., 2011). При проведенні електрофорезу розділяючий гель полімеризували за присутності субстратів желатину, фібриногену та колагену з розрахунку 1 мг/мл. Концентрація розділяючого гелю становила 12 %. Розділення зразків проводили за сили струму 19 мА. Кінцевим етапом було відмивання гелів у 2,5 % розчині тритону X-100 протягом години для видалення залишків денатуруючого додецилсульфату натрію. Після цього гелі заливали 0,05 М трис-HCl буфером, рН 7,4, що містив 0,13 М NaCl, та інкубували протягом 12 годин. Фарбування та фіксацію гелів здійснювали відповідно до стандартного протоколу проведення електрофорезу. Загальну протеолітичну активність оцінювали з використанням казеїну як субстрату. Метод заснований на гідролізі казеїну ферментом, що міститься в досліджуваній пробі, з наступним визначенням ступеня розщеплення білка. Розрізнення активностей металопротеїназ та серинових протеаз було досягнуто за допомогою додавання етилендіамінтетраоцтової кислоти (EDTA, 5 мМ) та фенілметилсульфонілфториду (PMSF, 2 мМ) як інгібіторів MMPs і серинових протеаз. Значення активності серинової протеази та MMP визначали шляхом віднімання від загальної активності залишкової активності, виміряної після додавання інгібітора. Отримані результати виражали в умовних одиницях на 1 мг білка. Визначення концентрації білка проводили відповідно до методу Бредфорд (Bradford M., 1976). Виміри проводили на мікропланшетному спектрофотометрі (BioTek Instruments, BioTek, USA) при довжині хвилі 595 нм. Концентрацію визначали за калібрувальним графіком і виражали у мг/мл.

Онкологічно змінені зразки ПЗ продемонстрували більш ніж удвічі знижену загальну протеолітичну активність на фоні падіння активності серинових протеаз, а також більш ніж утричі порівняно з контрольними параметрами. Слід також відмітити аномальний перерозподіл активностей, що інгібуються PMSF та EDTA за умов раку підшлункової залози. Так, трипсиноподібна активність, що є чутливою до PMSF, була вищою за активність матриксних металопротеїназ, що інгібуються EDTA, як в умовно здорових так і у пацієнтів з наявним хронічним панкреатитом. Водночас за умов злоякісної гіперпроліферації відмічено переважання активності MMP над сериновими протеазами.

Дослідження зразків плазми крові показало зростання всіх досліджуваних протеолітичних активностей більш ніж у 2 ($P < 0,05$) рази за ХП та більш ніж у 3 ($P < 0,05$) рази за РПЗ. Однак, в обох випадках, основний внесок в надмірне зростання протеолізу робили, головним чином, активності MMP, а не трипсиноподібні ферменти. Для фракціонування пептидного пулу використовували ексклюзивну

хроматографію на колонці з сефадексом G 15 (Bio Rad, США). Ліофілізат пептидного пулу розчиняли в 50 мМ Трис-НСl буфері (рН 7,4), що містить 130 мМ NaCl; концентрація зразка при нанесенні становила 50 мкг/мл. Зразок наносили та збирали при швидкості потоку 0,5 мл/хв. Хід розділення контролювали спектрофотометрично за допомогою напівавтоматичної системи «BioLogic LP» (BioRad, США). Для оцінки молекулярних мас пептидів колонку попередньо калібрували за допомогою речовин із відомою молекулярною масою – лізоциму (14,3 кДа), інсуліну (5,7 кДа), вітаміну В12 (1,35 кДа) (Hong P., 2012). Відсотковий вміст білків різної молекулярної маси у фракції плазми крові за трипсиноподібних сиринових протеаз змінювався. З'являлися більше груп із різною молекулярною масою.

Також нами було проведено аналіз гомогенатів тканини ПЗ. Фракція TLPs, отримана в пацієнтів із групи УЗО, після проведення диск-електрофорезу за невідновлювальних умов розподілилася на 3 підфракції, при розділенні зразка хворих на ХП було отримано 6 підфракцій, а хворих на РПЗ – 9. За відновлювальних умов у контролі було виявлено 2 підфракції, а в групах хворих на ХП та РПЗ – по 3 підфракції.

За невідновлювальних умов збільшення кількості фракцій TLPs у хворих на ХП відбулося за рахунок появи трьох нових фракцій середньомолекулярних білків (67-35 кДа), а в хворих на РПЗ – через появу додаткових фракцій високо- (+1), середньо- (100-67 кДа; +3) та низькомолекулярних протеїнів (+2).

На доопераційному етапі пацієнтам виконували клінічні та лабораторні дослідження, включаючи запропоновані нами та впроваджені у практику визначення відносного вмісту цитокінів, зміну білкового пулу, структуру, якісний та кількісний білковий склад плазми крові (рис. 6.).

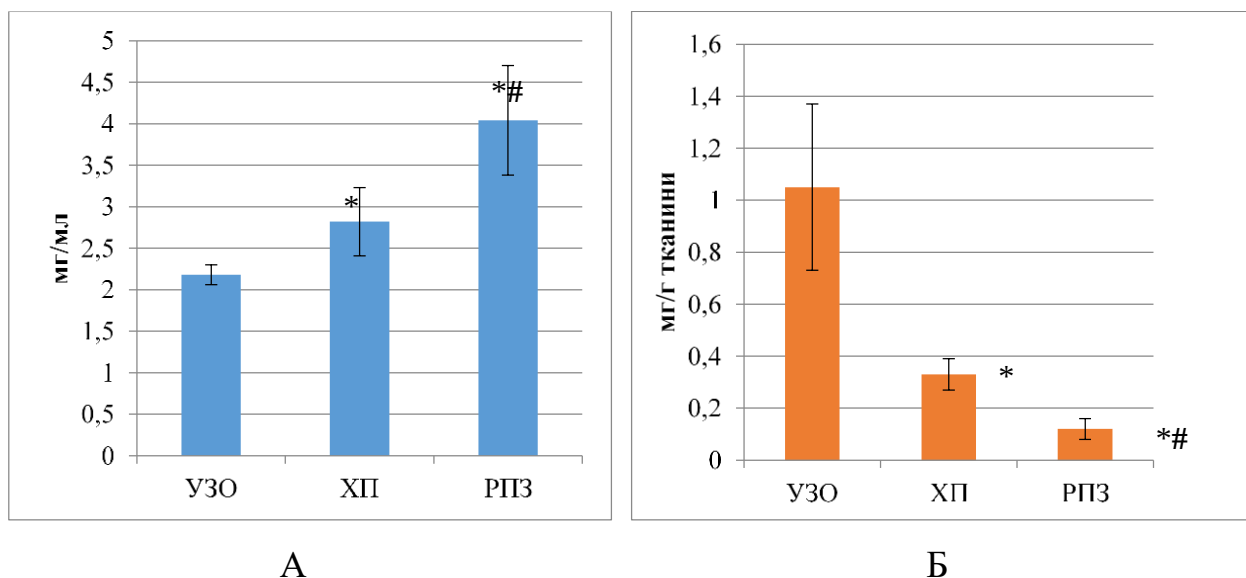


Рисунок 6 – Характеристика результатів дослідження сироватки крові та гомогенату тканини підшлункової залози пацієнтів: концентрація трипсиноподібних сиринових протеаз плазми крові (А) та гомогенату тканини підшлункової залози (Б) хворих на хронічний панкреатит та рак підшлункової залози. * $P < 0,05$ порівняно зі значенням відповідного показника у групі УЗО; # $P < 0,05$ порівняно зі значенням відповідного показника у групі із хронічним панкреатитом

Результати проведених досліджень виявили зростання рівня TLPs у плазмі крові хворих із патологіями ПЗ (ХП - на 29%, РПЗ - на 85% порівняно зі значенням цього показника в групі УЗО, $P < 0,05$), тоді як їх вміст у тканині ПЗ знижувався (ХП - на 69%; РПЗ - на 89% відносно контрольних значень, $P < 0,05$).

На доопераційному етапі, серед інструментальних методів ми використовували ультрасонографію, езофагогастродуоденоскопію, мультидетекторну спіральну комп'ютерну томографію органів черевної порожнини із контрастуванням, ангіографію, магнітно-резонансну томографію, а, безпосередньо, під час оперативного втручання - запропонований нами та запатентований спосіб інтраопераційного вимірювання протокової гіпертензії, а також інтраопераційну множинну експрес панч-біопсію зміненої тканини підшлункової залози (рис. 7).

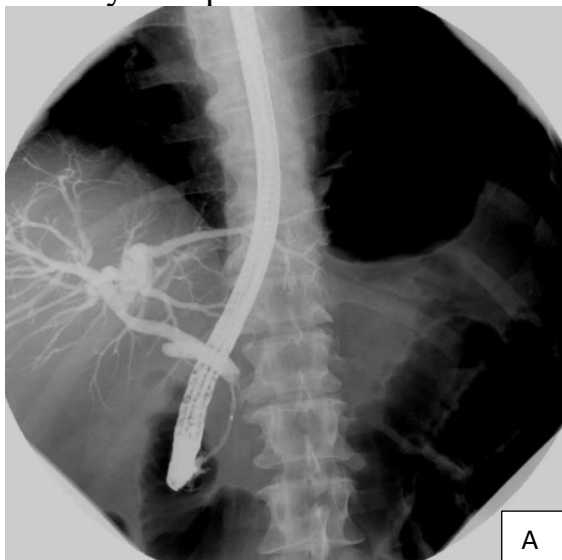


Рисунок 7 – ЕРХПГ пацієнта із пухлиною голівки ПЗ із помірною біліарною гіпертензією та повною стриктурою (А) Вірсунгової протоки в ділянці голівки, а також пацієнта із пухлиною голівки ПЗ (Б) із вираженою біліарною гіпертензією та обструкцією Вірсунгової протоки в ділянці голівки по типу double-duct. Відсутність контрастованої ділянки проксимального відділу протоки

Розділ 5 присвячено застосуванню математичної моделі діагностики та лікування пацієнтів при патології підшлункової залози. Для побудови математичної моделі діагностики сформовано перелік ознак (симптомів), які можуть вказувати на збільшення вірогідності розвитку злоякісної патології. Ознаки з більшою загрозою і відповідно вищим ступенем впливу на збільшення вірогідності розвитку патології виділено окремо – таких ознак було 14, з меншим ступенем впливу – 13. У дослідження було включено 45 пацієнтів, які були прооперовані у період 2016-2020 років. Чоловіків було 27 (60 %), жінок 18 (40 %). Середній вік становив 54 роки (37-77 років). До них відносились пацієнти, які були проліковані із підтвердженим діагнозом ХП або РПЗ, яких ретроспективно проаналізували та підтвердили відповідний діагноз, а також проаналізували 25 різних ознак (симптомів та супутніх діагнозів), що притаманні даним захворюванням (рис. 8).

Діагностика патології ПЗ

Більш впливові симптоми

- ☐ Відмітити усі
- ☒ 1. Фіброз - діагностуємо УЗД та КТ
- ☐ 2. Протокова гіпертензія з екстозіо - показник більше 1 см
- ☒ 3. Оклюзія вісцеральної протоки з раповим обривом у ділянці перешийка чи тіла
- ☐ 4. Збільшення розмірів ПЗ
- ☒ 5. Інтраопераційна біопсія (PanIN 1 - PanIN 3 (1) або метастази)
- ☐ 6. Зміна білкового профілю плазми MMP у передопераційному періоді
- ☐ 7. Панкреатит у анамнезі більше 10 р.
- ☐ 8. Повторні операції з приводу хронічного панкреатиту
- ☐ 9. Сімейний анамнез (ХП чи РПЗ у родичів першої чи другої лінії)
- ☐ 10. Мекалькульозна жовтяниця
- ☐ 11. Зростання вмісту плазминого інгібітору матриксних металопротеїназ (ТІМР)
- ☐ 12. Екзокринна недостатність
- ☒ 13. ЦД - ендокринна недостатність
- ☒ 14. Інтраопераційний експрес-тест - позитивний

Менш впливові симптоми

- ☐ Відмітити усі
- ☒ 1. Біль
- ☐ 2. Втрата маси тіла
- ☐ 3. Саркопенія - визначено за даними УЗД та КТ
- ☒ 4. Протокова гіпертензія з екстозіо - показник до 1 см
- ☒ 5. Конкременти вісцеральної протоки
- ☒ 6. Портальна гіпертензія
- ☒ 7. Панкреатит у анамнезі до 10 р.
- ☐ 8. Приступ гострого панкреатиту або загострення ХП
- ☐ 9. Ожиріння (надлишкова вага) в анамнезі
- ☒ 10. Вік
- ☒ 11. Стать чоловіча
- ☒ 12. Куріння понад 10 р.
- ☒ 13. Алкоголь понад 10 р.

Імовірність злоякісної патології
0.7688312318

Імовірність відсутності патології
0.2311687682

Розрахувати

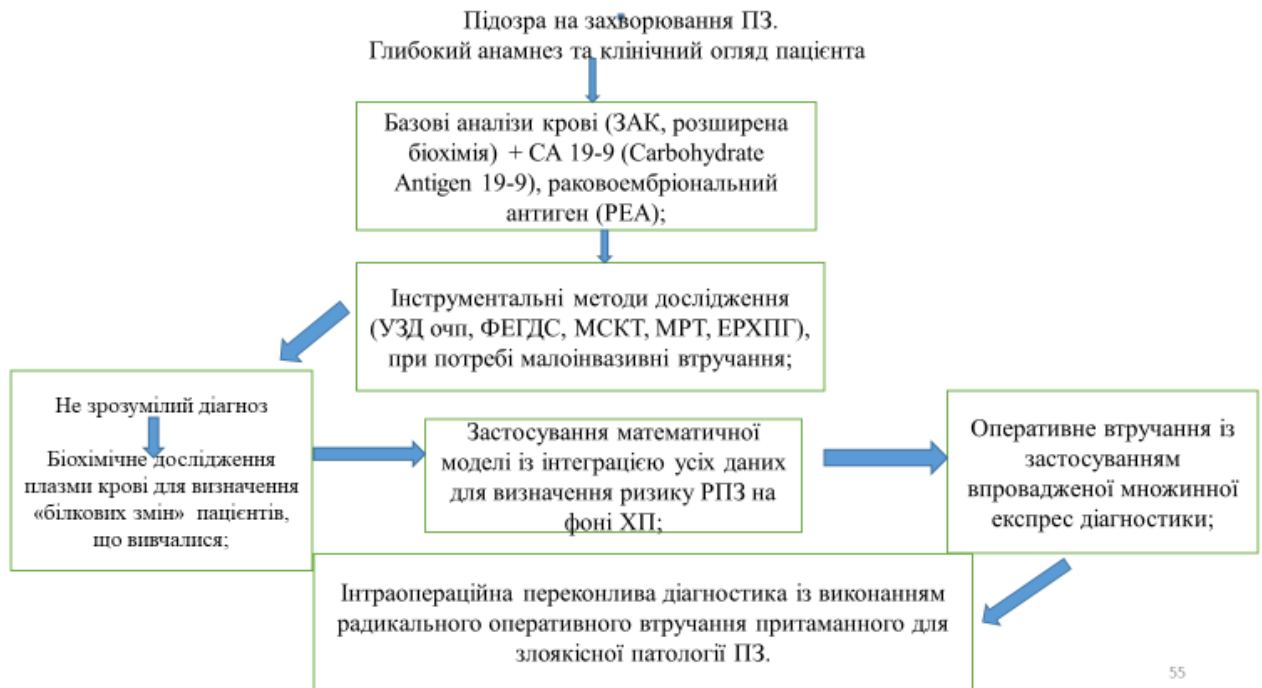
Потужність бустингу (точність діагностики)

0.00 0.50 1.00

Рисунок 8 – Копія екрана: приклад застосування розробленої математичної моделі діагностики імовірності злоякісної патології ПЗ

Була власне розроблена математична модель діагностики на основі бінарної класифікації з використанням відібраних симптомів. Побудований класифікатор з метою доопераційного виявлення злоякісної патології на основі імовірнісної нейронної мережі. В подальшому включене формування набору статистичних даних пацієнтів з коректно поставленим діагнозом для побудови класифікаторів та матриць. Проведена перевірка якості класифікаторів та побудований об'єднаний класифікатор. Тестування бустинг-класифікатора та визначення остаточної якості діагностики на основі розробленої моделі вказали на можливості проведення діагностики з використанням розробленої моделі з точністю до 96 % у найгірших випадках.

Враховуючи вищеописані результати проведеного дослідження та ретроспективного і проспективного аналізу результатів лікування пацієнтів, нами було розроблено та впроваджено у практику алгоритм перед- та інтраопераційної діагностики у пацієнтів групи ризику, що відображено на рисунку 9.



55

Рисунок 9 – Алгоритм перед- та інтраопераційної діагностики у пацієнтів групи ризику РПЗ.

У розділі 6 розглянуто питання хірургічного лікування пацієнтів з показами до оперативних втручань та шляхів їх виконання. Проаналізовано причини виникнення панкреатичних нориць, до яких належать: порушення цілісності протоки у пацієнтів із протоковою гіпертензією пролежнем від конкременту з подальшим утворенням дефекту, травма ПЗ, занедбана пухлина ПЗ, часткова або повна неспроможність анастомозу чи кукси ПЗ, а також деструкція після післяопераційного панкреатиту, панкреонекрозу. На теперішній час відсутні уніфіковані протоколи хірургічного лікування ПА та ПН, тому у різних клініках застосовують різні підходи, від консервативних методів до обширних багатоетапних втручань.

Встановлено, що при формуванні асцити внаслідок травми ПЗ питання про хірургічну корекцію необхідно ставити якомога раніше, до виникнення ускладнень. При появі асцити у хворих на РПЗ лікування симптоматичне, оскільки це є ознакою декомпенсації процесу. Удосконалені оперативні втручання при різних типах нориць підшлункової залози. Наведений запропонований спосіб лікування хронічного панкреатиту, ускладненого повною панкреатичною норицею з непрохідністю проксимального відділу вірсунгової протоки – центральна резекція ПЗ із збереженням лівого анатомічного сегменту. Доведена ефективність даного виду оперативного втручання (свідectvo про реєстрацію авторського права № 120597 від 18.07.2023).

Операції при внутрішньочеревних та зовнішніх кровотечах виконані у 18 пацієнтів. Причинами були: у 3 пацієнтів (16,6 %) кровотеча з ділянки пухлини голівки ПЗ, у 4 (22,2 %) – вірсунго-венозна нориця, у 5 (27,8 %) - псевдоаневризма селезінкової артерії із сполученням із вірсунговою протокою, у 5 (27,8 %) – кіста ПЗ

з кровотечею в порожнину, що сполучалася з вірсунговою протокою, у 1 (5,55 %) – псевдоаневризма панкреатодуоденальної артерії із ускладненим ХП. При лікуванні на першому етапі у трьох (16,6 %) пацієнтів застосовувались ендоваскулярні методи їх зупинки за допомогою ангіографічної емболізації, яка у двох з них (66,7 %) була неефективною та потребувала відкритого хірургічного втручання. При неефективності проводились оперативні втручання з приводу зупинки шлунково-кишкової кровотечі, під час яких також виконувалась паралельна хірургічна корекція ускладнень ХП: протокової гіпертензії із вираженим больовим синдромом, вірсунголітіазу, нориці ПЗ. У післяопераційному періоді дотримувались канонів fast track хірургії. Пацієнтів максимально швидко активізували, переконавшись у відсутності стази в шлунку, дозволяли з другої післяопераційної доби пити воду та рідку їжу.

При оперативних втручаннях на кістах, псевдокістах та інших рідинних утвореннях підшлункової залози запроваджена інтраопераційна пункційна панкреатівірсунгографія, яка дозволяє диференціювати тип змін протокової системи підшлункової залози, рівень обструкції, наявність конкрементів у просвіті, а також диференціювати вірогідність сполучення кістозних утворень ПЗ із протоковою системою у хворих з ускладненим ХП. Її застосування дозволяє обрати належний метод операції та забезпечити кращий результат оперативного втручання при ускладнених формах ХП. Завдяки комплексному підходу та діагностиці вдалося диференціювати тип змін протокової системи підшлункової залози у хворих із ускладненим ХП та виявити у 64 % протокову гіпертензію із стриктурою протоки в ділянці перешийка та голівки, а у 43,4 % сполучення кістозних утворень з протокою ПЗ, у 9 % – наявність внутрішньої нориці ПЗ.

У хворих на хронічний панкреатит з високим ризиком раку підшлункової залози були впроваджені запропоновані вдосконалені методики до- та інтраопераційної діагностики. Пацієнтам основної групи на доклінічному етапі визначались: тканинний інгібітор металопротеїнази 1 (TIMP-1), матрична металопротеїназа 9 (MMP-9), рецептор активатору плазміногену типу урокінази (uPAR), цитокінін інгібітор макрофагів (M1C-1) та застосовувалась інтраопераційна множинна поліпанч біопсія і зішкроб Вірсунгового протока з експрес-діагностикою (свідчення про реєстрацію авторського права: «Методика інтраопераційної біопсії підшлункової залози» № 115178 від 11.10.2022 та «Методика інтраопераційної множинної біопсії підшлункової залози» № 114856 від 19.09.2022) (рис. 10).

Отримані результати були причиною зміни обсягу оперативного втручання. Так, інтраопераційно, після проведення панч-біопсії серед пацієнтів основної групи у 6 (26,1 %) встановлена ацинарна метаплазія, у 8 (34,7 %) – зміни у тканині, що характерні для PanIN високого ступеня (рис. 11 (А)). У решти 9 (39,2 %) інтраопераційно підтвердили наявність раку підшлункової залози з локалізацією в її головці у 5 (55,5 %) та у 4 (44,5 %) пацієнтів із локалізацією в лівому анатомічному сегменті (рис. 11 (Б)). Отримані зміни у білковому профілі плазми, який визначали на доопераційному етапі, а також характерні інтраопераційні гістоморфологічні зміни у тканині підшлункової залози дозволили встановити вірний діагноз та були підставою для виконання розширених резекційних втручань, що необхідно проводити пацієнтам при злоякісній патології ПЗ (рис. 2, 12).

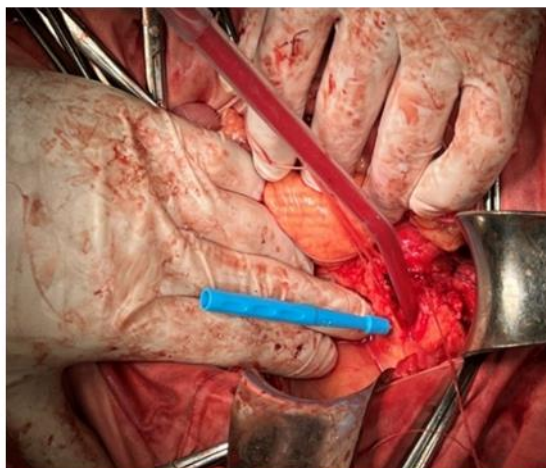
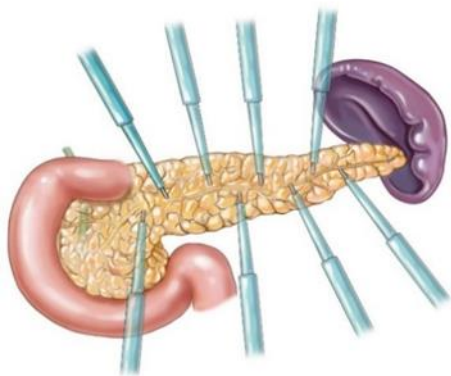


Рисунок 10 – Інтраопераційна панч-біопсія зміненої тканини ПЗ

Тому було виконано 13 (56,5 %) операцій Whipple та 10 (43,5 %) розширених лівобічних дистальних резекцій ПЗ із спленектомією та лімфодисекцією. У решти 11 (32,3 %) пацієнтів з ускладненим хронічним панкреатитом, протоковою гіпертензією, больовим синдромом, проте, не діагностованої під час інтраопераційної біопсії малігнізації, виконували притаманне для ускладненого ХП дренуюче або ж резекційне оперативне втручання: у 2 (18,2 %) пацієнтів із вираженими фіброзними змінами голівки ПЗ та значним больовим синдромом виконано операцію Whipple, 3 (27,3 %) пацієнтам – дренуюче оперативне втручання – поздовжню панкреатоєюностомію, 4 (36,4 %) із протоковою гіпертензією та больовим синдромом – операцію Фрея із фронтальною резекцією ПЗ та 2 (18,2 %) – центральні, запропоновані нами резекції ПЗ із збереженням лівого анатомічного сегменту (свідчення про реєстрацію авторського права № 120597 від 18.07.2023), для попередження наростання подальшої панкреатичної недостатності.

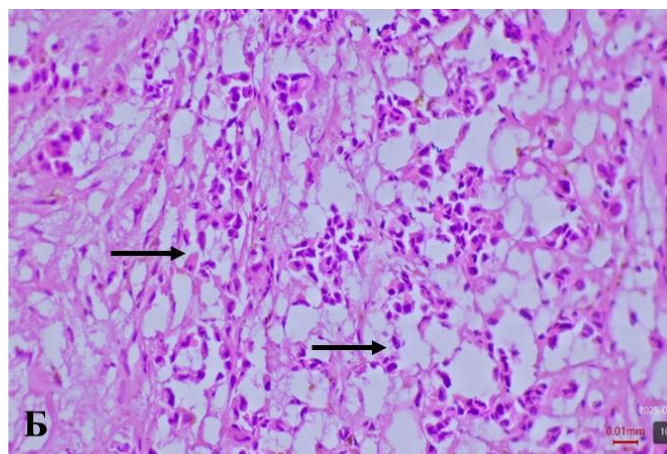
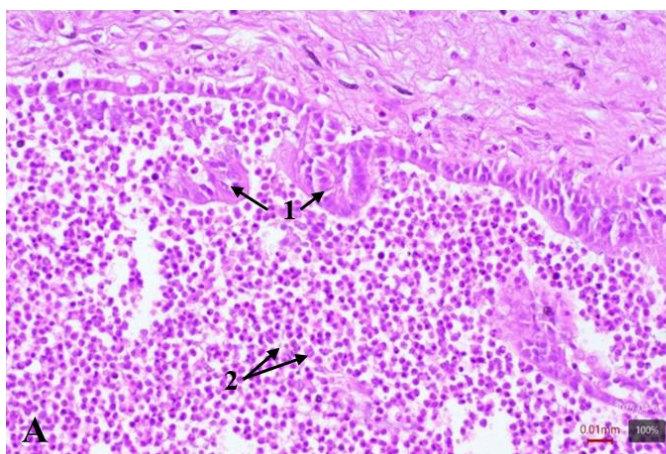


Рисунок 11 – Мікрофотографії підшлункової залози пацієнтів основної групи: А) ознаки метаблазії (1 – метаблазія) на фоні вираженого запалення (2 – запалення) при збільшенні $\times 200$. Фарбування гематоксилін-еозином. Б) ознаки РПЗ при збільшенні $\times 400$. Фарбування гематоксилін-еозином

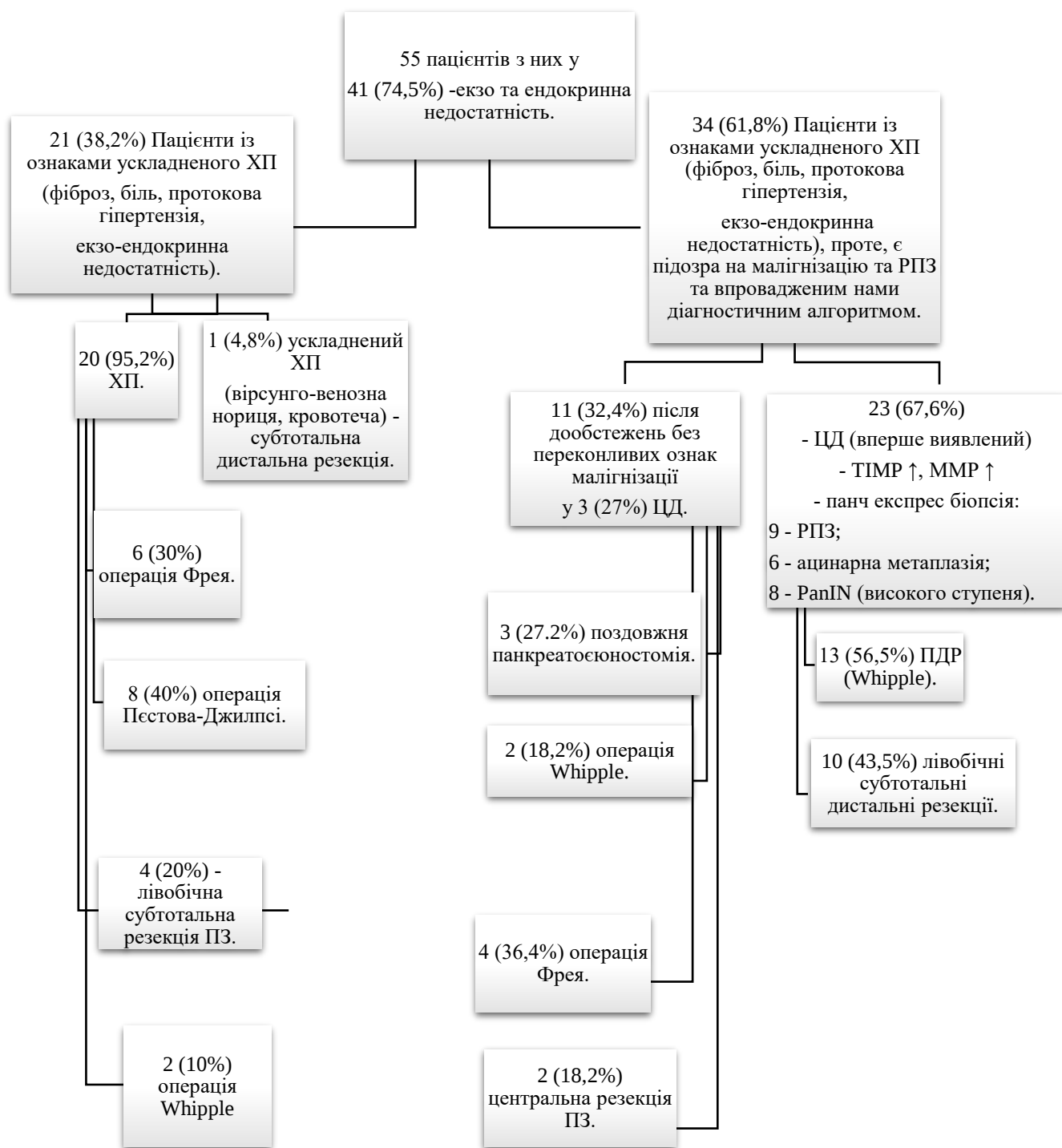


Рисунок 12 – Характеристика пролікованих пацієнтів із ускладненими формами ХП та високим ризиком розвитку РПЗ

ВИСНОВКИ

Дисертаційна робота містить новий підхід до розв'язання наукової проблеми підвищення ефективності діагностики і хірургічного лікування пацієнтів з ускладненими формами хронічного панкреатиту з високим ризиком розвитку раку підшлункової залози, який передбачає використання і впровадження запропонованого вдосконаленого алгоритму до- та інтраопераційної діагностики та вибору найоптимальнішого та радикальнішого методу хірургічного втручання.

1. Розроблена та впроваджена у дослідження нова експериментальна модель хронічного панкреатиту із послідовним моделюванням цукрового діабету (ЦД), яка спрямована на вивчення проблеми і патогенезу розвитку хронічного панкреатиту у комбінації із цукровим діабетом, дозволила встановити причинно-наслідкові зв'язки змін, притаманних розвитку раку підшлункової залози, тим самим забезпечуючи ранню діагностику малігнізації тканини та своєчасну оптимізацію стратегії лікування ускладненого хронічного панкреатиту. Аналіз якісного та кількісного складу пептидних пулів в крові та паренхімі підшлункової залози у тварин при моделюванні хронічного панкреатиту та хронічного панкреатиту у поєднанні з цукровим діабетом переконливо засвідчив принципові відмінності у молекулярній масі та кількості пептидів. Поява нових пептидних фракцій у діапазоні 400 Да – 1300 Да за наявних патологічних станів, певні відмінності в їх кількості вказують про значні метаболічні порушення при хронічному панкреатиті, активізацію катаболічних реакцій та підтверджують наявність зв'язку між гістопатологічними особливостями підшлункової залози у вигляді фіброзу і проявів низької панкреатичної інтраепітеліальної неоплазії при хронічному панкреатиті і високої та помірної панкреатичної інтраепітеліальної неоплазії при хронічному панкреатиті із цукровим діабетом (предиктор розвитку раку підшлункової залози) та змінами у пулах пептидів в крові і тканині тварин.

2. Дослідження вмісту тригерних компонентів системи протеолізу та цитокінів у сироватці крові, печінці та підшлунковій залозі щурів із хронічним панкреатитом окремо та у поєднанні з цукровим діабетом вказує на достовірне підвищення вмісту інтерлейкіну-6, TNF α та матриксної металопротеїнази-2, -9 у сироватці крові, печінці та підшлунковій залозі тварин, причому зростання вмісту інтерлейкіну-6, TNF α , рівня металопротеїнази-2 є більш виразним при хронічному панкреатиті + цукровий діабет; тоді як, збільшення металопротеїнази-9 більш виразне при хронічному панкреатиті. Отримані дані свідчили про наявність виразного запального процесу і його системний характер за досліджуваних патологій, порушення бар'єрної функції клітинних мембран, зростання частки некротизованих клітин, а значне достовірне збільшення вмісту металопротеїнази-9 на 44 добу у групі з хронічним панкреатитом є негативним прогностичним маркером щодо загрози виникнення раку підшлункової залози.

3. Дослідження тригерних компонентів системи протеолізу та цитокінів у плазмі крові та підшлунковій залозі пацієнтів за умов розвитку хронічного панкреатиту вказало на достовірне зростання значень переважної більшості досліджуваних параметрів (вміст Pg, PC, TM, IGF-1, MMP-1, -2, -3, -8, -10, TIMP-1, IL-1 β , -4, -6, -8, TNF- α) на рівні системної циркуляції відносно групи умовно здорових

осіб, та відсутністю достовірних змін у вмісті як про-, так і протизапальних цитокінів у плазмі крові хворих на рак підшлункової залози, за виключенням IL-1 β , рівні якого мали тенденцію до зростання. У хворих на ХП в плазмі крові відбувалось найбільше зростання рівнів IL-1 β (на 95 %), та IL-8 (на 80 %), а у тканині підшлункової залози зміни їх рівнів були найменшими з максимальним зростанням рівнів протизапального IL-4 (IL-4 – 2,9 рази, найбільші зміни) та прозапальних IL-6 (в 2,7 рази) й TNF- α (в 2,5 рази) ($p < 0,05$). У хворих на рак підшлункової залози в тканині підшлункової залози відносно групи умовно здорових осіб потужно зростали рівні TNF- α (в 3,3 рази), IL-1 β (в 3,2 рази) та IL-6 (в 2,9 рази), IL-8 (в 2,7 рази) ($p < 0,05$).

4. Дослідження протеолітичної активності у плазмі крові показало зростання всіх досліджуваних протеолітичних активностей більш ніж в 2 рази при хронічному панкреатиті ($p < 0,05$) та більш ніж в 3 рази при раку підшлункової залози ($p < 0,05$) переважно за рахунок підвищеної активності матриксних металопротеїназ (не трипсиноподібних ферментів). При дослідженні тканини підшлункової залози її загальна протеолітична активність підвищувалася більш ніж у 2,5 рази при хронічному панкреатиті ($p < 0,05$) порівняно з контролем. Натомість, дослідження онкологічно змінених зразків тканини підшлункової залози продемонструвало більш ніж удвічі знижену загальну протеолітичну активність на фоні падіння активності серинових протеаз ($p < 0,05$), що може бути діагностичним критерієм злякисного процесу.

5. При визначенні протеолітичної активності матриксних металопротеїназ у крові та підшлунковій залозі при хронічному панкреатиті та раку підшлункової залози встановлено, що як процеси запалення, так і онкопатологія супроводжувались ремодуляцією екстрацелюлярного матриксу внаслідок зміни складу матриксних металопротеїназ, що проявлялось зростанням кількості активних MMP різної молекулярної маси, які показували желатиназну та колагенолітичну активності як в плазмі, так і в ураженому органі за досліджуваних патологій. Відмічалось зростання їх вмісту у тканині підшлункової залози хворих з ХП (MMP-1 в 3,2 раза; MMP-8 – в 2,7 раза; MMP-9 та MMP-10 – в 2,3 раза; MMP-3 – на 83 %; MMP-2 – на 66 % та вмісту TIMP у 2,6 раза) та при РПЗ (MMP-9 – в 3,3 раза, MMP-10 – в 3,1 раза і MMP-8 та MMP-1 – в 2,9 раза, MMP-3 – в 2,7 раза) та MMP-2 – в 2,3 раза), що вказує на активну роль цих ферментів у ремоделюванні позаклітинного матриксу, котре у випадку хронічного панкреатиту сприяє розвитку фіброзу підшлункової залози, а за наявності раку підшлункової залози полегшує інвазію, ангіогенез та метастазування.

6. За умови хронічного панкреатиту і раку підшлункової залози протеолітичні процеси мають ряд особливостей в крові і панкреатичній тканині пацієнтів, що характеризується вищим рівнем трипсиноподібних серинових протеаз у плазмі крові (при хронічному панкреатиті – на 29 %, при раку підшлункової залози – на 85 %, $p < 0,05$) та нижчим – у тканині підшлункової залози (при хронічному панкреатиті – на 69 %, при раку підшлункової залози – на 89 %, $p < 0,05$) відносно значень відповідних показників у групі умовно здорових осіб. У плазмі крові хворих на хронічний панкреатит переважали низькомолекулярні компоненти, а в пацієнтів із раком підшлункової залози – середньомолекулярні білки, які характеризуються вираженими регуляторними функціями та токсичними впливами.

7. За умов хронічного запалення підшлункової залози спостерігається достовірне зростання значень переважної більшості досліджуваних параметрів: вмісту Pg, PC, TM, IGF-1, MMP-1, -2, -3, -8, -10, TIMP-1, IL-1 β , -4, -6, -8, TNF- α на рівні системної циркуляції. Зважаючи на те, що за умов хронічного панкреатиту та раку підшлункової залози доведено статистично достовірне підвищення в плазмі крові лише рівнів протеїну C та тромбомодуліну (за умов хронічного панкреатиту – майже у 3 та 4 рази ($p < 0,05$), відповідно, та за умов онкопатології підшлункової залози – на 30-40% ($p < 0,05$), інші параметри, зокрема, вміст MMPs та ILs, можуть слугувати перспективним діагностичним критерієм для визначення переходу хронічного запалення у підшлунковій залозі до злоякісної трансформації. Вміст MMP-2, -3, -9, -10 і TIMP-1, а також всіх досліджуваних ILs (окрім IL-4 і IL-6) у тканині підшлункової залози хворих на рак підшлункової залози, статистично достовірно перевищував значення відповідних показників у хворих на хронічний панкреатит ($p < 0,05$).

8. Розроблена математична модель ранньої діагностики злоякісної патології підшлункової залози у формі бінарної класифікації з використанням імовірнісних нейронних мереж на основі наявної групи реальних статистичних даних у формі симптомів у досліджуваних пацієнтів надала змогу виявляти її з точністю до 96% у найгірших випадках. Класифікатор визначає діагноз безпомилково у випадку кількості помилкових симптомів не більше п'яти в кожному переліку групи ознак з меншим та більшим ступенем впливу на збільшення вірогідності розвитку злоякісної патології.

9. Застосування математичної моделі забезпечує вагому перевагу в ранній діагностиці злоякісної патології підшлункової залози ще на доклінічному етапі, на ранній стадії захворювання, що дає змогу вчасно оптимізувати вибір об'єму оперативного втручання при ускладнених формах хронічного панкреатиту у пацієнтів із високим ризиком розвитку раку підшлункової залози; переконливо забезпечує основні переваги у можливості проведення ранньої діагностики злоякісної патології підшлункової залози, селективній верифікації «потрібних нам пацієнтів» із групи ризику (хворі з сумнівним діагнозом); виконати своєчасні радикальні оперативні втручання та відповідно та покращити якість та успішність хірургічного лікування.

10. Використання комплексного підходу з впровадженням нових і вдосконалених методів до- та інтраопераційної діагностики з використанням запропонованих лабораторних методів, побудованої математичної моделі діагностики злоякісної патології підшлункової залози, інтраопераційної множинної біопсії підшлункової залози дало змогу сформулювати алгоритм проведення розширених ранніх радикальних оперативних втручань на підшлунковій залозі у групі пацієнтів із сумнівним діагнозом та при злоякісній патології виконати його вчасно у більшому резекційному об'ємі.

11. В результаті застосування запропонованого алгоритму перед-, інтраопераційної діагностики та проведення розширених ранніх радикальних оперативних втручань на підшлунковій залозі в основній групі пацієнтів із сумнівним діагнозом у 6 (26,1 %) хворих діагностовано ацинарну метаблазію, у 8 (34,7 %) – панкреатичну інтраепітеліальну неоплазію високого ступеню, у решти 9 (39,2 %) інтраопераційно підтвердили наявність раку підшлункової залози з локалізацією в головці у 5 (55,5 %) та в ділянці лівого анатомічного сегменту підшлункової залози –

у 4 (44,5 %), що було підставою для проведення розширених резекційних втручань у вигляді виконання 13 (56,5 %) операцій Whipple і 10 (43,5 %) розширених лівобічних дистальних резекцій підшлункової залози із спленектомією та лімфодисекцією.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. З метою скринінг-діагностики пацієнтів із ускладненими формами хронічного панкреатиту з високим ризиком розвитку раку підшлункової залози слід використовувати розроблений алгоритм до- та інтраопераційної діагностики, плазми та біопсійного матеріалу, яка передбачає кількісну оцінку вмісту MMP-2, -3, -9, -10 й TIMP-1, а також всіх досліджуваних ILs (IL-1 β , -4, -6, -8, а також TNF- α), та якісних морфологічних змін у паренхімі підшлункової залози.

2. Для раннього прогнозування розвитку злоякісної патології рекомендовано використовувати розроблену математичну модель ранньої діагностики злоякісної патології підшлункової залози, що дає змогу її діагностувати з точністю до 96 % у найгірших випадках. Якщо ж кількість помилкових симптомів не перевищує п'яти у кожному переліку групи ознак (симптомів) з меншим та більшим ступенем впливу на збільшення вірогідності розвитку злоякісної патології, то класифікатор визначає діагноз майже безпомилково. Отримані результати забезпечують ранню діагностику на доклінічному етапі та на ранній стадії захворювання, що покращує ефективність діагностики та дозволяє виконати радикальні оперативні втручання на ранній стадії захворювання та забезпечити покращення якості життя пацієнтів.

3. Інтраопераційно слід використовувати запропоновані способи покращених біопсій: «Методика інтраопераційної біопсії підшлункової залози» та «Методика інтраопераційної множинної біопсії підшлункової залози». Їх результат може бути причиною зміни хірургічної корекції патології підшлункової залози у напрямку збільшення резекційного об'єму, що забезпечить отримання більш радикального та якісного лікування із покращенням якості життя у найближчому та віддаленому післяопераційному періоді.

4. Для подальших наукових досліджень ранньої діагностики раку підшлункової залози слід використовувати нову експериментальну модель хронічного панкреатиту із послідовним моделюванням експериментального цукрового діабету у цих же тварин, що спрямована на вивчення проблеми та патогенезу розвитку хронічного панкреатиту у комбінації із цукровим діабетом та раком підшлункової залози. Результати дозволяють встановити причинно-наслідкові зв'язки змін притаманних розвитку раку підшлункової залози, забезпечуючи раннє діагностування малігнізації тканини та своєчасну оптимізацію стратегії лікування ускладненого хронічного панкреатиту.

5. У пацієнтів із групи ризику, необхідно ставили більш ранні покази до оперативного втручання, та виконували його у більшому резекційному об'ємі, притаманному для злоякісної патології.

Ключові слова: хронічний панкреатит, рак підшлункової залози, матриксні металопротеїнази, пептидний пул, інтраопераційна діагностика захворювання підшлункової залози, рання діагностика та прогнозування раку підшлункової залози.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті, опубліковані у наукових журналах, внесених до наукометричних баз Scopus, Web of Science:

1. Sukhodolia S, Kalmukova O, Raksha N, Sukhodolia A, Kuryk O, Savchuk O. Peptide pool instability of precancerous lesions in rats with chronic pancreatitis model and/or without type 1 diabetes mellitus [published online as ahead of print on January 14, 2025]. Adv Clin Exp Med. 2025. Doi:10.17219/acem/193243. *(У науковому фаховому виданні затвердженому Міністерством освіти та науки України, категорія А, яке внесене до наукометричної бази Scopus, Q1). (Особистий внесок здобувача – розробка експерименту, формування концепції та дизайн роботи, збір та аналіз даних, статистичний аналіз, оцінка та аналіз отриманих результатів, написання та підготовка публікації до друку).*

2. Raksha N, Halenova T, Vovk T., Savchuk O, Berehovyi S, Beregova T, Sukhodolia S, Ostapchenko L. Disturbances of extracellular protein metabolism in ceruleininduced pancreatitis. Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences, 2020, Sciendo, vol. 33 no. 3, pp. 121-124. <https://doi.org/10.2478/cipms-2020-0022>. *(У науковому фаховому виданні затвердженому Міністерством освіти та науки України, категорія А, яке внесене до наукометричної бази Scopus, Q4). (Особистий внесок здобувача – формування концепції та дизайн роботи, збір та аналіз даних, статистичний аналіз, оцінка та аналіз отриманих результатів, написання та підготовка публікації до друку).*

3. Synelnyk, TB, Kravchenko, OO, Kostiuk, OS, Savchuk, OM, Sukhodolia, SA, and Ostapchenko, LI. The trigger components of the proteolytic system and their modulators content under pancreatic pathologies development. Fiziol Zh. (2022) 68:33–44. Doi: 10.15407/fz68.05.033. *(У науковому фаховому виданні затвердженому Міністерством освіти та науки України, категорія А, яке внесене до наукометричної бази Scopus, Q4). (Особистий внесок здобувача – збір та аналіз даних, статистичний аналіз, оцінка та аналіз отриманих результатів, написання та підготовка публікації до друку).*

4. Synelnyk TB, Kravchenko OO, Kostiuk OS, Savchuk OM, Sukhodolia SA, Ostapchenko LI. Distribution of serine proteases in blood plasma and pancreas in chronic pancreatitis and oncopathology. Fiziol Zh. 2022;68(6):31-43. *(У науковому фаховому виданні затвердженому Міністерством освіти та науки України, категорія А, яке внесене до наукометричної бази Scopus, Q4). (Особистий внесок здобувача – оперативні втручання, збір та аналіз даних, статистичний аналіз, оцінка та аналіз отриманих результатів, написання та підготовка публікації до друку).*

5. O. Yu. Usenko, V. V. Petrushenko, S. A. Sukhodolia, A. I. Sukhodolia, O. M. Savchuk, Ia. V. Radoga, I. I. Savchuk. Optimization of the selection of the volume of surgical intervention in cases of pronounced morphological and structural changes of the parenchyma in patients with a high risk of developing pancreatic cancer. DOI: [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30\(1\)-06](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30(1)-06). *(У науковому фаховому виданні затвердженому Міністерством освіти та науки України, категорія А, яке внесене до наукометричної бази Scopus, Q4). (Особистий внесок здобувача – оперативні втручання, збір та аналіз даних, статистичний аналіз, оцінка та аналіз*

отриманих результатів, написання та підготовка публікації до друку).

6. Kravchenko O, Synelnyk T, Kostiuk O, Halenova T, Raksha N, Savchuk O, et al. Proteolytic activity in chronic pancreatitis and pancreatic cancer. *Minerva Biotechnol Biomol Res* 2024;36:161-8. DOI: 10.23736/S2724-542X.24.03150-X. *(У науковому фаховому виданні затвердженому Міністерством освіти та науки України, категорія А, яке внесене до наукометричної бази Scopus, Q4). (Особистий внесок здобувача – оперативні втручання, збір та аналіз даних, статистичний аналіз, оцінка та аналіз отриманих результатів, написання та підготовка публікації до друку).*

Статті, опубліковані у наукових фахових виданнях, затверджених Міністерством освіти та науки України:

7. Sukhodolia, A. I., Pidmurnyak, O. O., Sukhodolia, S. A., Troparchuk, O. I., Kolomiets, O. V. (2016). Діагностика та визначення тактики хірургічного лікування ускладнених форм хронічного панкреатиту. Шпитальна хірургія. Журнал імені Л. Я. Ковальчука, (3). <https://doi.org/10.11603/2414-4533.2016.3.6794>. *(У науковому фаховому виданні затвердженому Міністерством освіти та науки України, категорія Б). (Особистий внесок здобувача – виконання оперативних втручань, збір та аналіз даних, статистичний аналіз, оцінка та аналіз отриманих результатів, написання та підготовка публікації до друку).*

8. Усенко, О. Ю., Суходоля, А. І., Суходоля, С. А., Лобода, І. В., Монастирський, В. М., & Просвітлюк, П. В. (2017). Панкреатичні нориці як ускладнення хронічного панкреатиту. Діагностика й лікування. Клінічна хірургія, (9), 10-13. DOI: 10.26779/2522-1396.2017.09.10. *(У науковому фаховому виданні затвердженому Міністерством освіти та науки України, категорія Б). (Особистий внесок здобувача – виконання оперативних втручань, збір та аналіз даних, статистичний аналіз, оцінка та аналіз отриманих результатів, написання та підготовка публікації до друку).*

9. Sukhodolia, A. I., Sukhodolia, S. A., Monastyrskyi, V. M., & Loboda, I. V. (2017). Інтраопераційна панкреатівірсунографія в комплексній діагностиці ускладнень хронічного панкреатиту. Клінічна анатомія та оперативна хірургія, 16(3), 50-53. DOI:10.24061/1727-0847.16.3.2017.76 *(У науковому фаховому виданні затвердженому Міністерством освіти та науки України, категорія Б). (Особистий внесок здобувача – виконання оперативних втручань, збір та аналіз даних, статистичний аналіз, оцінка та аналіз отриманих результатів, написання та підготовка публікації до друку).*

10. А.І. Суходоля, А.С. Моргун, С.А. Суходоля., Вплив корекції внутрішньочеревної гіпертензії на покази до оперативного втручання при гострому панкреатиті // Клінічна хірургія. – 2017. - № 10. - С. 20-22. <https://doi.org/10.26779/2522-1396.2017.10.20> *(У науковому фаховому виданні затвердженому Міністерством освіти та науки України, категорія Б). (Особистий внесок здобувача – виконання оперативних втручань, збір та аналіз даних, статистичний аналіз, оцінка та аналіз отриманих результатів, написання та підготовка публікації до друку).*

11. А.С. Моргун, А.І. Суходоля, О.В. Кабанов, С.А. Суходоля, Корекція внутрішньочеревного тиску у щурів з гострим панкреатитом введенням

міорелаксанту тривалої дії піпекуронію броміду // Клінічна хірургія. – 2017. - № 1. - С. 67-69. (У науковому фаховому виданні затвердженому Міністерством освіти та науки України, категорія Б). (Особистий внесок здобувача – виконання оперативних втручань, збір та аналіз даних, статистичний аналіз, оцінка та аналіз отриманих результатів, написання та підготовка публікації до друку).

12. Sukhodolia, A. I., Sukhodolia, S. A., Mosiychuk, V. P., & Makohonskyi, M. V. (2019). Хронічний панкреатит та цукровий діабет-предиктори розвитку раку підшлункової залози. The Ukrainian Journal of Clinical Surgery, 86(4), 67-71. doi.org/10.26779/2522-1396.2019.04.67 (У науковому фаховому виданні затвердженому Міністерством освіти та науки України, категорія Б). (Особистий внесок здобувача – збір та аналіз даних, обробка наукової літератури, оцінка та аналіз отриманих результатів, написання та підготовка публікації до друку).

13. Raksha, N.G., Halenova, T.I., Vovk, T.B., Sukhodolia, S.A., Beregova, T.V. and Ostapchenko, L.I., 2019. Proteolytic imbalance as a key factor of the development of chronic pancreatitis with and without type 1 diabetes mellitus. Visnik problem biologii i medicine. 2019; 3 (152): 186-191. DOI, 10, pp.2077-4214. (У науковому фаховому виданні затвердженому Міністерством освіти та науки України, категорія Б). (Особистий внесок здобувача – розробка експерименту, формування концепції та дизайн роботи, збір та аналіз даних, статистичний аналіз, оцінка та аналіз отриманих результатів, написання та підготовка публікації до друку).

14. Усенко, О., Суходоля, А., Суходоля, С., Савчук, О. Внутрішні кровотечі як наслідок ускладнених форм хронічного панкреатиту. Шпитальна хірургія. Журнал імені ЛЯ Ковальчука, (3), 77-85. <https://doi.org/10.11603/2414-4533.2023.3.14154>. (У науковому фаховому виданні затвердженому Міністерством освіти та науки України, категорія Б). (Особистий внесок здобувача – виконання оперативних втручань, збір та аналіз даних, статистичний аналіз, оцінка та аналіз отриманих результатів, написання та підготовка публікації до друку).

15. Petrushenko, V. V., Sukhodolia, S. A., Sukhodolia, A. I., Radoga, I. V., & Rudnichenko, Y. (2024). Mathematical model of diagnostics of malignant pancreas pathology. Reports of Vinnytsia National Medical University, 28(1), 64-74. [https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2024-28\(1\)-12](https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2024-28(1)-12). (У науковому фаховому виданні затвердженому Міністерством освіти та науки України, категорія Б). (Особистий внесок здобувача – виконання оперативних втручань, збір та аналіз даних, статистичний аналіз, оцінка та аналіз отриманих результатів, написання та підготовка публікації до друку).

16. Usenko, O., Sukhodolia, S., Sukhodolia, A., & Savchuk, O. (2024). Results of surgical treatment of chronic pancreatitis with a high risk of developing pancreatic cancer. The Ukrainian Journal of Clinical Surgery, 91(4), 27-33. DOI:[10.26779/2786-832X.2024.4.27](https://doi.org/10.26779/2786-832X.2024.4.27). (У науковому фаховому виданні затвердженому Міністерством освіти та науки України, категорія Б). (Особистий внесок здобувача – виконання оперативних втручань, збір та аналіз даних, статистичний аналіз, оцінка та аналіз отриманих результатів, написання та підготовка публікації до друку).

17. Суходоля С. А., Мороз В. А. «Спосіб інтраопераційної множинної біопсії тканини підшлункової залози, як ефективніший метод діагностики», «Вісник проблем біології і медицини», 2024 Випуск 4, 175, 469-476., DOI 10.29254/2077-4214-2024-4-

175-469-476. (У науковому фаховому виданні затвердженому Міністерством освіти та науки України, категорія Б). (Особистий внесок здобувача – виконання оперативних втручань, впровадження біопсії, збір та аналіз даних, статистичний аналіз, оцінка та аналіз отриманих результатів, написання та підготовка публікації до друку).

18. Суходоля, С.А., «Експериментальна модель хронічного панкреатиту у щурів із подальшим моделюванням під стрептозитоцином», Перспективи та інновації науки 12 (46) (2024). DOI: [https://doi.org/10.52058/2786-4952-2024-12\(46\)-1828-1835](https://doi.org/10.52058/2786-4952-2024-12(46)-1828-1835). (У науковому фаховому виданні затвердженому Міністерством освіти та науки України, категорія Б). (Особистий внесок здобувача – розробка експерименту, формування концепції та дизайн роботи, збір та аналіз даних, статистичний аналіз, оцінка та аналіз отриманих результатів, написання та підготовка публікації до друку).

19. Суходоля С.А., Савчук І.І., «Метод лікування хронічного панкреатиту, ускладненого повною панкреатичною норицею з непрохідністю проксимального відділу вірсунгової протоки, за умов збереження лівого анатомічного сегмента», «Вісник Вінницького національного медичного університету», 2024, Т. 28, №4. DOI: [https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2024-28\(4\)-22](https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2024-28(4)-22). (У науковому фаховому виданні затвердженому Міністерством освіти та науки України, категорія Б). (Особистий внесок здобувача – виконання оперативних втручань, збір та аналіз даних, статистичний аналіз, оцінка та аналіз отриманих результатів, написання та підготовка публікації до друку).

20. Суходоля С.А., Безверхній В.А., Савчук І.І., Оленич С.П., «Вдосконалений спосіб визначення протокової гіпертензії підшлункової залози при виборі хірургічної корекції ускладненого хронічного панкреатиту», 1(47) (2025) DOI: [https://doi.org/10.52058/2786-4952-2025-1\(47\)](https://doi.org/10.52058/2786-4952-2025-1(47)). (У науковому фаховому виданні затвердженому Міністерством освіти та науки України, категорія Б). (Особистий внесок здобувача – виконання оперативних втручань, збір та аналіз даних, статистичний аналіз, оцінка та аналіз отриманих результатів, написання та підготовка публікації до друку).

Наукові праці, які засвідчують апробацію результатів дисертації.

1. Суходоля АІ, Суходоля СА, Інтраопераційна діагностика і лікування ускладнень хронічного панкреатиту. Матеріали Науково-практичної конференції з міжнародною участю «1-й Буковинський хірургічний форум: попередження ускладнень в абдомінальній хірургії»; 2017 вересень 29-29; Чернівці.

2. Усенко ОЮ, Суходоля АІ, Суходоля СА, Підмурняк ОО, Мосійчук ВП, Панкреатичні нориці: проблеми та їх вирішення. В: Усенко ОЮ, відповідальний редактор. Збірник наукових робіт XXIV з'їзду хірургів України, присвяченого 100-річчю з дня народження академіка О.О. Шалімова; 2018 вересень 26-28; Київ, [Електронний ресурс]: 3б. наук робіт. Електрон. текст. дані. Київ, Клін. хірургія, 2018. 1 електрон. опт. диск (CD–R). С. 218-219.

3. Суходоля СА. Панкреатичні нориці: проблеми та їх вирішення. ХІ міжрегіональна науково-практичній конференції, присвяченій 100-річчю з дня народження (1918-2007 р.р.) почесного громадянина Хмельниччини професора-

хірурга Чорнобрового Миколи Петровича (згідно розпорядження директора Департаменту охорони здоров'я Хмельницької ОДА № 1122 вид «04» вересня 2018р.) 2018 вересень 04; Хмельницький.

4. Суходоля АІ, Суходоля СА, Мосійчук ВП. Матеріали LXI науково-практичної конференції «Здобутки клінічної та експериментальної медицини». 2018; Тернопіль.

5. Sukhodolia S, Sukhodolia A, Kernychnyi V, Mosiichuk V. Pancreatic fistulas as a complication of acute and chronic pancreatitis. Abstract book of the 48th World Congress of Surgery WCS 2019; 2019 Aug 11-15; Krakow, Poland. Abstract ID: 13.11. www.wcs2019.org. Available from: <https://drive.google.com/file/d/1pE48cU3hXjVtc5BS3TUPgEietB-XNCej/view>

6. Sukhodolia S, Sukhodolia A, Kernychnyi V, Chubar I, Savchuk O, Mosiichuk V. Possibility of early prognosis of the development of pancreatic cancer. Abstracts of 138th Congress of the German Society of Surgery (DGCH); 2020; Berlin, Germany. Eur Surg Res 2020;61(suppl 1):1–49. Abstract ID: 276. Published online: April 30, 2020. DOI: 10.1159/000507618. Available on: <https://drive.google.com/file/d/1b0rjkmQv1QXuCmvMhv37X2Nc6oH0AOY1/view>

7. Sukhodolia S, Savchuk O, Sukhodolia A, Krenytska D, Mohilnikova D, Study of the protein profile of the pancreas for the development of pancreatic cancer. In: Hauke Lang, Mainz, guest editor. Abstracts of 139th Congress of the German Society of Surgery (DGCH); 2022 Apr 06-08; Leipzig, Germany. Abstract ID: 15. Eur Surg Res 2022;63(suppl 1):1–21. ID: 15. Published online: April 1, 2022. DOI: 10.1159/000523882. Available from <http://karger.com/esr/article-pdf/63/Suppl.1/1/4008085/000523882.pdf>

8. Суходоля СА, Савчук ОМ. Аналіз зміни білкового профілю тканини підшлункової залози при розвитку раку підшлункової залози. Матеріали VI Прикарпатського хірургічного форуму. 2022; Івано-Франківськ.

9. Sukhodolia S, Savchuk O. Study of MMP in patients with chronic pancreatitis at risk of developing of pancreatic cancer. Proceedings of III International Scientific and Practical Conference «Theories, methods and practices of the latest technologies»; 2022 Nov 07-09; Tokyo, Japan. P. 183-185. Available from: https://drive.google.com/file/d/1tPAIeokQwCWk3ZqxZs_NSehAQzUFnMFO/view

10. Sukhodolia S. Selection of the volume of surgical intervention in patients with complicated forms of chronic pancreatitis and high risk of developing of pancreatic cancer. Abstracts of 141st Congress of the German Society of Surgery. 2024; Leipzig.

11. Sukhodolia S, Kalmukova O, Savchuk O. Peptide pool analysis in blood plasma and pancreas as early indicators of pancreatic cancer in rats with chronic pancreatitis and type 1 diabetes mellitus. Науково-практична конференція за участю молодих вчених «Організаційно-прикладні аспекти клінічної та профілактичної медицини в умовах сучасних викликів і загроз: проблеми та перспективи інноваційного розвитку». 2024; Київ.

NATIONAL PIROGOV MEMORIAL MEDICAL UNIVERSITY, VINNYTSYA
MINISTRY OF HEALTH OF UKRAINE

SUKHODOLIA SERGII ANATOLIYOVYCH

UDC 617.55-089.168:611.018.2:616-008.9-092.4-092.9

**DIAGNOSIS AND SURGICAL TREATMENT OF COMPLICATED FORMS
OF CHRONIC PANCREATITIS, WITH A HIGH RISK OF PANCREATIC
CANCER DEVELOPMENT
(CLINICAL-EXPERIMENTAL STUDY)**

14.01.03 - Surgery

ABSTRACT

dissertations for the degree of Doctor of Medical Sciences

Vinnytsia – 2025

A dissertation is a manuscript.

The work was performed in National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya MHU of Ukraine.

Official opponents:

Doctor of Medical Sciences, Professor, Honored Worker of Science and Technology of Ukraine **Dziubanovsky Igor Yakovich**, I. Horbachevsky Ternopil National Medical University Ministry of Health of Ukraine, Head of the Department of Surgery, Faculty of Postgraduate Education;

Doctor of Medical Sciences, Professor **Pyptyuk Oleksandr Volodymyrovych**, «The Ivano-Frankivsk National Medical University» Ministry of Health of Ukraine, Head of the Department of Surgical Diseases;

Doctor of Medical Sciences, Professor **Dronov Oleksiy Ivanovich**, «Bogomolets National Medical University» Ministry of Health of Ukraine, Head of the Department of General Surgery No. 1.

The dissertation defense will take place at a meeting of the specialized academic council D 05.600.03 at National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya the Ministry of Health of Ukraine (21018, Vinnytsia, Pirogov St., 56).

The dissertation can be viewed in the scientific library. at National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya the Ministry of Health of Ukraine (21018, Vinnytsia, Pirogov St., 56).

Scientific Secretary

of the Specialized Scientific Council D 05.600.03,

Doctor of Medical Sciences, Professor

Mariia Shinkaruk-Dykovytska

GENERAL CHARACTERISTICS OF THE WORK

Substantiation of the choice of research topic and relevance. Today, chronic pancreatitis (CP) ranks third among all pathologies of the gastrointestinal tract. The development of fibrosis in case of CP is associated with the accumulation of excessive amounts of extracellular matrix (ECM) due to increased accumulation and disorganization of its proteins (fibronectin, laminin, collagens types I, III, and IV), which is the cause of tissue dysfunction and organ failure. A number of researchers consider CP as one of the main factors in the development of pancreatic cancer (PC) – a disease that accounts for about 10% of all digestive cancers. (Gasiorowska A., 2016; Kandikattu H. K., 2020; Le Cosquer G., 2023; Crowther J.R., 2000). Indeed, uncontrolled pancreatic inflammation that occurs in the case of CP creates an environment enriched with cytokines and chemokines and promotes malignant cell degeneration against the background of impaired immune detection of the tumor.

According to the latest data from the GLOBOCAN 2018 program, conducted by the International Agency for Research on Cancer, the number of diagnosed patients with PC increased to 459 thousand, and the number of deaths caused by PC increased to 432 thousand during the year.

However, according to GLOBOCAN 2022, the number of newly diagnosed patients continues to increase and amounts to 511 thousand, and the number of deaths from PC is 467 thousand during the same year.

In Ukraine, 6,246 cases of PC were detected for the first time in 2020. At the same time, 5923 people died from this pathology, which was caused by complications of PC. This indicates a negative trend, as in 2012, 4,728 people of both sexes were registered with PC diagnosis. At the same time, 4,168 deaths from PC were registered. This data confirms the progression of this pathology, the problem of diagnosis and fight against it.

Moreover, PC is associated with an insidious clinical course and nonspecific symptoms in the initial, preclinical stages of the disease. (Moutinho-Ribeiro P., 2019, Luu A.M., 2020). Quite often this pathology is detected at a late stage, but still asymptomatic (Caban M., 2022). It should be noted that surgical treatment, including extensive resections and pancreatectomies, is the only treatment method that offers a chance for longer survival. However, surgical resection and standard chemotherapy result in a 5-year survival rate of less than 30% of treated patients.

The poor prognosis and treatment are due to the early systemic spread and aggressive local growth of the disease. Almost 50–60% of patients have distant metastasis, 25–30% have regional disease, and only 10–15% have local involvement of the pancreas. In addition, only 20–30% of patients with PC are diagnosed at an early, resectable stage of the disease (Roth M.T., 2018, Furuse J., 2018). As a result, the overall 5-year survival rate of patients with PC is significantly lower and is estimated at only approximately 10%. (Liu S., 2021).

That is why it is necessary to pay more attention to patients with potential PC, which requires increased clinical attention and early detection. To date, «CA19-9» remains the only approved biomarker for the diagnosis and assessment of PC, but its performance is limited by insufficient sensitivity and specificity. Despite numerous studies aimed at finding and implementing new biomarkers for the diagnosis and verification of PC, none of them have been established for use in clinical practice. Unfortunately, there is currently no

recommended combination of biomarkers approved for the diagnosis and prognosis of PC. (Hasan S., 2019, Kapszewicz M., 2021).

The results of numerous modern studies also indicate the existence of a close relationship between the mechanisms involved in wound healing, chronic fibrosis and cancer development/progression, which extend to cells and their surrounding microenvironment (Baluka D., 2016; Grippo P.J., 2012; Rakashanda S., 2012). The principal components of these mechanisms are cytokines and growth factors that regulate the spread of inflammation and healing processes, including proteolysis systems involved in ECM remodeling and fibrogenesis. Vital proteolytic reactions are predominantly represented by serine proteases, which include components of the plasminogen activation system (PAS) and matrix metalloproteinases (MMP) (Vizovisek M., 2021). The latter are a family of enzymes responsible for the degradation of collagen and non-collagen components of the extracellular matrix. MMPs are secreted by various cells, including fibroblasts, endothelial cells, macrophages, and lymphocytes, in an inactive form that requires further exposure for activation.

The crucial importance of different MMPs isoforms in the development of pancreatitis and PC has been shown by numerous studies. (Sri M.K., 2017; Raksha N., 2019; Zhai L.L., 2015; Slapak, E.J., 2020).

Despite the fact that the problem of surgical treatment of CP, its complications and PCP has been developed in Ukraine and abroad by well-known scientists (Kopchak V.M., 2012; Todurov I. M., 2005; Usenko O.Yu., 1999, 2022; Khobzei M.K., 2014; Khrystich T.N., 2018; Shkarban, V.P., 2016; Ahmed Ali U., 2016; Andersen D.K., 2017; Buchler M., 2020; Canto M.I., 2018 etc.), and other followers of Shalimov O. O., the increase in the incidence the relevance and need for scientific substantiation of improving approaches to increasing the effectiveness of their diagnostics and surgical treatment of patients.

The connection of work with scientific programs, plans, and topics. The dissertation is a fragment of the topic of planned scientific work in the Department of Surgery №1 with Course of Urology in National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya: «Development of optimal methods of surgical treatment and prevention of postoperative complications in patients with diseases of the abdominal and thoracic organs using minimally invasive technologies» (state registration number 0118U005500; 2019-2023), and also «Substantiation and development of innovative methods of diagnosis, surgical treatment and prevention of complications in diseases and injuries of the thoracic and abdominal organs» (state registration number 0124U001265; 2024-2028).

Aim of the research – to improve modern approaches and increase the efficiency of diagnostics and surgical treatment of patients with complicated forms of chronic pancreatitis with a high risk of developing pancreatic cancer by introducing new and improved classical methods of pre- and intraoperative diagnostics and surgical treatment.

Research objectives:

9. To determine the qualitative and quantitative composition of peptide pools in rats with chronic pancreatitis and to determine the presence of a relationship between the histopathological features of the pancreas and changes in peptide pools in its tissue in rats with experimentally modeled chronic pancreatitis and chronic pancreatitis in combination

with diabetes mellitus.

10. To determine the content of trigger components of the proteolysis system and cytokines in the blood serum, liver, and pancreas of rats with chronic pancreatitis separately and in combination with diabetes mellitus.

11. To determine the content of trigger components of the proteolysis system and cytokines in the blood plasma and pancreas of patients with chronic pancreatitis and pancreatic cancer.

12. To investigate proteolytic activity in the blood plasma and pancreas of patients with chronic pancreatitis and pancreatic cancer.

13. To determine the proteolytic activity of matrix metalloproteinases in the blood and pancreas of patients with chronic pancreatitis and pancreatic cancer.

14. To investigate the proteolytic activity of trypsin-like serine proteases in the blood and pancreas of patients with chronic pancreatitis and pancreatic cancer and in the process of the development of mentioned diseases.

15. To analyze the content of proteolytic components (plasminogen (Pg), protein C, tissue plasminogen activator (t-PA), their modulator (PAI-1) and matrix metalloproteinases (MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-8, MMP-9, MMP-10), growth factors and cytokine profile in patients with CP and PC at the level of systemic circulation and pathologically altered pancreatic tissue.

8. To create a mathematical model for early diagnosis of malignant pancreatic pathology at the preclinical stage and at the early stage of the disease to select the most optimal and radical volume of surgical intervention.

9. To determine the advantages of the mathematical model we created and demonstrate its impact on the early diagnosis of pancreatic pathology, as well as to study the possible impact on changing the choice of surgical intervention.

10. To create algorithms for performing advanced early radical surgical interventions on the prostate in patients at risk.

11. To analyze the effectiveness of our proposed in-depth diagnostic algorithm and the choice of the scope of surgical intervention depending on the result obtained.

Scientific novelty of the results obtained. The conducted studies and determination of parameters in the blood and pancreatic tissue of patients with chronic pancreatitis and pancreatic cancer allowed us to identify a number of features that are diagnostic criteria for the transition of chronic inflammation in the pancreas to malignancy.

The researcher established an increase in the vast majority of the studied parameters (Pg, PC, TM, IGF-1, MMP-1, -2, -3, -8, -10, TIMP-1, IL-1 β , -4, -6, -8, as well as TNF- α) at the level of systemic circulation in conditions of CP and managed to detect statistically significant deviations in blood plasma in PC only for protein C and thrombomodulin.

The author proved a significant increase in the content of MMP-2, -3, -9, -10 and TIMP-1, as well as all studied ILs (except IL-4 and IL-6) in the pathologically altered pancreatic tissue of patients with PC, which statistically significantly exceeded the values of the corresponding indicators in patients with CP.

For the first time, a decrease in the level of the anti-inflammatory cytokine IL-10 in blood plasma in CP and an increase in it in pancreatic tissue homogenate in PC have been investigated and proven, which helps tumor cells avoid recognition by the immune system and blocks their detection and elimination.

The studies conducted by the author allowed us to identify the features of proteolytic processes in the blood and pancreatic tissue in conditions of chronic pancreatitis and cancer. The changes identified were associated with the accumulation of low- and medium-molecular proteins and peptides, among which a significant number are characterized by pronounced regulatory functions and toxic effects.

The author first proved that both CP and PC are accompanied by remodeling of the extracellular matrix due to changes in the composition of matrix metalloproteinases.

The researcher clarified that the content of trypsin-like serine proteases (TLPs) in the blood plasma of patients with pancreatic pathologies was higher than in the pancreatic tissue relative to the values of the corresponding indicators in the group of conditionally healthy individuals, and also for the first time it was found that TLPs fractions obtained from the blood plasma of patients with pathologies contain a large amount of high-molecular proteins, while TLPs from homogenates of pancreatic tissue of patients with pathologies are represented mainly by low-molecular proteins.

It was first discovered that among TLPs obtained from blood plasma and pancreatic tissue homogenates of patients with pancreatic pathologies, there are enzymes with fibrinogenolytic, gelatinolytic and collagenolytic activities. In plasma, the former are represented by medium-molecular proteins, while among the representatives of the latter two groups, proteins with a large (gelatinase in patients with CP and PC, collagenase in PCA patients) and very large (collagenase in patients with CP) molecular weight prevail. In pancreatic homogenates, fibrinogenolytic activity is exclusively possessed by low-molecular-weight proteins, while gelatinases and collagenases are proteins with medium and low molecular weight.

For the first time, the feasibility and effectiveness of using a mathematical model for early diagnosis of malignant pancreatic pathology at the preclinical stage and at the early stage of the disease have been developed and scientifically proven.

Improved and developed techniques for performing pancreatic biopsy (certificate of registration of copyright for a work: «Intraoperative pancreatic biopsy technique» № 115178 from 11.10.2022 and «Intraoperative multiple biopsy technique of the pancreas» № 114856 from 19.09.2022).

The feasibility and effectiveness of the implemented mathematical model for the diagnosis of PC, changes in the plasma protein profile in the preoperative period, and intraoperative examination of pancreatic tissues – express diagnostics for verifying the correct diagnosis have been scientifically proven.

Practical significance of the results obtained. The results of the experimental study allowed them to be implemented in clinical practice, which made it possible to improve early diagnosis and apply the most effective method of surgical correction of malignant pancreatic pathology.

The developed mathematical model made it possible to conduct early diagnostics of PC with an accuracy of up to 96% in the worst cases, improve its quality and perform radical surgical interventions.

The author proposed a method of treating chronic pancreatitis complicated by a complete pancreatic fistula with obstruction of the proximal part of the duct of Wirsung while preserving the left anatomical segment.

Improved surgical interventions for intra-abdominal and external erosive bleeding with parallel surgical correction of CP complications. Our main goal was to stop gastrointestinal bleeding, as well as parallel surgical correction of complications of CP, such as ductal hypertension with severe pain syndrome, urolithiasis, and pancreatic fistula. In the postoperative period, we adhere to all the canons of fast track surgery. Patients are activated as quickly as possible; making sure there is no stasis in the stomach, we allow them to drink water and liquid food from the second postoperative day.

When ascites forms due to pancreatic injury, the question of surgical correction should be raised as early as possible, before complications arise. When ascites appears in patients with PC, treatment is symptomatic, as this is a sign of decompensation of the process. Currently, there are no unified protocols for the surgical treatment of PA and PF, so different clinics use different approaches, from conservative methods to extensive multi-stage interventions.

The introduced intraoperative puncture pancreatovysungography in complex diagnostics is a simple, safe and informative method for diagnosing fluid formations with ductal hypertension in the condition of complicated CP, which allows to differentiate the type of changes in the pancreatic ductal system, the level of obstruction, the presence of calculi in the lumen, as well as to differentiate the likelihood of communication of cystic formations with the ductal system in patients with complicated CP.

The use of intraoperative puncture pancreato-viscous sonography complements known diagnostic techniques and thus facilitates the choice of the surgical method and ensures a better outcome of surgical intervention in complicated forms of CP. Thanks to a comprehensive approach and diagnostics, we were able to differentiate the type of changes in the pancreatic ductal system in patients with complicated CP and detect ductal hypertension with stricture of the duct in the isthmus and head in 64%, and in 43.4%, communication of cystic formations with the pancreatic duct, and in 9% - the presence of an internal pancreatic fistula.

We have proposed and implemented new and improved methods for diagnosing PC pathology, for which a copyright registration certificate was obtained: «Intraoperative pancreatic biopsy technique» №115178 (from 11.10.2022) and «Intraoperative multiple biopsy technique of the pancreas» №114856 (from 19.09.2022), were the reason for the change in surgical correction of pancreatic pathology. Intraoperatively, after punch biopsy among patients in the main group, acinar metaplasia was detected in 6 (26.1%) patients, and tissue changes characteristic of high-grade PanIN were detected in 8 (34.7%) patients. The remaining 9 (39.2%) had intraoperatively confirmed pancreatic cancer localized in its head in 5 of them (55.5%) and in 4 patients (44.5%) with localization in the left anatomical segment. Changes in the plasma protein profile, which we determined at the preoperative stage, as well as characteristic changes in the pancreatic tissue, allowed us to establish the correct diagnosis and gave reasons for performing extended resection interventions, which should be performed in patients with malignant pancreatic pathology.

The main provisions of the dissertation are used in the educational process at the Department of Surgery with a course in Dentistry Faculty of Postgraduate Education in National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya of the Ministry of Health of Ukraine, implemented in the practical work of surgical hospitals of a municipal non-profit enterprise «Podolsk Regional Oncology Center of Vinnytsya Regional Council», municipal

enterprise «Khmelnyskyi City Hospital» Khmelnytskyi City Council and implemented in the Educational and Scientific Center «Institute of Biology and Medicine» Taras Shevchenko National University of Kyiv.

Publications. Based on the materials of the dissertation, 31 scientific publications have been published, fully reflecting the main results of the dissertation, including 6 articles in scientific periodicals indexed in the Scopus databases; 3 of them in foreign scientific periodicals included in the international scient metric databases Scopus, one of which is in the scient metric database Scopus, Q1; 14 articles in scientific professional publications of Ukraine; 11 in proceedings of scientific conferences with international participation. 5 certificates of copyright registration for the work have been received.

Structure and scope of the dissertation. The total volume of the dissertation is 404 pages. The work contains an abstract, table of contents, a list of symbols, an introduction, the main part, consisting of a presentation of materials and research methods, 4 sections of own research, analysis and generalization of the results obtained, conclusions, practical recommendations, a list of used literature sources, and appendices. The work is illustrated with 73 figures and 24 tables. The list of used literature consists of 500 literary sources, 35 in Cyrillic, 465 in Latin, which are presented on 82 pages.

MAIN CONTENT OF THE WORK

Materials and research methods: The dissertation is devoted to the scientific substantiation of improving modern approaches and increasing the efficiency of diagnosis and surgical treatment of patients with complicated forms of chronic pancreatitis at high risk of developing pancreatic cancer by introducing new and improved methods of pre- and intraoperative diagnosis and surgical treatment.

The dissertation research was conducted in accordance with bioethical principles and norms and was approved by the Bioethics Committee of the National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya (Protocol No. 7 of 16.09.2021 and Protocol No. 6 of 07.05.2025). For a comprehensive study of this scientific problem, a design was developed in accordance with the set goal and objectives (Fig. 1).

Research design

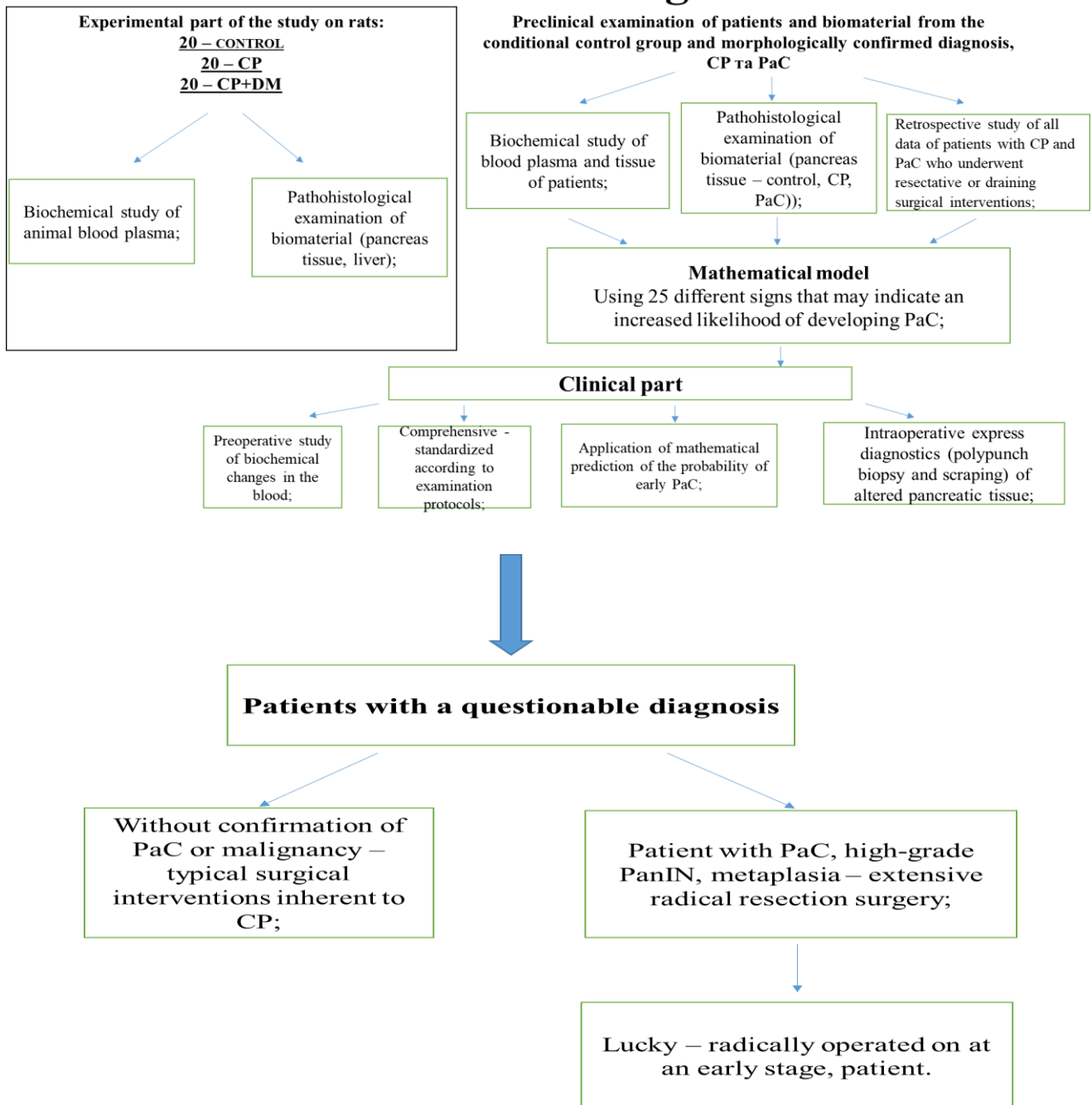


Figure 1 – Study design

In 2013-2017, retrospective collection and analysis of the material was performed, and from 2018 to 2024, prospective. Among all patients, there were 221 men (57%), 167 women (43%). The age of the patients ranged from 22 to 83 years, averaging 52.5 ± 10 years. The clinical part of the work was approved by the Bioethics Committee of National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya, protocol № 15 from 26.09.2021y.

The presented work analyzed the results of examination and treatment of 388 patients with morphologically confirmed pancreatic pathology: namely, 197 (50.8%) patients with complicated forms of chronic pancreatitis, 136 (35%) patients with pancreas tumors of various localization, as well as 55 (14.2%) patients with questionable stage of the

disease, including 33 (60%) men and 22 (40%) women, respectively, where, before performing surgical intervention and applying generally accepted examination methods, it was not possible to clearly and convincingly refute the presence of malignancy of the process of the altered pancreatic parenchyma, so to apply the most optimal and radical method of treatment needed in cases of pancreatic cancer. It was this group of patients that aroused the greatest interest and contributed to their in-depth study with the use and implementation of the methods we proposed. The studied patients were treated at the Municipal Non-Profit Enterprise "Khmelnyskyi Regional Hospital" of the Khmelnyskyi Regional Council, private enterprise «Professor Sukhodoli's Private Surgical Clinic», and in Sana klinikum Hof (Hof, Germany) during 2013-2024 years. The treatment results of the 62 patients (16%) and an in-depth analysis was carried out, in particular, the features of the pre- and postoperative periods of those operated on for complicated forms of CP and PC, which is regulated by the relevant cooperation agreements. The quantitative distribution of patients by groups of nosologies that were subject to treatment and surgical intervention is given in Table 1.

Table 1 –Distribution of patients with pancreatic pathologies

Underlying disease	Number of observations	
	general.	%
Tumors of the pancreas;	136	35
Chronic pancreatitis with complications;	197	50,8
Patients with a questionable diagnosis;	55	14,2
Total.	388	100

In these patients, despite a thorough preoperative examination, it was impossible to clearly and convincingly differentiate CP from the changes that caused us to suspect the presence of malignant degeneration of the pancreas, because the clinical symptoms and diagnostic picture in these diseases are common. Actually, these patients comprised the main group of 34 (61.8%), and the comparison group of 21 (38.2%), which are shown in Figure 2.

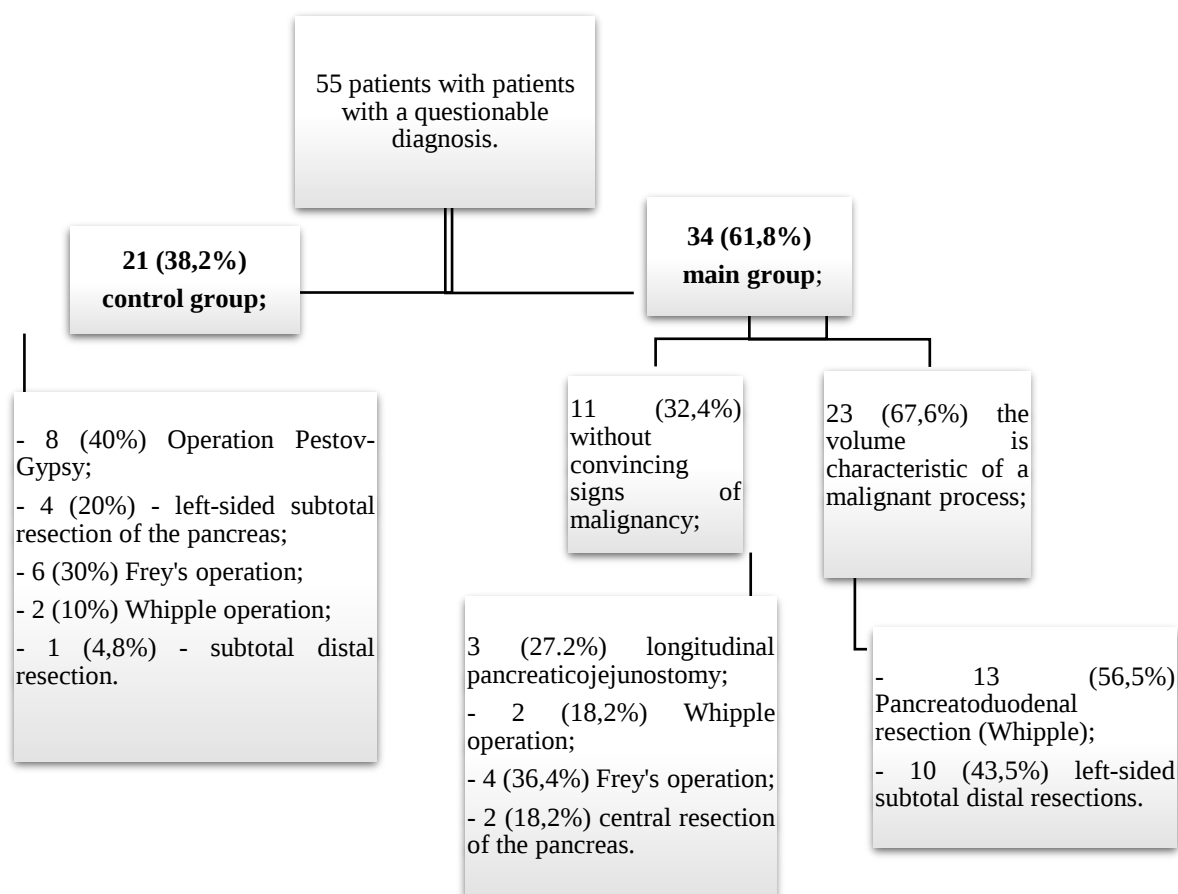


Figure 2 – Scheme of distribution of patients into the main group and the comparison group

To establish the relationship between the nature of the qualitative and quantitative composition of biochemical markers and histopathological features of the pancreas in chronic pancreatitis and CP in combination with diabetes mellitus, an experimental study was performed on laboratory rats. Experimental work with rats was conducted in the vivarium of the Educational and Scientific Center «Institute of Biology and Medicine» of Taras Shevchenko National University of Kyiv in accordance with the agreement on creative cooperation.

In the experimental part of the work, biochemical and histomorphological changes in blood and tissues were investigated.

The experiments were performed on 50 white non-linear male rats weighing 200 ± 10 g. The rats were born from multiple females with a flexibility of one/two days. When working with laboratory animals, generally accepted international recommendations for conducting biomedical research on animals were followed in accordance with the «General Principles for Working with Animals», approved by the 1st National Congress on Bioethics (Kyiv, Ukraine, 2001) and consistent with the provisions of the «European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes» (Strasbourg, France, 1986). Work with animals was regulated by the rules for conducting

experimental work with experimental animals, which were approved by the Bioethics Commission of the Taras Shevchenko National University of Kyiv № 5 from 16.04.2018.

The animals were kept in standard conditions with constant temperature and humidity.

Rats were divided into 3 experimental groups.:

- 1) control group (n=10);
- 2) Chronic pancreatitis (CP) (n=20);
- 3) Chronic pancreatitis + diabetes mellitus (n=20).

Chronic pancreatitis was induced in 40 rats by intraperitoneal administration of cerulein (Sigma, St. Louis, MO, USA) diluted in saline ($5 \mu\text{g} \times \text{kg}^{-1}$ body weight). Rats were administered cerulein five times a day at hourly intervals. Control rats received equal volumes of 0.9% NaCl intraperitoneally five times a day at hourly intervals. Injections were given for five consecutive days. After the last day of cerulein injection, rats were kept under standard conditions with free access to water for the next nine days. The development of pancreatitis was confirmed by high levels of amylase in the blood serum, as well as by studies of histopathological changes in the pancreatic parenchyma of experimental rats, which confirms the above. On the 14th day from the start of the experiment, half of the animals (20 individuals) from the chronic pancreatitis group were randomly selected and used to model type 1 diabetes mellitus (T1DM). Diabetes was induced in rats that had been fasted for 16 hours by a single intraperitoneal injection of streptozotocin (STZ; Sigma, USA) at a dose of $65 \text{ mg} \times \text{kg}^{-1}$ body weight dissolved in 0.5 ml of 0.01 M citrate buffer, pH 4.5. Other animals from the CP group and all control rats received an equal volume of placebo (NaCl 0.9%). The reliability of the development of type 1 diabetes was confirmed by a high concentration of glucose in the blood (above $15 \text{ mmol} \times \text{l}^{-1}$), as well as a high level of glycosylated hemoglobin.

On the last day of the experiment (day 44), the animals were removed from the experiment by decapitation, blood was collected, and then samples of pancreas and liver tissue were taken (Figure 3).

Statistical processing of the research results was carried out using generally accepted methods of variational statistics. The probability of the difference between the control and experimental measurements was assessed using the Student's t-test. The difference between comparative indicators was considered significant at $p < 0.05$. Calculations and graphing were performed on a computer using application programs: «OriginLab Origin 8.0» and «Microsoft Excel 2007». Analysis of protein fractions was carried out using the TotalLab program.

For each sample, we checked whether the distribution of the studied indicator was normal, using the Shapiro-Wilk test.

Since our data were found to be normally distributed, comparisons of samples were performed using Student's t-test for independent samples. The mean value (M) and the error of the mean value (m) were calculated. For our data, we used a significance level of $p < 0.05$ (Horvat A.A., 2019).

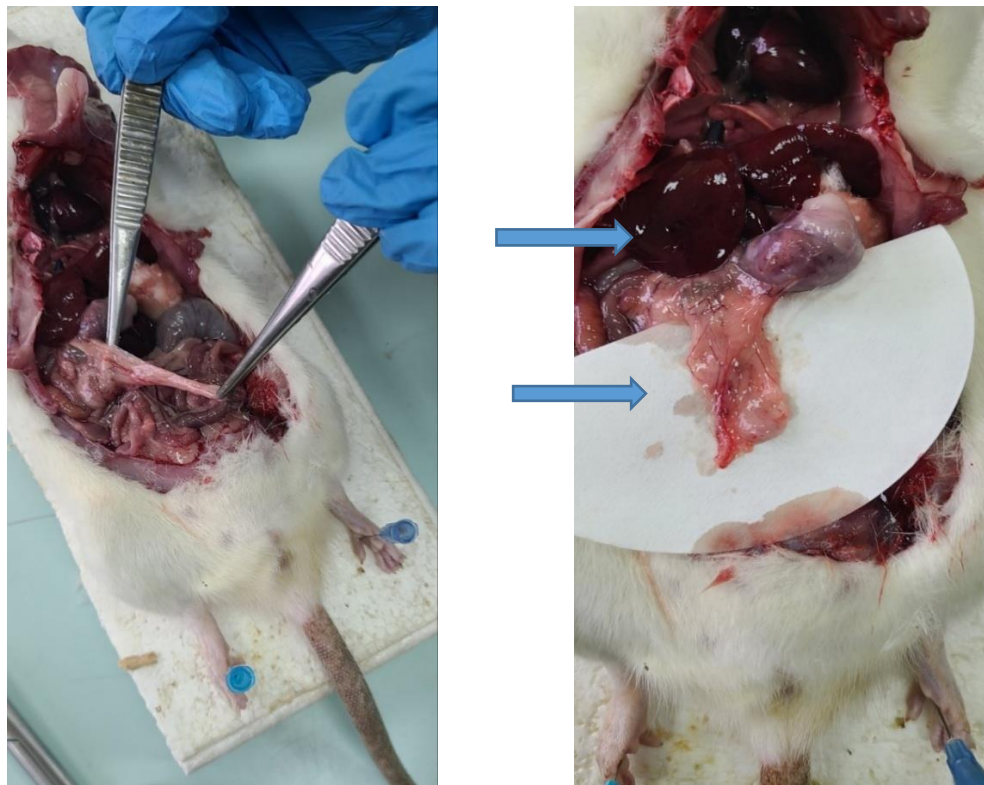


Figure – 3 Removal of the study material (pancreas and liver) after removing the rats from the experiment

Research results and their analysis are presented in the following 4 sections according to the main areas of scientific development.

Chapter 3 is dedicated to the study of morphological changes in the pancreatic parenchyma and the study of biochemical changes in pancreatic and liver tissues and in the blood plasma of rats with simulated pancreatic pathologies.

The pancreas of rats in the Chronic pancreatitis + diabetes mellitus group had more pronounced pathological changes (Fig. 4). The presence of ductal dysplasia (Fig. 4. A, B) was also observed with pronounced acinar metaplasia (Fig. 4. B).

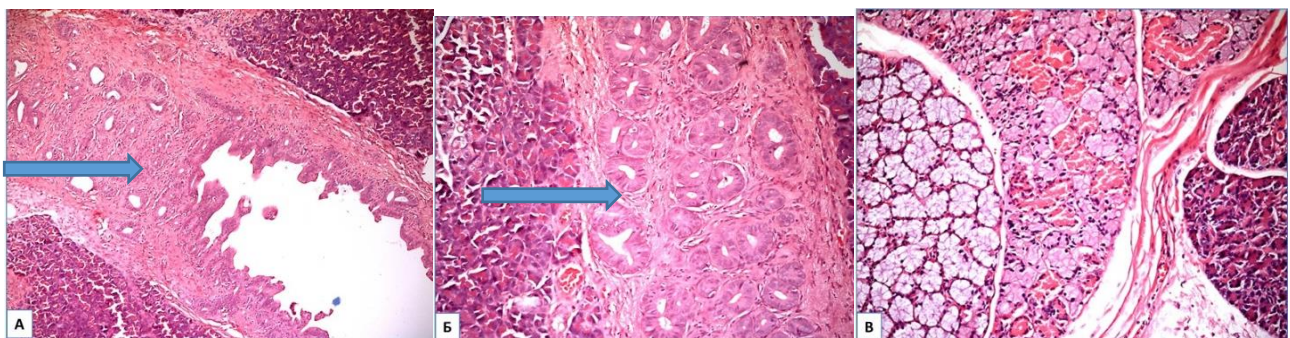


Figure – 4 Micrographs of the pancreas of rats in the chronic pancreatitis + diabetes mellitus group. Hematoxylin-eosin staining, magnification $\times 100$ (A, B) and $\times 400$ (B)

Gland formation in the fibrous tissue of the duct, proliferation of glandular epithelium with severe dysplasia, appearance of papillary and cribriform (sieve-like and lattice-like) structures, which corresponded to high and moderate ductal dysplasia according

to the pathohistological scale as PanIN2 and PanIN3. These changes are direct and convincing predictors of the development of pancreatic adenocarcinoma. PanIN disruption is a pathway to the development of pancreatic cancer and directly to ductal adenocarcinoma.

In both groups with a simulated pathological condition, changes in the quantitative and qualitative composition of the peptide pools of blood serum and pancreas were detected (Fig. 5.). The differences were more pronounced in serum than in pancreas, and for peptide pools with molecular weights greater than 700 Da. In the serum of CP and Chronic pancreatitis + diabetes mellitus, the appearance of peptide pool peaks was detected, which were absent in the control samples.

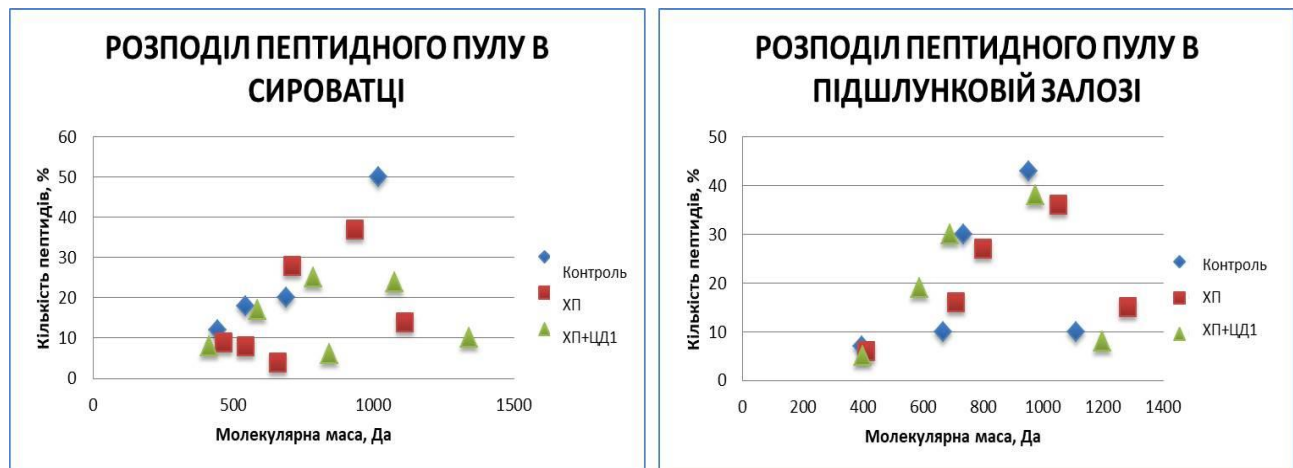


Figure – 5 Results of peptide pool distribution in blood serum and pancreas of experimental groups: control, CP - chronic pancreatitis and CP + DM1 - pancreatitis + diabetes mellitus

The results obtained in the course of the study indicate high activity of proteolytic processes in the long-term pathogenesis of CP both separately and in the context of type 1 diabetes. The enhancement of proteolysis is to some extent associated with the significant accumulation of matrix metalloproteinases in the blood serum, liver, and pancreas of animals. Excessive activation of the latter leads to a disruption of the stability of the qualitative and quantitative composition of the body's peptide pools and can be considered as one of the root causes of the formation of endogenous intoxication syndrome under the conditions of CP.

The obtained results of the experimental study are a scientific justification for their implementation in further clinical studies, which will allow improving early diagnosis and applying the most effective method of surgical correction of malignant pancreatic pathology.

In chapter 4 The phenomena of proteolysis and its regulation in the human body during pancreatic pathologies are highlighted. For research «case-control» 60 people aged 28-89 years were selected, 20 of whom constituted a group of patients with CP, 20 – a group of patients with PC and 20 people without PC pathology, who were combined into a group of conditionally healthy people (CHP). All groups had the same ratio of patients by age and gender and were patients of the surgical clinic municipal non-profit enterprise «Khmelnyskyi Regional Hospital» Khmelnytskyi Regional Council, who underwent a standard preoperative examination, which included: blood and urine tests; contrast-enhanced computed tomography of the chest, abdomen, and pelvis to assess the extent of

cancer spread; tumor biopsy with pathological examination. All patients voluntarily provided written consent to participate in these studies. The latter fully complied with ethical and moral and legal requirements in accordance with the Order of the Ministry of Health of Ukraine № 281 dated 01.11.2000, as well as the Declaration of Helsinki of the World Medical Association on the Ethical Principles of Conducting Scientific Medical Research with Human Participation and were agreed with the Ethics Committee of the Taras Shevchenko National University of Kyiv, Protocol №5 dated 16.04.2018.

The inclusion criteria for the CP group were abdominal pain syndrome and histologically confirmed structural changes in the pancreas (chronic inflammation, fibrosis, acinar atrophy, fatty transformation, and development of abnormal ducts) with impaired exocrine pancreatic function.

The inclusion criteria for the PC group were disorganization of the architectonics of the cylindrical, mucinous epithelium of the small pancreatic ducts with nuclear atypia (the nuclei of these cells are enlarged, pleomorphic, and misoriented), i.e., morphological changes characteristic of the third, highest, stage of pancreatic intraepithelial neoplasia, which is often referred to as pancreatic intraductal carcinoma with the highest degree of dysplasia.

Preoperative plasma samples were collected on the day before surgery on an empty stomach, and pancreatic tissue samples were collected intraoperatively. The material for the CHP group was collected after autopsies from patients who died from causes unrelated to oncology.

Blood, taken by puncture from the cubital vein of patients between 8 and 9 a.m. on an empty stomach, was placed in a plastic tube containing sodium citrate (38 mg/ml) in a final ratio of 9:1 and gently mixed. The contents of the tube were centrifuged for 40 minutes at 900 g; the supernatant was transferred to plastic tubes. The obtained blood plasma was used for analysis or, if necessary, frozen at -20°C in Eppendorf tubes. Plasma was thawed by warming in a water bath (37°C) for 20 minutes, then gently stirred and transferred to ice. To obtain 10% pancreatic homogenate, 1 g of tissue was homogenized in 9 ml of chilled 50 mM Tris-HCl buffer (pH 7.4) and centrifuged at 12,000 g for 30 minutes at +4°C. The supernatant was collected and used for further studies or frozen as described above.

Levels of tissue type plasminogen activator (t-PA) and its inhibitor (plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1), plasminogen (plasminogen, Pg), thrombomodulin (TM), protein C (PC) in blood plasma, as well as cytokine profile (levels of interleukins (ILs) IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-8 and IL-10, tumor necrosis factor- α (TNF- α), interferon- γ (IFN- γ), growth factor content (insulin-like growth factor-1 (IGF 1)), fibroblast growth factor 2 (FGF 2), tumor growth factor- β 1 (TGF- β 1), levels of matrix metalloproteinases (MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-8, MMP-9, MMP-10) and their inhibitor TIMP-1 (tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1) in blood plasma and pancreatic tissue were determined by enzyme-linked immunosorbent assay using the appropriate antibodies according to the generally accepted method for soluble proteins according to standard instructions. The study was conducted in 96-well plates made of polystyrene, which are characterized by the ability to sorb soluble protein macromolecules.

When studying blood parameters, 10 μ l of plasma was diluted in buffer (50 mM Tris-HCl (pH 7.4), 150 mM NaCl) to 100 μ l, and in the case of studying tissues, their homogenates were diluted with a solution (50 mM Tris-HCl (pH 7.4), 130 mM NaCl) so

that the protein concentration was 10 µg/ml, and 100 µl was taken for application to the wells.

The study of pancreatic tissue from patients with CP revealed increased levels of both pro- and anti-inflammatory cytokines, with the exception of IL-10, relative to those in the CHP group, and this increase was more pronounced than in plasma, and was for anti-inflammatory IL-4 – 2.9 times, $P < 0.05$, and for pro-inflammatory cytokines (in decreasing order): IL-6 – 2.7 times, $P < 0.05$; TNF- α – 2.5 times, $P < 0.05$; IL-8 – 2.3 times, $P < 0.05$; IL-1 β – 2.1 times, $P < 0.05$. IFN- γ levels increased 2.1-fold, $P < 0.05$.

In the pancreatic tissue of patients with PC, the content of cytokines was also increased relative to that in the CHP group. Among pro-inflammatory cytokines, the level of TNF- α increased the most – 3.3 times, $P < 0.05$, and further in decreasing order: IL-1 β – 3.2 times, $P < 0.05$, IL-6 – 2.9 times, $P < 0.05$; IL-8 – 2.7 times, $P < 0.05$; levels of anti-inflammatory cytokines were also increased 2.5 times (IL-4) and by 50% (IL-10) ($P < 0.05$).

The content of IFN- γ was also increased by 3.1 times ($P < 0.05$). At the same time, the levels of IL-1 β , IL-8, IL-10, TNF- α and IFN- γ in the tumor tissue of patients with PC significantly exceeded the values of the corresponding indicators in the group of patients with CP (by 54%, 16%, 70%, 34%, 48%, respectively, $P < 0.05$).

Our data are consistent with the results reported by other researchers. Thus, according to available information, the key cytokines observed in the blood serum and pancreas during AP and CP are the interleukins IL-1 β , IL-6, IL-8, as well as tumor necrosis factor (TNF- α), and their serum levels correlate with the severity of the disease.

Enzyme isolation was performed by affinity chromatography with benzamidine-Sepharose sorbent. A 3 ml glass column with benzimidine-Sepharose was used, the column was previously equilibrated with 10 volumes of Tris-HCl buffer (10 mM, pH 8.0). To remove unbound material after application, the column was washed with 15 volumes of Tris-HCl buffer (10 mM, pH 8.0). Elution was performed with a buffer solution of the following composition: 50 mM glycine-HCl + 1M NaCl, the pH of the buffer was 3.0. In the next step, fractions of trypsin-like serine proteinases were collected, pooled, and frozen at -20° C for further studies.

Considering that the content of total protein in the isolated fractions of trypsin-like serine proteases corresponds to the content of these enzymes, the content of serine proteases in the obtained fractions of blood plasma and pancreatic tissue homogenate was determined by the Bradford method and expressed in mg/ml. Samples were then prepared for polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE).

Disk electrophoresis was performed in polyacrylamide gel (PAGE) in the presence of denaturing sodium dodecyl sulfate. The use of a concentrating gel allows for the effective separation of proteins in the molecular weight range from 10 kDa to 150 kDa, which fully met the requirements of the experiment. Electrophoresis was performed in plates with 10% acrylamide for separating and 4% for concentrating gels.

Electrophoresis was performed in a vertical preparative disk electrophoresis chamber (Bio-Rad, USA) in 1 mm thick plates with a current of 19 mA for the concentrating gel and 36 mA for the separating gel. After the electrophoretic separation of the studied samples, which was monitored by the movement of the dye front, the gels were fixed in a solution of 7.5% acetic acid and 37.5% isopropyl alcohol for 10 minutes. The obtained results allowed us to establish that, in the pathologies studied, pronounced changes are

observed not only in the number of proteins of different molecular weights, but also in the distribution and number of bands in protein groups of different molecular weights both in plasma and in tissues.

Zymography of trypsin-like enzymes and matrix metalloproteinases using electrophoretic separation was performed according to the well-known and accepted method (Ostapchenko L., 2011). During electrophoresis, the separating gel was polymerized in the presence of gelatin, fibrinogen, and collagen substrates at a rate of 1 mg/ml. The concentration of the separating gel was 12%. The separation of samples was carried out at a current strength of 19 mA. The final step was washing the gels in a 2.5% Triton X-100 solution for an hour to remove any residual denaturing sodium dodecyl sulfate. After that, the gels were filled with 0.05 M Tris-HCl buffer, pH 7.4, containing 0.13 M NaCl, and incubated for 12 hours. Gel staining and fixation were performed according to the standard electrophoresis protocol. Total proteolytic activity was assessed using casein as a substrate. The method is based on the hydrolysis of casein by an enzyme contained in the test sample, followed by determination of the degree of protein cleavage. Discrimination of metalloproteinase and serine protease activities was achieved by adding ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA, 5 mM) and phenylmethylsulfonyl fluoride (PMSF, 2 mM) as inhibitors of MMPs and serine proteases. Serine protease and MMP activity values were determined by subtracting the residual activity measured after the addition of inhibitor from the total activity. The results were expressed in conventional units per 1 mg of protein. Protein concentration was determined according to the Bradford method (Bradford M., 1976). Measurements were performed on a microplate spectrophotometer (BioTek Instruments, BioTek, USA) at a wavelength of 595 nm. The concentration was determined from a calibration graph and expressed in mg/mL.

Oncologically altered pancreatic samples demonstrated a more than twice decrease in total proteolytic activity against the background of a decrease in serine protease activity, as well as more than threefold compared to control parameters. It should also be noted the abnormal redistribution of activities inhibited by PMSF and EDTA under the conditions of pancreatic cancer. Thus, trypsin-like activity, which is sensitive to PMSF, was higher than the activity of matrix metalloproteinases inhibited by EDTA, both in relatively healthy individuals and in patients with existing chronic pancreatitis. At the same time, under conditions of malignant hyperproliferation, the predominance of MMP activity over serine proteases was observed.

The study of blood plasma samples showed an increase in all studied proteolytic activities by more than 2 ($P < 0.05$) times for CP and more than 3 ($P < 0.05$) times for PC. However, in both cases, the main contribution to the excessive increase in proteolysis was mainly made by MMP activities, and not by trypsin-like enzymes. For fractionation of the peptide pool, size exclusion chromatography on a Sephadex G 15 column (Bio Rad, USA) was used. The peptide pool lyophilisate was dissolved in 50 mM Tris-HCl buffer (pH 7.4) containing 130 mM NaCl; the sample concentration at application was 50 μ g/mL. The sample was applied and collected at a flow rate of 0.5 mL/min. The progress of the separation was monitored spectrophotometrically using a semi-automatic system "BioLogic LP" (BioRad, USA). To estimate the molecular weights of peptides, the column was pre-calibrated using substances with known molecular weights – lysozyme (14.3 kDa), insulin (5.7 kDa), vitamin B12 (1.35 kDa) (Hong P., 2012). The percentage of proteins of different

molecular weights in the blood plasma fraction under trypsin-like serine proteases varied. More groups with different molecular weights appeared.

We also analyzed pancreatic tissue homogenates. The TLPs fraction obtained from patients from the CHP group, after disk electrophoresis under non-reducing conditions, was divided into 3 subfractions; when dividing the sample from patients with CP, 6 subfractions were obtained, and from patients with PC, 9. Under restorative conditions, 2 subfractions were detected in the control group, and 3 subfractions in the groups of patients with CP and PC.

Under non-reducing conditions, the increase in the number of TLPs fractions in patients with CP occurred due to the appearance of three new fractions of medium-molecular proteins (67-35 kDa), and in patients with PC – due to the appearance of additional fractions of high (+1), medium (100-67 kDa; +3) and low-molecular proteins (+2).

At the preoperative stage, patients underwent clinical and laboratory studies, including the determination of the relative content of cytokines, changes in the protein pool, structure, qualitative and quantitative protein composition of blood plasma, proposed by us and implemented in practice (Fig. 6).

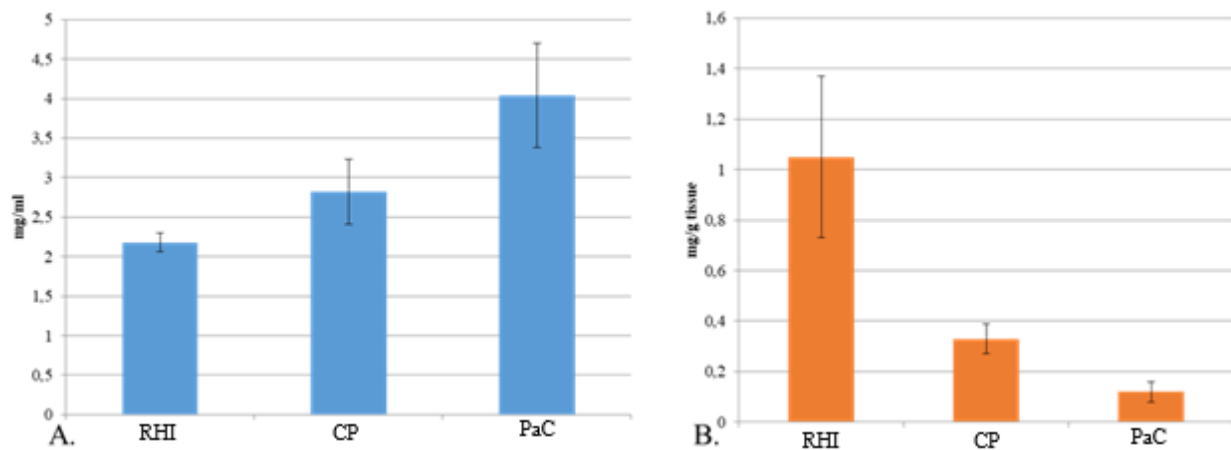


Figure – 6 The characteristics of the results of the study of blood serum and pancreatic tissue homogenate of patients: concentration of trypsin-like serine proteases in blood plasma (A) and pancreatic tissue homogenate (B) of patients with chronic pancreatitis and pancreatic cancer. * $P < 0.05$ compared to the value of the corresponding indicator in the RCD group; # $P < 0.05$ compared to the value of the corresponding indicator in the group with chronic pancreatitis

The results of the conducted studies revealed an increase in the level of TLPs in the blood plasma of patients with pancreatic pathologies (CP - by 29%, RPC - by 85% compared to the value of this indicator in the CHP group, $P < 0.05$), while their content in the pancreatic tissue decreased (CP - by 69%; RPC - by 89% compared to control values, $P < 0.05$).

At the preoperative stage, among the instrumental methods, we used ultrasonography, esophagogastroduodenoscopy, multidetector spiral computed tomography of the abdominal cavity with contrast, angiography, magnetic resonance imaging, our proposed and patented method of intraoperative measurement of ductal hypertension, as well as intraoperative multiple express punch biopsy of the altered pancreatic tissue (Fig. 7).



Figure – 7 ERCP of a patient with a pancreatic head tumor with moderate biliary hypertension and complete stricture (A) The duct of Wirsung in the head area, as well as a patient with a tumor of the head of the pancreas (B) with severe biliary hypertension and double-duct obstruction of the duct of Wirsung in the head area. Lack of contrast-enhanced area of the proximal duct

Chapter 5 dedicated to the application of a mathematical model for the diagnosis and treatment of patients with pancreatic pathology. We formed a list of signs (symptoms) that may indicate an increased likelihood of developing malignant pathology, to build a mathematical diagnostic model. Signs with a greater threat and, accordingly, a higher degree of influence on increasing the likelihood of developing pathology should be highlighted separately. There are only 14 such signs. The study included 45 patients who underwent surgery between 2016 and 2020. There were 27 men (60%), 18 women (40%). The mean age was 54 years (range 37-77 years). These included patients who were treated with a confirmed diagnosis of CP or PC, whom we retrospectively analyzed and confirmed the corresponding diagnosis, and also analyzed 25 different signs (symptoms and concomitant diagnoses) inherent to these diseases (Fig. 8).

Діагностика патології ПЗ

Більш впливові симптоми

☐ Відмітити усі

☒ 1. Фіброз – діагностуємо УЗД та КТ

☐ 2. Протокова гіпертензія з екстазією – показник більше 1 см

☒ 3. Охопція вірусової протоки з раптовим обривом у ділянці перешийка чи тіла

☐ 4. Збільшення розмірів ПЗ

☒ 5. Інтраопераційна біопсія (PanIN 1 – PanIN 3 (1) або метастазів)

☐ 6. Зміна білкового профілю плазми MMP у передопераційному періоді

☐ 7. Панкреатит у анамнезі більше 10 р.

☐ 8. Повторні операції з приводу хронічного панкреатиту

☐ 9. Сімейний анамнез (ХП чи РПЗ у родичів першої чи другої лінії)

☐ 10. Некалькульозна жовтяниця

☐ 11. Зростання вмісту плазминого інгібітору матриксних металопротеїназ (TIMP)

☐ 12. Екзокринна недостатність

☒ 13. ЦД – ендокринна недостатність

☒ 14. Інтраопераційний експрес-зіскоб – позитивний

Менш впливові симптоми

☐ Відмітити усі

☒ 1. Біль

☐ 2. Втрата маси тіла

☐ 3. Саркопенія – визначаємо за даними УЗД та КТ

☒ 4. Протокова гіпертензія з екстазією – показник до 1 см

☒ 5. Конкременти вірусової протоки

☒ 6. Портальна гіпертензія

☒ 7. Панкреатит у анамнезі до 10 р.

☐ 8. Проступ гострого панкреатиту або загострення ХП

☐ 9. Ожиріння (надлишкова вага) в анамнезі

☒ 10. Вік

☒ 11. Стать чоловіча

☒ 12. Куріння понад 10 р.

☒ 13. Алкоголь понад 10 р.

Імовірність злоякісної патології

0.7688312318

Імовірність відсутності патології

0.2311687682

Розрахувати

Потужність бустингу (точність діагностики)

0.96

Figure – 8 Screenshot: an example of using the developed mathematical model for diagnosing the probability of malignant pathology of the soft tissue

A mathematical diagnostic model was actually developed based on binary classification using selected symptoms. A classifier was built for the purpose of preoperative detection of malignant pathology based on a probabilistic neural network. The next step is to create a set of statistical data of patients with a correct diagnosis for building classifiers and matrices. The quality of the classifiers was checked and a combined classifier was built. Testing the boosting classifier and determining the final diagnostic quality based on the developed model indicated the possibility of performing diagnostics using the developed model with an accuracy of up to 96% in the worst cases.

Taking into account the above-described results of the conducted study and the analysis of retrospective and prospective results of patient treatment, we developed and implemented an algorithm for pre- and intraoperative diagnosis of patients at risk, which is reflected in Fig. 9.

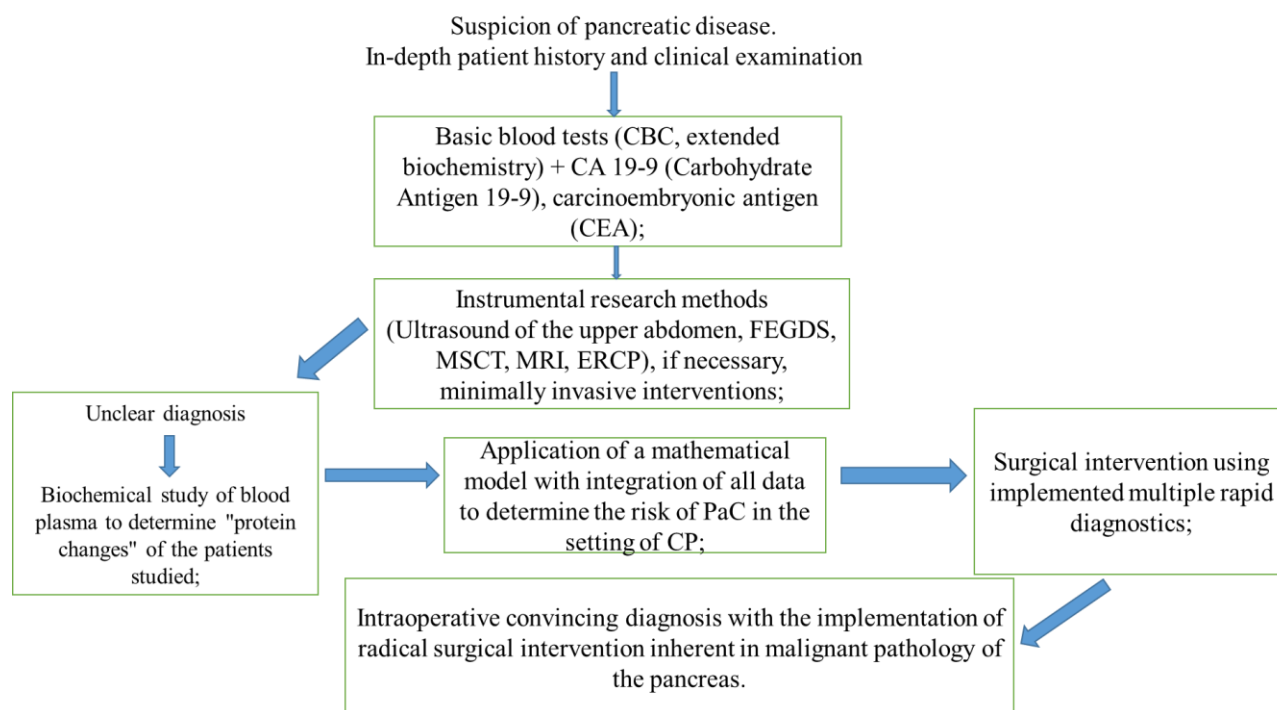


Figure – 9 Algorithm for pre- and intraoperative diagnostics in patients at risk of PC.

In chapter 6 the issue of surgical treatment of patients with indications for surgical interventions and ways of performing them is considered. Analysis of the causes of PF in our operated patients showed that they include disruption of the integrity of the duct in patients with ductal hypertension, pressure sores from calculi, with subsequent defect formation, pancreatic trauma, neglected pancreatic tumor, partial or complete failure of the anastomosis or stump, as well as destruction after postoperative pancreatitis, pancreatic necrosis. Currently, there are no unified protocols for the surgical treatment of PA and PF, therefore, different clinics use different approaches, from conservative methods to extensive multi-stage interventions.

It has been established that, when ascites forms due to pancreatic injury, the question of surgical correction should be raised as early as possible, before complications arise. When ascites appears in patients with PC, treatment is symptomatic, as this is a sign of decompensation of the process. Improved surgical interventions for various types of pancreatic fistulas. A method of treating chronic pancreatitis complicated by complete pancreatic fistula with obstruction of the proximal part of the duct of Wirsung, while preserving the left anatomical segment, is proposed. The effectiveness of this type of surgical intervention has been proven (copyright registration certificate № 120597 from 18.07.2023).

Operations for intra-abdominal and external bleeding were performed in 18 patients. The causes were: in 3 patients (16.6%) bleeding from the tumor area of the pancreatic head, in 4 (22.2%) - Wirsungo-venous fistula, in 5 (27.8%) - pseudoaneurysm of the splenic artery with communication with the duct of Wirsung, in 5 (27.8%) - pancreatic cyst with bleeding into the cavity, which communicated with the duct of Wirsung, in 1 (5.55%) -

pseudoaneurysm of the pancreaticoduodenal artery with complicated CP. During the first stage of treatment, in three (16.6%) patients endovascular methods to stop bleeding were used with angiographic embolization, which was ineffective in two of them (66.7%) and required open surgical intervention. In case of ineffectiveness, surgical interventions were performed to stop gastrointestinal bleeding, during which parallel surgical correction of CP complications was also performed: ductal hypertension with severe pain syndrome, urethritis, pancreatic fistula. In the postoperative period, we adhere to all the canons of «fast track» surgery. Patients are activated as quickly as possible, making sure there is no stasis in the stomach, and we allow them to drink water and liquid food from the second postoperative day.

During surgical interventions on cysts, pseudocysts and other fluid formations of the pancreas, intraoperative puncture pancreatobiliary sonography has been introduced, which allows to differentiate the type of changes in the pancreatic ductal system, the level of obstruction, the presence of calculi in the lumen, and also to differentiate the probability of communication of cystic formations of the pancreas with the ductal system in patients with complicated CP. Its use allows to choose the appropriate surgical method and ensure the best outcome of surgical intervention in complicated forms of CP. Thanks to a comprehensive approach and diagnostics, it was possible to differentiate the type of changes in the pancreatic ductal system in patients with complicated CP and detect ductal hypertension with duct stricture in the isthmus and head in 64%, and in 43.4%, communication of cystic formations with the pancreatic duct, and in 9%, the presence of an internal pancreatic fistula.

In patients with chronic pancreatitis at high risk of pancreatic cancer, the proposed improved methods of pre- and intraoperative diagnosis were implemented. Patients in the main group were preclinically assessed for: tissue inhibitor of metalloproteinase 1 (TIMP-1), matrix metalloproteinase 9 (MMP-9), urokinase-type plasminogen activator receptor (uPAR), macrophage inhibitor cytokinin (MIC-1), and intraoperative multiple polyp punch biopsy and curettage of the duct of Wirsung with rapid diagnostics were used (copyright registration certificate was obtained: «Intraoperative pancreatic biopsy technique» №115178 (from 11.10.2022) and «Intraoperative multiple biopsy technique of the pancreas» №114856 (from 19.09.2022) (Fig. 10).

The results obtained were the reason for changing the scope of surgical intervention. Intraoperatively, after punch biopsy among patients in the main group, acinar metaplasia was detected in 6 (26.1%) patients, and tissue changes characteristic of high-grade PanIN were detected in 8 (34.7%) patients (Fig. 11(A)). The remaining 9 (39.2%) had intraoperatively confirmed pancreatic cancer localized in its head in 5 of them (55.5%) and in 4 patients (44.5%) with localization in the left anatomical segment (Fig. 11(B)). Changes in the plasma protein profile, which we determined at the preoperative stage, as well as characteristic changes in pancreatic tissue, allowed us to establish the correct diagnosis and provided grounds for performing extended resection interventions, which should be performed in patients with malignant pancreatic pathology (Fig. 2, 12).

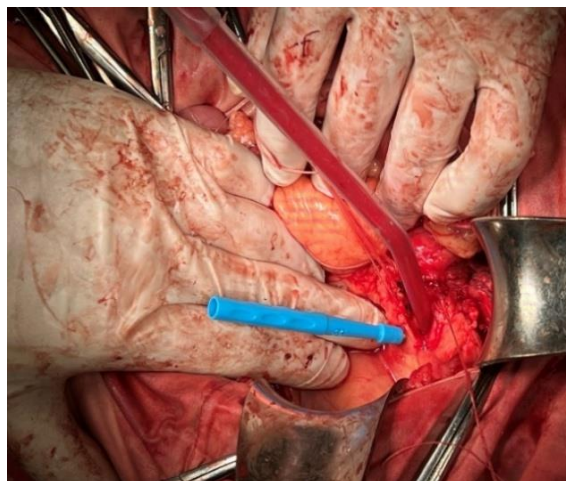
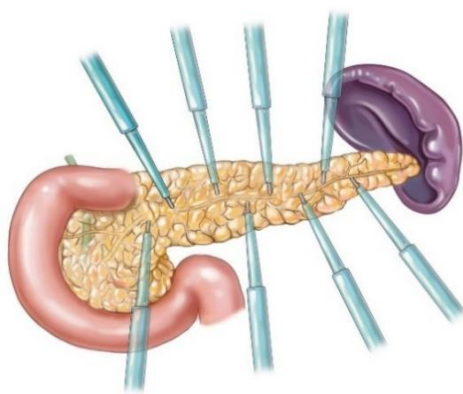


Figure – 10 Intraoperative punch biopsy of altered pancreatic tissue

Therefore, 13 (56.5%) Whipple operations and 10 (43.5%) extended left-sided distal pancreatic resections with splenectomy and lymphadenectomy were performed. The remaining 11 (32.3%) patients with complicated chronic pancreatitis, ductal hypertension, pain syndrome, but no malignancy diagnosed during intraoperative biopsy, underwent draining or resection surgery typical of complicated CP: 2 (18.2%) patients with severe fibrous changes in the pancreatic head and significant pain syndrome underwent the Whipple operation, 3 (27.3%) patients underwent draining surgery - longitudinal pancreaticojejunostomy, 4 (36.4%) with ductal hypertension and pain syndrome - Frey's operation with frontal resection of the pancreas, and 2 (18.2%) - central, our proposed resections of the pancreas with preservation of the left anatomical segment (copyright registration certificate № 120597 from 18.07.2023), to prevent the development of further pancreatic insufficiency.

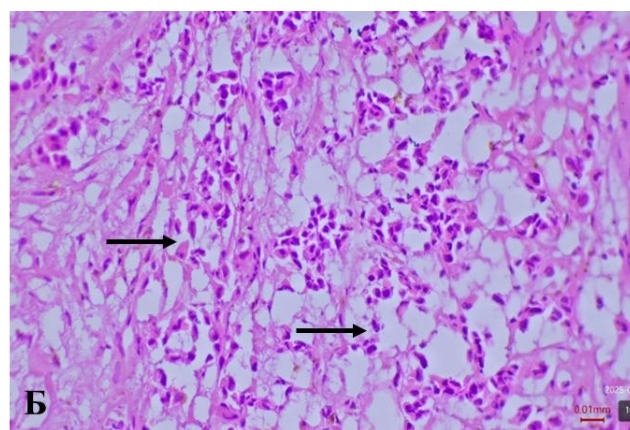
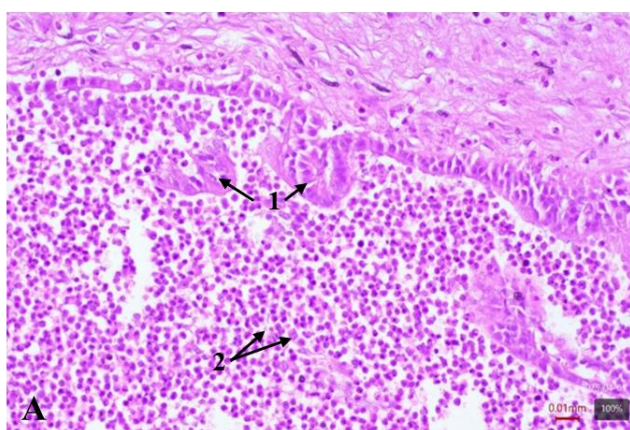


Figure – 11 Micrographs of the pancreas of patients in the experimental groups:

- A) signs of metaplasia (1 - metaplasia) against the background of pronounced inflammation (2 - inflammation) at a magnification of $\times 200$. Hematoxylin-eosin staining.
- B) signs of pancreatic cancer. Magnification is $\times 400$. Hematoxylin-eosin staining

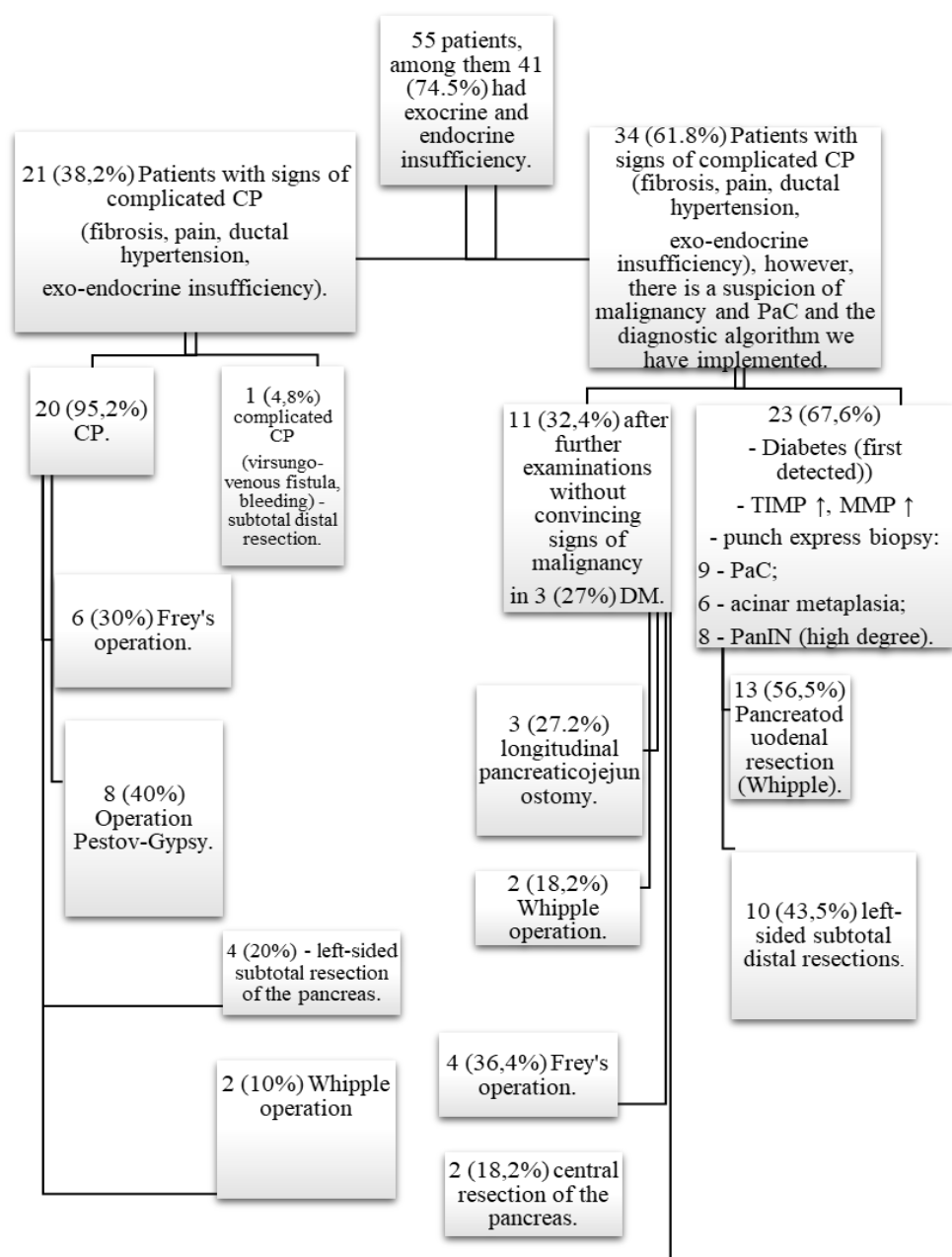


Figure - 12 Scheme of distribution of patients into the main group and the comparison group

CONCLUSIONS

The dissertation work contains a new approach to solving the scientific problem of increasing the efficiency of diagnostics and surgical treatment of patients with complicated forms of chronic pancreatitis with a high risk of developing pancreatic cancer, which involves the use and implementation of the proposed improved algorithm for pre- and intraoperative diagnostics and the selection of the most optimal and radical method of surgical intervention.

12. A new experimental model of chronic pancreatitis with sequential modeling of diabetes mellitus (DM) was developed and implemented in the study, which is aimed at studying the problem and pathogenesis of the development of chronic pancreatitis in combination with diabetes mellitus. It allowed establishing the cause-and-effect relationships of changes inherent in the development of pancreatic cancer, thereby ensuring early diagnosis of tissue malignancy and timely optimization of the treatment strategy for complicated chronic pancreatitis. Analysis of the qualitative and quantitative composition of peptide pools in the blood and pancreatic parenchyma in animals during modeling of chronic pancreatitis and chronic pancreatitis combined with diabetes mellitus convincingly demonstrated fundamental differences in the molecular weight and number of peptides. The appearance of new peptide fractions in the range of 400 Da - 1300 Da in existing pathological conditions, certain differences in their number indicate significant metabolic disorders in chronic pancreatitis, activation of catabolic reactions and confirm the presence of a connection between the histopathological features of the pancreas in the form of fibrosis and manifestations of low pancreatic intraepithelial neoplasia in chronic pancreatitis and high and moderate pancreatic intraepithelial neoplasia in chronic pancreatitis with diabetes mellitus (a predictor of the development of pancreatic cancer) and changes in peptide pools in the blood and tissue of animals.

13. The study of the content of trigger components of the proteolysis system and cytokines in the blood serum, liver and pancreas of rats with chronic pancreatitis separately and in combination with diabetes mellitus indicates a significant increase in the content of interleukin-6, TNF α and matrix metalloproteinase-2, -9 in the blood serum, liver and pancreas of animals, and the increase in the content of interleukin-6, TNF α , the level of metalloproteinase-2 is more pronounced in chronic pancreatitis + diabetes mellitus; while the increase in metalloproteinase-9 is more pronounced in chronic pancreatitis. The obtained data indicated the presence of a pronounced inflammatory process and its systemic nature in the studied pathologies, impaired barrier function of cell membranes, an increase in the proportion of necrotic cells, and a significant and reliable increase in the content of metalloproteinase-9 on day 44 in the group with chronic pancreatitis is a negative prognostic marker for the threat of development of pancreatic cancer.

14. The study of the trigger components of the proteolysis system and cytokines in the blood plasma and pancreas of patients with chronic pancreatitis indicated a significant increase in the values of the vast majority of the studied parameters (content of Pg, PC, TM, IGF-1, MMP-1, -2, -3, -8, -10, TIMP-1, IL-1 β , -4, -6, -8, TNF- α) at the level of systemic circulation relative to a group of conditionally healthy individuals, and the absence of significant changes in the content of both pro- and anti-inflammatory cytokines in the blood plasma of patients with pancreatic cancer, with the exception of IL-1 β , the levels of which tended to increase. In patients with CP, the blood plasma showed the greatest increase in IL-

1 β (by 95%) and IL-8 (by 80%), while in pancreatic tissue the changes in their levels were the smallest with the maximum increase in the levels of anti-inflammatory IL-4 (IL-4 – 2.9 times, the largest changes) and pro-inflammatory IL-6 (by 2.7 times) and TNF- α (by 2.5 times) ($p < 0.05$). In patients with pancreatic cancer, the levels of TNF- α (3.3 times), IL-1 β (3.2 times) and IL-6 (2.9 times), IL-8 (2.7 times) significantly increased in pancreatic tissue compared to a group of conditionally healthy individuals ($p < 0.05$).

15. The study of proteolytic activity in blood plasma showed an increase in all studied proteolytic activities by more than 2 times in chronic pancreatitis ($p < 0.05$) and more than 3 times in pancreatic cancer ($p < 0.05$) mainly due to the increased activity of matrix metalloproteinases (non-trypsin-like enzymes). When studying pancreatic tissue, its total proteolytic activity increased more than 2.5 times in chronic pancreatitis ($p < 0.05$) compared to control. In contrast, a study of oncologically altered pancreatic tissue samples demonstrated a more than twofold decrease in total proteolytic activity against the background of a decrease in serine protease activity ($p < 0.05$), which may be a diagnostic criterion for a malignant process.

16. When determining the proteolytic activity of matrix metalloproteinases in the blood and pancreas in chronic pancreatitis and pancreatic cancer, it was found that both inflammatory processes and oncopathology were accompanied by remodeling of the extracellular matrix due to changes in the composition of matrix metalloproteinases, which was manifested by an increase in the number of active MMPs of different molecular weights, which showed gelatinase and collagenolytic activity both in plasma and in the affected organ in the pathologies studied. An increase in their content was noted in the pancreatic tissue of patients with CP (MMP-1 by 3.2 times; MMP-8 by 2.7 times; MMP-9 and MMP-10 by 2.3 times; MMP-3 by 83%; MMP-2 by 66% and TIMP content by 2.6 times) and in PC (MMP-9 by 3.3 times, MMP-10 by 3.1 times and MMP-8 and MMP-1 by 2.9 times, MMP-3 by 2.7 times) and MMP-2 by 2.3 times), which indicates an active role of these enzymes in the remodeling of the extracellular matrix, which in the case of chronic pancreatitis contributes to the development of pancreatic fibrosis, and in the presence of pancreatic cancer facilitates invasion, angiogenesis and metastasis.

17. In the case of chronic pancreatitis and pancreatic cancer, proteolytic processes have a number of features in the blood and pancreatic tissue of patients, which is characterized by a higher level of trypsin-like serine proteases in blood plasma (in chronic pancreatitis - by 29%, in pancreatic cancer - by 85%, $p < 0.05$) and a lower level in pancreatic tissue (in chronic pancreatitis - by 69%, in pancreatic cancer - by 89%, $p < 0.05$) relative to the values of the corresponding indicators in the group of conditionally healthy individuals. In the blood plasma of patients with chronic pancreatitis, low-molecular components prevailed, and in patients with pancreatic cancer, medium-molecular proteins, which are characterized by pronounced regulatory functions and toxic effects, predominated.

18. Under conditions of chronic inflammation of the pancreas, a significant increase in the values of the vast majority of the studied parameters is observed: the content of Pg, PC, TM, IGF-1, MMP-1, -2, -3, -8, -10, TIMP-1, IL-1 β , -4, -6, -8, TNF- α at the level of systemic circulation. Considering that in chronic pancreatitis and pancreatic cancer, a statistically significant increase in blood plasma levels of only protein C and thrombomodulin has been proven (in chronic pancreatitis - almost 3 and 4 times ($p < 0.05$), respectively, and in pancreatic oncopathology - by 30-40% ($p < 0.05$), other parameters, in

particular, the content of MMPs and ILs, may serve as a promising diagnostic criterion for determining the transition of chronic inflammation in the pancreas to malignant transformation. The content of MMP-2, -3, -9, -10 and TIMP-1, as well as all studied ILs (except IL-4 and IL-6) in the pancreatic tissue of patients with pancreatic cancer, statistically significantly exceeded the values of the corresponding indicators in patients with chronic pancreatitis ($p < 0.05$).

19. The developed mathematical model of early diagnosis of malignant pancreatic pathology in the form of binary classification using probabilistic neural networks based on the available group of real statistical data in the form of symptoms in the studied patients made it possible to detect it with an accuracy of up to 96% in the worst cases. The classifier determines the diagnosis without error if the number of false symptoms is no more than five in each list of groups of signs with a lower and higher degree of influence on increasing the likelihood of developing malignant pathology.

20. The use of a mathematical model provides a significant advantage in the early diagnosis of malignant pancreatic pathology at the preclinical stage, at an early stage of the disease, which makes it possible to optimize the choice of the volume of surgical intervention in complicated forms of chronic pancreatitis in patients with a high risk of developing pancreatic cancer in a timely manner; convincingly provides the main advantages in the possibility of conducting early diagnostics of malignant pancreatic pathology, selective verification of «patients we need» from the risk group (patients with a dubious diagnosis); perform timely radical surgical interventions and, accordingly, improve the quality and success of surgical treatment

21. The use of a comprehensive approach with the introduction of new and improved methods of pre- and intraoperative diagnostics using the proposed laboratory methods, a constructed mathematical model of diagnostics of malignant pathology of the pancreas, intraoperative multiple biopsy of the pancreas made it possible to form an algorithm for performing extended early radical surgical interventions on the pancreas in a group of patients with a dubious diagnosis and in case of malignant pathology to perform it on time in a larger resection volume.

11. As a result of the application of the proposed algorithm of pre- and intraoperative diagnostics and the performance of extended early radical surgical interventions on the pancreas in the main group of patients with a doubtful diagnosis, acinar metaplasia was diagnosed in 6 (26.1%) patients, high-grade pancreatic intraepithelial neoplasia in 8 (34.7%), and in the remaining 9 (39.2%) patients, the presence of pancreatic cancer localized in the head was intraoperatively confirmed in 5 (55.5%) and in the left anatomical segment of the pancreas in 4 (44.5%), which was the basis for performing extended resection interventions in the form of 13 (56.5%) Whipple operations and 10 (43.5%) extended left-sided distal resections of the pancreas with splenectomy and lymphadenectomy.

PRACTICAL RECOMMENDATIONS

6. For the purpose of screening diagnostics of patients with complicated forms of chronic pancreatitis with a high risk of developing pancreatic cancer, a developed algorithm of pre- and intraoperative diagnostics, plasma and biopsy material should be used, which involves quantitative assessment of the content of MMP-2, -3, -9, -10 and TIMP-1, as well

as all studied ILs (IL-1 β , -4, -6, -8, and TNF- α), and qualitative morphological changes in the pancreatic parenchyma.

7. For early prediction of the development of malignant pathology, it is recommended to use the developed mathematical model of early diagnosis of malignant pathology of the pancreas, which allows it to be diagnosed with an accuracy of up to 96% in the worst cases. If the number of false symptoms does not exceed five in each list of groups of signs (symptoms) with a lower and higher degree of influence on increasing the likelihood of developing malignant pathology, then the classifier determines the diagnosis almost without error. The results obtained provide early diagnosis at the preclinical stage and at the early stage of the disease, which improves the efficiency of diagnosis and allows for radical surgical interventions at the early stage of the disease and ensures an improvement in the quality patients' life.

8. The proposed methods of improved biopsies should be used intraoperatively: «Intraoperative pancreatic biopsy technique» and «Intraoperative multiple biopsy technique of the pancreas». Their results may be the reason for changing the surgical correction of pancreatic pathology in the direction of increasing the resection volume, which will ensure more radical and high-quality treatment with improved quality of life in the immediate and long-term postoperative period.

9. For further scientific research on early diagnosis of pancreatic cancer, a new experimental model of chronic pancreatitis should be used with sequential modeling of experimental diabetes mellitus in the same animals, which is aimed at studying the problem and pathogenesis of chronic pancreatitis in combination with diabetes mellitus and pancreatic cancer. The results allow us to establish cause-and-effect relationships between changes inherent in the development of pancreatic cancer, ensuring early diagnosis of tissue malignancy and timely optimization of the treatment strategy for complicated chronic pancreatitis.

5. In patients from the risk group, it is necessary to set earlier indications for surgical intervention, and perform it in a larger resection volume, inherent in malignant pathology.

Keywords: chronic pancreatitis, pancreatic cancer, matrix metalloproteinases, peptide pool, intraoperative diagnosis of pancreatic disease, early diagnosis and prognosis of pancreatic cancer.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

КПГ – кінцеві продукти глікації
РПЗ – рак підшлункової залози
ХП – хронічний панкреатит
ЕСМ – позаклітинний матрикс
Pg – plasminogen

LIST OF CONVENTIONAL ABBREVIATIONS

PF – pancreatic fistula
CP – chronic pancreatitis
IGF-1 – insulin-like growth factor 1
MMPs – matrix metalloproteinases
PAS – plasminogen activation system