

Міністерство освіти і науки України
Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича
Навчально-науковий інститут біології, хімії та біоресурсів
Кафедра біохімії та біотехнології

**МАРКЕРИ СТАНУ ПЕЧІНКИ ЗА УМОВ УРАЖЕННЯ РІЗНОЇ
ЕТІОЛОГІЇ**

Дипломна робота
Рівень вищої освіти – перший (бакалаврський)

Виконав:

студент 4 курсу, 411 група

Дутчак Богдан Андрійович

Керівник:

кандидат біологічних наук,

доцент **Волощук О.М.**

До захисту допущено
на засіданні кафедри
протокол № _____ від _____ 2025 р.
Зав. кафедрою _____ доц. **Волощук О.М.**

Чернівці–2025

АНОТАЦІЯ

Бакалаврська робота присвячена аналізу лабораторних маркерів вірусного та алкогольного ураження печінки.

Встановлено, що активність аланінамінотрансферази та аспартатамінотрансферази у сироватці крові пацієнтів, незалежно від етіології захворювання печінки, значно перевищує показники норми. При цьому максимально виражені значення активності амінотрансфераз характерні для пацієнтів з вірусним гепатитом. Показано, що для пацієнтів з вірусним гепатитом характерне зниження коефіцієнту де Рітіса, тоді як у пацієнтів з алкогольним ураженням печінки цей показник зберігається в межах норми. Це вказує на виражений некроз клітин печінки та руйнування мітохондрій у пацієнтів з вірусним гепатитом. Встановлено, що для всіх пацієнтів з ураженням печінки характерне підвищення вмісту загального білірубіну, що свідчить про порушення виведення білірубіну з організму.

Ключові слова: вірусний гепатит, алкогольне ураження печінки, аланінамінотрансфераза, аспартатамінотрансфераза, коефіцієнт де Рітіса, загальний білірубін.

ABSTRACT

The bachelor's thesis is devoted to the analysis of laboratory markers of viral and alcoholic liver damage.

It was found that the activity of alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) in the blood serum of patients, regardless of the etiology of liver disease, significantly exceeds normal values. The highest aminotransferase activity levels were observed in patients with viral hepatitis. It was shown that a decrease in the De Ritis ratio is characteristic of patients with viral hepatitis, whereas in patients with alcoholic liver damage, this indicator remains within the normal range. This indicates significant liver cell necrosis and mitochondrial destruction in patients with viral hepatitis. An increased level of total bilirubin was found in all patients with liver damage, which indicates impaired bilirubin excretion from the body.

Keywords: viral hepatitis, alcoholic liver damage, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, De Ritis ratio, total bilirubin.

Кваліфікаційна робота містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів наукових досліджень інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

_____ Б.А. Дутчак
(підпис)

ЗМІСТ

ВСТУП	5
РОЗДІЛ I ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	7
1.1. Етіологія захворювань печінки.....	7
1.2. Особливості клінічного перебігу вірусних гепатитів.....	8
1.3. Клінічні прояви та механізми виникнення алкогольного ураження печінки.....	12
1.4. Лабораторні маркери ушкоджень печінки різної етіології.....	15
РОЗДІЛ II МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ	18
2.1. Об'єкти та методи дослідження.....	18
РОЗДІЛ III РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ	23
ВИСНОВКИ	28
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ	29
ДОДАТКИ	31

ВСТУП

Печінка – головний орган детоксикації, виконує ряд важливих функцій – знешкодження різних токсичних речовин, лікарських речовин, продуктів метаболізму. Бере участь в метаболізмі вуглеводів, відіграє ключову роль у синтезі холестеролу, альбуміну, факторів згортання крові та жовчі. Важлива роль також належить печінці у формуванні імунної відповіді. Функціональні порушення печінки призводять до виникнення важких патологічних станів та летальних випадків. Найбільш розповсюдженими причинами виникнення захворювань печінки є зловживання алкоголем та ураження збудниками вірусних гепатитів. Ці захворювання, особливо на початкових етапах, можуть не супроводжуватися вираженими клінічними ознаками, що ускладнює діагностику та диференціацію захворювань печінки різної етіології [4].

Вірусні гепатити становлять глобальну загрозу для громадського здоров'я, викликаючи хронічні запальні процеси в печінці, цироз і гепатоцелюлярну карциному. Виділяють такі типи вірусних гепатитів:

- Вірусний гепатит А
- Вірусний гепатит В
- Вірусний гепатит С
- Вірусний гепатит D
- Вірусний гепатит E

Не менш значущим є й алкогольне ураження печінки, яке часто розвивається поступово, від стеатозу до гепатиту та цирозу, особливо у осіб із тривалим зловживанням алкоголем [7]. Визначення біохімічних показників печінки, таких як аланінамінотрансфераза, аспартатамінотрансфераза та вмісту білірубіну, дають змогу оцінити як і пошкодження клітин печінки, так і функціональні відхилення печінки в цілому. До того ж собівартість даних методик є досить низькою, що дає змогу їх масового застосування для пацієнтів. Вивчення змін рівнів АЛТ, АСТ та білірубіну глибше зрозуміти

патофізіології особливості кожного типу ураження печінки та може сприяти покращенню діагностики захворювань.

Метою роботи був аналіз лабораторних маркерів вірусного та алкогольного ураження печінки.

Для досягнення мети були поставлені **завдання**:

1. Визначити активність АЛТ і АСТ у сироватці крові пацієнтів з вірусним гепатитом та алкогольним ураженням печінки.
2. Проаналізувати показники білірубіну у пацієнтів з вірусним гепатитом та алкогольним ураженням печінки.

РОЗДІЛ I. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Етіологія захворювань печінки

Печінка — є одним з найважливіших органів людини. Представляє собою залозу змішаної секреції розташовану у верхньому відділі черевної порожнини. На 80% складається з гепатоцитів — основних функціональних клітин печінки [4]. До функцій печінки відносяться:

- Метаболізм вуглеводів — регуляція рівня глюкози в крові та синтез глікогену. Синтез глікогену має важливе значення для організму, так як завдяки цьому процесу підтримується енергетичний баланс. Під час прийому їжі коли рівень глюкози в крові зростає, печінка починає синтез глікогену, який відкладається в гепатоцитах [5].
- Синтез альбуміну — функціональні клітини печінки синтезують білки плазми крові. Основним з яких є альбумін. До функцій цього білку входять підтримка онкотичного тиску, транспорт різних гормонів, лікарських препаратів, жирних кислот. Недостатній синтез альбуміну призводить до набряків і порушення гомеостазу.
- Детоксикація — знешкодження та виведення токсичних речовин включаючи етанол, аміак та лікарські препарати.
- Синтез жовчі та її накопичення у жовчному міхурі.
- До одних з найважливіших функцій печінки також можна віднести розщеплення жирних кислот, які в подальшому перетворюються на енергію. Зберігаються вони у вигляді тригліцеридів. Також у печінці відбувається процес синтезу холестерину, з якого утворюються стероїдні гормони а також він входить до складу клітинних мембран та жовчних кислот.
- Накопичення вітамінів та макроелементів, зокрема вітамінів А, D, Е, К, а також вітаміну В12 та заліза.

До основних факторів що призводять порушення функцій печінки відносять:

- **Інфекцій збудники** включаючи вірусні гепатити, бактеріальні та паразитарні інфекції. Вірусні гепатити викликають гостре або хронічне запалення печінки, можуть спричинити цироз печінки .
- **Вживання алкоголю.** Алкогольне ураження печінки є однією з найчастіших захворювань печінки у світі. Тривалий прийом етанолу викликає жирову інфільтраці, запалення а з часом призводить до утворення фіброзу та цирозу печінки.
- **Токсичні речовини** — до цієї категорії факторів відносять дію лікарських речовин, речовин рослинного походження та промислових отрут.
- **Обструкція жовчних шляхів.** Камені в жовчному міхурі можуть заблокувати відтік жовжі що призводить до накопичення білірубін та запалення печінки.
- Неправильне харчування, зокрема вживання жирної їжі, їжі з підвищеним вмістом цурку викликають розвиток жирової хвороби печінки та порушення її функцій.

Загалом ці фактори можуть призвести до виникнення різних патологій печінки, зокрема спричинити цироз печінки що являє собою незворотні зміни та порушення функцій печінки.

1.2. Особливості клінічного перебігу вірусних гепатитів

Вірусні гепатити являються поширеними одними з найбільш поширених інфекційних захворювань у світі. Захворювання може проходити як в гострій так і в хронічній формі. Вірусні гепатити поділяються на 5 основних типів:

- Гепатит А (HAV)
- Гепатит В (HBV)
- Гепатит С (HCV)
- Гепатит D (HDV)
- Гепатит Е (HEV)

Гепатит А (HAV) — гостре інфекційне захворювання печінки, збудником якого є вірус який належить до родини Picornaviridae, та роду Hepatovirus. Генوم вірусу представлений у вигляді одноланцюгової РНК, яка має позитивну полярність та розмір приблизно 7,5 тисяч нуклеотидів. Вірус гепатиту А стійкий до навколишнього середовища, може витримувати температуру до 60 °С близько години. Інактивування вірусу здійснюється шляхом автоклавування, під дією випромінювання ультрафіолетовими променями, замочуванням у розчини хлору та формаліну. В більшості випадків патоген передається фекально-оральним шляхом [20].

Гепатит В (HBV) — інфекційне захворювання печінки яке може проходити як в гострій так і в хронічній формі. Збудником даного захворювання є ДНК-вмісний вірус родини Hepadnaviridae, роду Orthohepadnavirus. Збудник стійкий до факторів навколишнього середовища, до 30 хвилин може витримувати температуру 60 °С, тривалий час зберігає свою активність при низькій температурі, виживає у кислотах. Вірус знешкоджується автоклавуванням при температурі 120 °С 20 хвилин, ультрафіолетовим випромінюванням, розчинами формаліну та хлору. Основними шляхами передачі вірусу гепатиту В є кров та біологічні рідини [16].

Гепатит С (HCV) — захворювання печінки з високим ризиком переходу у хронічну форму. Збудником є вірус родини Flaviviridae, роду Heparavirus. У ролі генетичного матеріалу виступає РНК. Вірус є досить стійким до навколишнього середовища, інактивується так само як і збудник гепатиту А і В автоклавуванням, ультрафіолетовим випромінюванням, розчинами формаліну та хлору. Особливістю є висока варіабельність вірусу — виділяється 8 генотипів та більше 100 субтипів. Основними шляхами передачі є: вертикальний, парентеральний, статевий, контактний-побутовий [6].

Гепатит D (HDV) — захворювання печінки збудник якого характеризується розмноженням тільки за наявності супутнього захворювання гепатиту В. Захворювання може зустрічатися у двох формах — коінфекція(коли зараження гепатитом В і гепатитом D відбулося одночасно) та суперінфекція(інфікування гепатитом D відбулося після хронізації гепатиту В). Шляхи передачі патогена аналогічні як і у HBV: парентеральний, статевий, вертикальний, контактнo-побутовий.

Гепатит E (HEV) — інфекційне захворювання печінки, в більшості випадків має гострий перебіг. Хронічна форма спостерігається у осіб з імуносупресією. Геном збудника представлений у вигляді РНК. Вірус є безоболонковим. Особливість захворювання є висока смертність серед вагітних жінок. Шлях передачі: фекально-оральний, харчовий, вертикальний, парентеральний.

В загальному 5 типів вірусних гепатитів характеризуються ураженням клітин печінки — гепатоцитів. Пагубна дія може бути напряду викладана збудником або через ураження інфікованих клітин імунною системою. Хоча і клінічна картина різних типів вірусних гепатитів може бути досить різною — в загальному перебіг захворювання поділяється на декілька стадій: інкубаційний, продромальний, період розгорнутих клінічних проявів (жовтяничний), період реконвалесценції.

Інкубаційний період — період від зараження до появи перших клінічних ознак. Тривалість цього періоду в різних типів вірусного гепатиту різна і може бути від від 15-45 днів при гепатиті А до 45-180 днів при гепатиті В та С. В цей період збудник уже можна виявити деякими лабораторними дослідженнями. Продорамальний період — його ще називать переджовтяничний. В цьому періоді з'являються перші неспецифічні симптоми такі як загальна слабкість, втома, зниження апетиту, нудота, незначне підвищення температури, головний біль та інші. Така симптоматика характерна для багатьох інших захворювань, що може призводити до невірної постановки діагнозу у цьому періоді. Жовтяничний період

проявляється вираженими симптомами — через підвищення білірубіну в крові склери та шкіра забарвлюються у жовтий колір. Інтенсивність забарвлення залежить від тяжкості перебігу захворювання. Разом із цим у цей період проявляється гепатомегалія, болючість при пальпації печінки, можливі петехії, екхімози, носові кровотечі при тяжкому перебігу. В аналізах крові визначають підвищення загального білірубіну, АЛТ і АСТ, зниження протромбінового індексу. В залежності від важкості перебігу та типу вірусу перебіг цього періоду триває 2 — 6 тижнів. Період реконвалесенції — у цей період зменшуються клінічні прояви та приходять у норму біохімічні показники печінки.

За характером перебігу захворювання може проходити у гострій або хронічній формі. В залежності від форми перебігу захворювання також і відрізняються ускладнення.

Ускладнення гострої форми гепатиту:

- Фульмінантна печінкова недостатність (ФПН) вважається одним із найважчих ускладнень гострого перебігу вірусного гепатиту. Захворювання характеризується некрозом великої кількості гепатоцитів, що призводить до критичного зниження їх кількості і клінічно проявляється швидким прогресуванням енцефалопатії, жовтяниці, коагулопатії. Розвиток ускладнення має найбільшу частоту у вагітних жінок які хворіють гепатитом Е і складає 20-25%. Смертність від фульмінантної печінкової недостатності сягає 60-80%.
- Холестатичний синдром — захворювання при якому порушується утворення та виділення жовчі. Виникнення патології може бути зумовлено пошкодження жовчних каналців, порушення транспортних систем гепатоцитів і позапечінковими факторами. Клініка даного захворювання характеризується свербіжем шкіри, помутнінням сечі, жовтяницею. При тривалому перебігу можливий розвиток вторинних

ускладнень — дефіцит вітаміну А, D, E, К, стеаторея, остеопороз і ксантоматоз [3].

- Серйозним ускладненням гострого вірусного гепатиту є Гостра ниркова недостатність. Характеризується лігурією, анурією, підвищенням рівня креатиніну і сечовини, електrolітними порушеннями. Летальність особливо висока у паєднанні з печінкової недостатністю і може складати 50%.

Ускладнення хронічної форми вірусного гепатиту:

- Найчастішим ускладненням хронічного перебігу вірусного гепатиту є цироз печінки. Розвиток патології відбувається внаслідок постійних запальних процесів, порушенням регенерації клітин печінки що в кінцевому результаті призводить до утворення фіброзної тканини на місці нормальної перенхіми печінки. Клінічно проявляється печінковою недостатністю, енцефалопатією, синдромом портальної гіпертензії. Останній призводить до варикозного розширення вен стравоходу та шлунка. Раннє виявлення та лікування мже сповільнити та навіть викликати регрес захворювання, але після сформованого цирозу повне відновлення неможливе [2].
- Гепатоцелюлярна карцинома — злоякісне нововутворення печінки, розвивається на фоні хронічних вірусних гепатитів. Дане захворювання тісно пов'язане з вірусом гепатиту В, так як він має прямий онкогенний потенціал.
- До інших позапечінкових ускладнень хронічних вірусних гепатитів можна віднести автоімунні реакції, кріоглобулінемію, гломерулонефрити. Можливий зв'язок з розвитком серцево-судинних захворювань, когнітивних порушень, цукровго діабету.

1.3. Клінічні прояви та механізми виникнення алкогольного ураження печінки

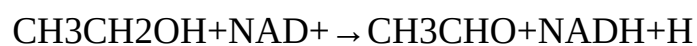
Алкогольне ураження печінки — є одним з найпоширеніших патологічних процесів ураження печінки та становить значну проблему соціому. За даними ВООЗ кожного року від даного захворювання у світі помирає близько 3 мільйонів людей [7].

Основним механізмом ураження печінки є токсична дія етанолу та його метаболітів. В організмі людини можна виділити 2 метаболічні шляхи етанолу:

- Алкогольдегідрогеназний метаболічний шлях
- Мікросомальна етанол-окислювальна система

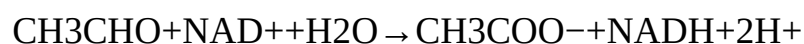
Алкогольдегідрогеназний метаболічний шлях – основний шлях знешкодження метанолу в печінці. Він включає в себе два етапи:

перший етап - Окиснення етанолу до ацетальдегіду. Вигляд реакції -



Під час цього етапу етанол через порталну вену поступає в печінку, де він під впливом ферменту алкогольдегідрогенази перетворюється на ацетальдегід.

Другий етап - Перетворення ацетальдегіду на ацетат. Вигляд реакції -



На цьому етапі ацетальдегід під дією фермента альдегіддегідрогенази окислюється до ацетату. Ацетат поступає у кров і може в подальшому використовуватися клітинами для енергетичних обмінів. Основним фактором ураження печінки у цьому метаболічному шляху є ацетальдегід. Характерними токсичними ефектами цього метаболіту є утворення білкових аддуктів, наслідком яких є пошкодження цитоскелету клітин печінки, пригнічення ферментів, підвищення імуногенності білків. Також ацетальдегід уражає мітохондрії, ліпідні мембрани та ДНК [5].

Мікросомальна етанол-окислювальна система – ще один шлях метаболізму етанолу в організмі людини. Включається при хронічному споживанні алкоголю. Також складається з двох етапів - окиснення етанолу до ацетальдегіду та перетворення ацетальдегіду на ацетат. Відмінністю є заміна фермента алкогольдегідрогенази на Цитохром P450 2E1 та утворенням реактивних форм кисню.

Ураження печінки етанолом в організмі людини відбувається поступово і протікає у декілька стадій - алкогольний стеатоз, алкогольний гепатит та алкогольний цироз печінки. Кожна стадія має свою клінічну картину та залежить від ступеня ураження залози.

Першим етапом розвитку алкогольного ураження печінки є **алкогольний стеатоз**, або його ще жирова дистрофія печінки. Захворювання виражається переминою окисно-відновної системи що призводить до стимуляції синтезу вільних жирних кислот та розвитку гіпоглікемії. В цитоплазмі клітин печінки вільні жирні кислоти піддаються естерифікації перетворюючись на тригліцериди. Останні в свою чергу накопичуються в гепатоцитах у вигляді капелек жиру. Також окиснення етанолу спричиняє утворення вільних кисневих радикалів які здатні руйнувати внутрішні структури клітини. Клініка захворювання найчастіше проходить безсимптомно, проте можливі:

- Втома, загальна слабкість
- Біль у правому підребер'ї
- Відчуття важкості
- Незначне підвищення АЛТ та АСТ.

Більш вираженої стадією алкогольного ураження печінки є **алкогольний гепатит**. Етіологія даного захворювання такаж як і у алкогольного стеатозу. Клініка проявляється загальною слабкістю, втомою, відмовою від їжі, втратою маси тіла. При огляді можна діагностувати

жовтяницю — шкіра та склери очей забарвлюються у жовтий колір. Можливе збільшення розмірів печінки при пальпації. У лабораторних дослідженнях спостерігається значне підвищення рівня білірубіну, часто співвідношення АСТ/АЛТ > 2.

Кінцевою стадією алкогольного ураження є цироз печінки. Характеризується незворотнім ураженням клітин печінки та розвитком фіброзу. Захворювання протікає у 4 стадії:

- Перша стадія – Компенсований цироз. Це рання стадія захворювання коли клітини печінки ще можуть виконувати свою функцію. Клінічна картина слабо виражена, та проявляється загальними симптомами – нудота, важкість, загальна слабкість та втома.
- Друга стадія - Субкомпенсований цироз. Через значне пошкодження гепатоцитів, здорові клітини не здатні повністю компенсувати їх роботу. На цій стадії проявляються такі симптоми – жовтяниця, набряки, розлади травної системи. Можливий розвиток портальної гіпертензії.
- Третя стадія – Декомпенсований цироз. Клітини печінки майже не здатні виконувати свої функції, на фоні чого виникає асцит, внутрішні кровотечі, ураження центральної нервової системи через накопичення токсин в організмі. Пацієнт потребує трансплантації печінки, без чого погроз несприятливий.
- Четверта стадія – Термінальна. Печінка не здатна виконувати свої функції, настає кома, пошкодження багатьох систем органів. Летальні наслідки [2].

1.4. Лабораторні маркери ушкоджень печінки різної етіології

Одними з важливих способів діагностики уражень печінки виступають лабораторні маркери, за допомогою яких можна оцінити характеристику пошкодження печінки, причину розвитку захворювання, стадію та інші.

Макрери ушкодження печінки можна умовно розділити на ферментативні, макери білкового обміну, білірубінового обміну та запалення макери запалення.

Ферментативні меркери. До цих досліджень можна віднести:

- **Аспартатамінотрансфераза** — цитозольний фермент, який у різній кількості присутній у різних клітинах організму людини. Найбільше у міокарді та гепатоцитах. У нормі вміст ферменту у крові є незначним, а його підвищення сигналізує про пошкодження клітин печінки та серцевого м'яза [1].
- **Аланінамінотрансфераза** — також є цитозольним ферментом, але на відмінну від аспартатамінотрансферази найбільша кількість міститься лише у клітинах печінки. Саме тому є більш специфічним маркером ушкодження саме гепатоцитів [1].
- **Гамма-глутамілтрансфераза (ГГТ)** — відіграє ключову роль в метаболізмі глутатіону а також бере участь в знешкодженні токсичних речовин. Найбільше міститься в клітинах печінки та жовчних протоках. Підвищення даного фермента може вказувати на застій жовчі внаслідок жовчнокам'яної хвороби і обструкції жовчних проток. Також рівень гамма-глутамілтрансферази підвищується при токсичному навантаженні печінки.

Білковий обмін:

- **Альбумін** — головний білок плазми крові. Відіграє важливу роль у підтриманні осмотичного тиску, тим самим зберігаючи об'єм крові та життєздатність клітинних компонентів. Також альбумін є переносником поживних речовин та регулятор кислотно-лужного балансу. Основним органом синтезу цього білка є печінка, тому відхилення рівня альбуміну в крові є сигналізатором порушення функцій печінки, розвитку гепатитів, цирозу [5].

- Протромбіновий час — проміжок часу за який кров згортається після додавання реагенту. Залежить протромбіновий час від факторів згортання крові які в більшості синтезуються в печінці. Захворювання печінки такі як гепатити, цироз, печінкова недостатність та інші знижують синтез факторів згортання крові.

Білірубіновий обмін

- Білірубін — жовтий пігмент, що утворюється при руйнуванні гемоглобіну в еритроцитах. Існують дві форми даного пігменту — прямий і кон'югований білірубін. При зниженні функцій печінки внаслідок різних захворювань рівень білірубіно в крові підвищується що призводить до такого захворювання як «жовтяниця». Також дане захворювання виникає при закупорці жовчних шляхів.

РОЗДІЛ II МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

2.1. Об'єкти та методи дослідження

Для роботи було проаналізовано результати лабораторних досліджень чоловіків і жінок віком від 18 до 55 років в яких було діагностовано вірусний гепатит або алкогольне ураже печінки. З анамнезу відомо що у пацієнтів спостерігались такі симптоми: підвищена температура тіла, важкість, нудота, втрата апетиту, головний біль та інші. У деяких спостерігалось забарвлення шкіри та склер у жовтий колір.

З історії хвороби відомо що пацієнтам було проведено такі біохімічні дослідження у різні періоди перебігу захворювань:

- визначення вмісту аланінамінотрансферази в сироватці крові,
- визначення вмісту аспартатамінотрансферази в сироватці крові,
- визначення вмісту білірубіну в сироватці крові.

Підготовка пацієнта та забір крові для біохімічних досліджень

Для отримання якісних результатів лабораторних досліджень перед забором крові людина має дотримуватися певних правил підготовки, а саме:

- за 10 — 12 годин до забору крові забороняється вживати будь яку їжу на напої, дозволяється лише звичайна вода,
- вживання алкоголю та паління забороняється за 24 години до забору крові,
- за 24 години до дослідження слід мінімізувати фізичне навантаження,
- за згодою лікуючого лікаря обмежується прийом лікарських засобів перед дослідженням.

Забір крові найкраще проводити вакуумними системами. Вакутайнер складається з таких компонентів:

- двохстороння голка, одна частина якої вводиться у вену, інша проколє кришечку пробірки,
- адаптер, який слугує каркасом, на який закручується голка
- герметична вакуумна пробірка.

Вакумні пробірки системи вакутайнер розрізняється за призначенням та вмістом. Розрізняють їх за кольором кришечки. Для біохімічних досліджень потрібно використовувати пробірки з червоними кришечками.

ПРОЦЕДУРА ЗАБОРУ КРОВІ:

1. Перед проведенням процедури здійснюється гігієнічна обробка рук. Руки ретельно очищаються з використанням миючих засобів, або здійснюється обробка рук антисептиком.
2. З голки зняти захисний ковпачок та вставити її у адаптер
3. На руку пацієнта накласти джгут на 7 — 10 см вище венопункції
4. Обробити місце венопункції спиртом або антисептиком
5. Ввести голку у вену, переконатися що у прозорому індикаторі з'явилася кров, після чого можна послабити джгут
6. Під'єднати пробіру до голки, дочекатися заповнення пробірки кров'ю
7. Витягнути голку з вени, на місце проколу накласти пластир.

Після процедури пробірку з кров'ю маркують та залишають на 30 — 60 хвилин у вертикальному положенні. За цей при кімнатній температурі кров згортається утворюючи згусток. Після цього пробірки центрифугують для відокремлення сироватки крові.

Принцип методу фотоколориметрії

Біохімічні дослідження здійснювались на напівавтоматичному аналізаторі Urit-880, який працює за методом фотоколориметрії [13]. Метод дозволяє кількісно визначати концентрації речовини, через ступінь поглинання світлової хвилі певної довжини та базується на законі *Бугера–Ламберта–Бера* [11]:

$$-\log(I/I_0) = \varepsilon \cdot c \cdot l$$

де:

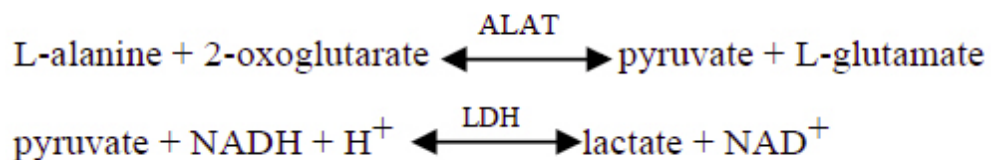
- I_0 – початкова інтенсивність світла,
- I – інтенсивність світла після проходження через розчин,

- ϵ – молярний коефіцієнт поглинання,
- c – концентрація речовини в розчині,
- l – довжина шляху світла через розчин (довжина кювети).

При проходженні монохроматичної світлової хвилі через певну речовину зконцентрацією c та довжиною оптичного шляху l деякі частина фотонів поглинається і відповідно інтенсивність світла знижується. Аналізатор вимірює інтенсивність світла до та після кювети, а потім здійснює математичні розрахунки та визначає концентрацію речовини c [12].

Визначення рівня АЛТ в сироватці крові

Принцип методу ґрунтується на хімічній реакції аланіну з 2-оксоглутаратом в присутності каталізатора аланінамінотрансферази в результаті чого утворюється піруват та глутамат. За наявності лактодегідрогенази у розчині піруват реагує з NADH і перетворюється в лактат, NADH до NAD⁺. Так як NADH здатен до поглинання світла на довжині хвилі 340 нм, а NAD⁺ ні, оптична щільність розчину падає [5].



Хід

визначення

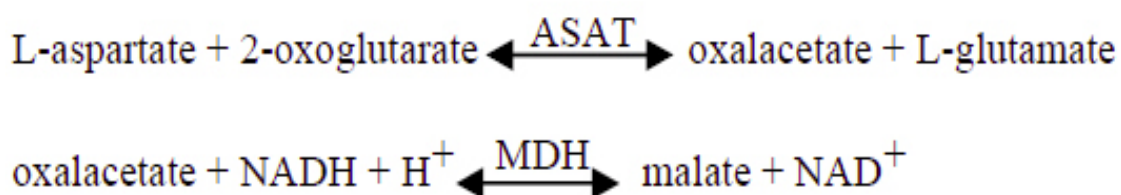
Для аналізу були використані реактиви виробника Cormay. Набір містить два реагенти:

- Реагент №1. Містить L-аланін, Тріс (рН 74), LDH, стабілізатори та консерванти
 - Реагент №2. Містить 2-оксоглутарат, NADH, буфер та консерванти.
1. Реагент №1 у кількості 1000 μl додаємо до проби та нагріваємо в інкубаторі до температури 37 градусів.

2. До проби з реагентом №1 додаємо сироватку 100 μl , добре перемішуємо та інкубуємо протягом 5 хв
3. Після інкубації додаємо реагент №2 у кількості 250 μl та добре перемішуємо.
4. Вимірюємо оптичну щільність на біохімічному аналізаторі через 1, 2 і 3 хвилини. [8]

Визначення рівня АСТ в сироватці крові

Принцип методу ґрунтується на хімічній реакції L-аспартату з 2-оксоглутаратом в присутності каталізатора аспартатамінотрансферази в результаті чого утворюється оксалоацетат та глутамат. Оксалоацетат взаємодіє з малатдегідрогеназою NADH, утворюючи малат та перетворюючи NADH в NAD⁺. Зменшення концентрації NADH призводить до зміни оптичної щільності проби.



Хід визначення

Для аналізу були використані реактиви виробника Cormay. Набір містить два реагенти, перший містить L-аспартат, а другий 2-оксоглутарат та NADH.

1. Готуємо робочий реактив. Для його приготування потрібно змішати реактив №1 і реактив №2 і співвідношення 4 : 1.
2. Робочий реактив у кількості 1000 μl у термостаті підігріваємо до температури 37 градусів.
3. Додаємо сироватку у кількості 100 μl до робочого реактиву та ретельно перемішати.
4. Продовжувати інкубувати протягом однієї хвилини.
5. Вимірюємо оптичну щільність на біохімічному аналізаторі через 1, 2 і 3 хвилини. [9]

Визначення рівня загального білірубіну в сироватці крові

Розрізняють дві фракції цього пігменту – вільний і зв'язаний. Загальний білірубін це сума двох фракцій. Метод ґрунтується на окисленні білірубину метаванадатом натрію у кислому середовищі (2.8 рН) до білівердину. Білівердин фарбує розчин у зелений колір і інтенсивність забарвлення вимірюється фотометричним методом.

Хід визначення

1. Реагент №1 1000 μl у термостаті доводять до температури 37 градусів.
2. Додають сироватку крові 100 μl та обережно перемішують і інкубують 2 хв.
3. Додаємо реагент №2 200 μl , перемішуємо та знову інкубуємо 10 хв.
4. Вимірюємо оптичну густину.[10]

Статистична обробка результатів

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програми Microsoft Excel, використовуючи t-критерій Стьюдента. Вірогідними вважали результати, якщо $p \leq 0,05$.

РОЗДІЛ III. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Вірусний гепатит та алкогольне ураження печінки є одними з поширених захворювань печінки. Патогенез у кожного захворювання різний. При вірусному гепатиті патоген проникає всередину гепатоцитів, що стимулює імунну відповідь організму [17]. При алкогільній хворобі печінки ураження гепатоцитів відбувається під дією токсичних метаболітів. Під час руйнування клітин печінки в міжклітинний простір, а з нього і у кров, потрапляє їх вміст, в тому числі і цитозольні ферменти аланінамінотрансфераза та аспартатамінотрансфераза.

Аналіз історії хвороб пацієнтів з вірусним гепатитом та алкогольним ураженням печінки показав, що у всіх пацієнтів, незалежно від етіології захворювання, спостерігається значне підвищення аланінамінотрансферазної активності (рис. 1). Водночас активність АЛТ при вірусному гепатиті перевищує норму у 16 разів, а при алкогольному ураженні печінки – лише у декілька разів.

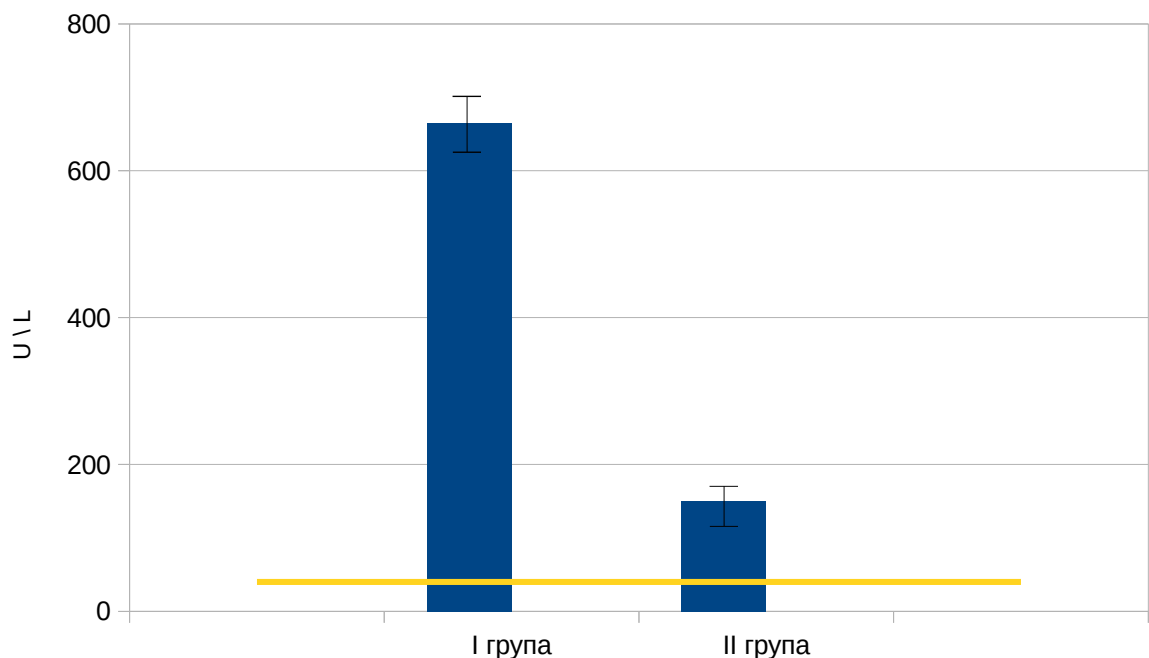


Рис. 1. Аланінамінотрансферазна активність у сироватці крові пацієнтів з вірусним та алкогольним гепатитом

I група – пацієнти з вірусним гепатитом В

II група – пацієнти з алкогольним ураженням печінки

Аланінамінотрансфераза – цитозольний фермент, належить до класу трансфераз. Відіграє важливу роль в обміні амінокислот, зокрема каталізі реакції перенесення аміногрупи з аланіну на альфа-кетоглутарову кислоту, що призводить до утворення глутамату та пірувату [1]. В найбільшій кількості даний фермент зосереджений в клітинах печінки, що робить його одним з основних маркерів функціонального стану цього органу. В меншій кількості даний фермент локалізується в клітинах серцевого м'яза, в нирках та скелетних м'язах [5]. Оскільки аланінамінотрансфераза переважно локалізована у цитозолі клітин, то в нормі її кількість в крові людини незначна, а підвищення говорить про ураження клітин печінки. Механізм ураження гепатоцитів при вірусному гепатиті наступний [22]:

- Вірус, долаючи захисний бар'єр, потрапляє у кров'яне русло організму,
- з крові вірус проникає в клітини печінки та починає реплікуватися, що викликає відповідь імунної системи,
- імунні клітини розпізнають уражені вірусом гепатоцити та руйнують їх.

При алкогольному ураженні печінки клітини руйнуються під впливом ацетальдегіду та вільних радикалів. При руйнуванні клітин печінки в обох випадках їх вміст (в тому числі і ферменти) потрапляють у міжклітинний простір, а звідти і у кров.

Аналізуючи результати біохімічних досліджень пацієнтів з вірусним гепатитом та алкогольним ураженням печінки, встановлено, що активність аспартатамінотрансферази в обох випадках підвищена. Проте рівень активності ферменту в сироватці крові при алкогольному ураженні печінки у два рази нижчий, ніж рівень активності фермента при вірусному гепатиті (рис. 2).

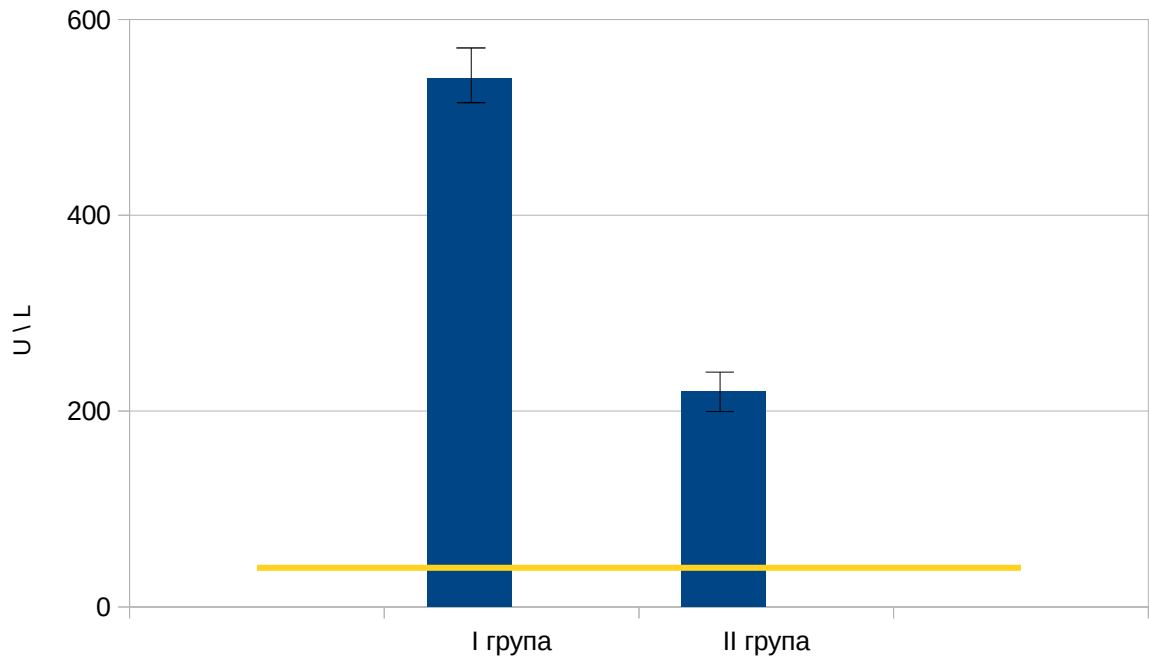


Рис. 2. Аспартатамінотрансферазна активність в сироватці крові пацієнтів з вірусним та алкогольним гепатитом

Аспартатамінотрансфераза – це цитозольний фермент, що бере участь у реакціях перенесення аміногрупи між аспартатом та альфа-кетоглутаратом. На відміну від аланінамінотрансферази, менш поширений в клітинах печінки, а найбільша кількість виявляється в серцевому м'язі [5].

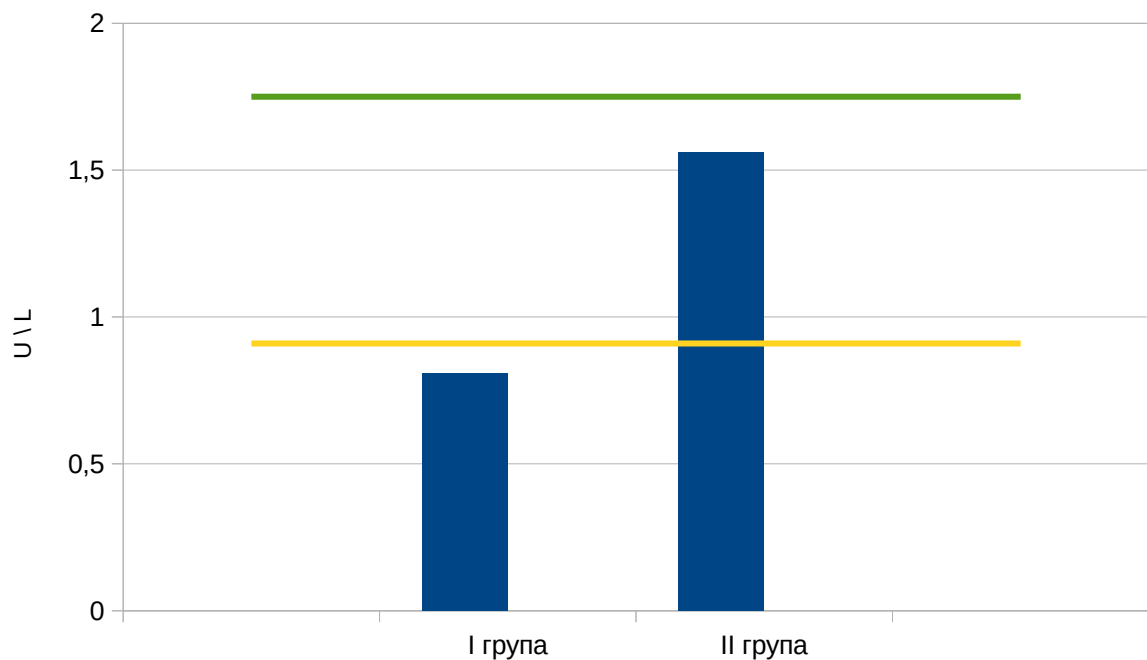


Рис. 3. Коефіцієнт де Рітиса у пацієнтів з вірусним гепатитом В та алкогольним ураженням печінки

В ході дослідження нами було розраховано коефіцієнт де Рітіса для групи пацієнтів з вірусним гепатитом на алкогольним ураженням печінки (рис. 3). Коефіцієнт де Рітіса – показник, який використовується в медицині для диференціації причин ушкодження печінки та її стану [4]. Розраховується цей показник як відношення активності аспартатамінотрансферази в сироватці крові до активності аланінамінотрансферази. В нормі цей показник варіюється в межах від 0.91 до 1.75. Розрахунки показали, що у людей з вірусним ураженням коефіцієнт де Рітіса складає 0.81, а при алкогольному ураженні 1.47. Тобто, у пацієнтів з вірусним гепатитом цей показник нижче за норму. Зниження коефіцієнта де Рітіса свідчить про гибель клітин печінки, під час якої руйнується клітинна мембрана та вміст клітин і АЛТ потрапляє у кров. При алкогольному ураженні клітин печінки токсини діють на мітохондрії клітин і також дія етанолу пригнічує синтез АЛТ, тому навіть при гибелі клітин рівень АЛТ зростає не так виражено, як при вірусних гепатитах.

Також нами було розглянуто показники вмісту загального білірубіну в обох групах пацієнтів (рис. 4). Як видно з даних діаграми, у пацієнтів з вірусним гепатитом та алкогольним ураженням печінки вміст загального білірубіну в сироватці крові перевищує норму. Зокрема, у пацієнтів I групи показник перевищує норму в 4 рази, а у пацієнтів II групи – у 3 рази.

Білірубін – жовтий пігмент організму людини, який складається з двох фракцій – кон'югованого (зв'язаного) та некон'югованого (вільного). Некон'югований білірубін утворюється з белівердину, який у свою чергу є продуктом розпаду еритроцитів. Дана фракція є токсичною для нашого організму та не може самостійно виводитися. Саме тому вільний білірубін поглинається клітинами печінки, де зв'язується з глюкуроновою кислотою, утворюючи кон'юговану фракцію білірубіну. Загальний білірубін складається з фракції вільного та зв'язаного білірубіну [14]. При порушенні функцій печінки, її здатність до кон'югації білірубіну знижується, внаслідок чого збільшується кількість загального білірубіну, що і показано на діаграмі.

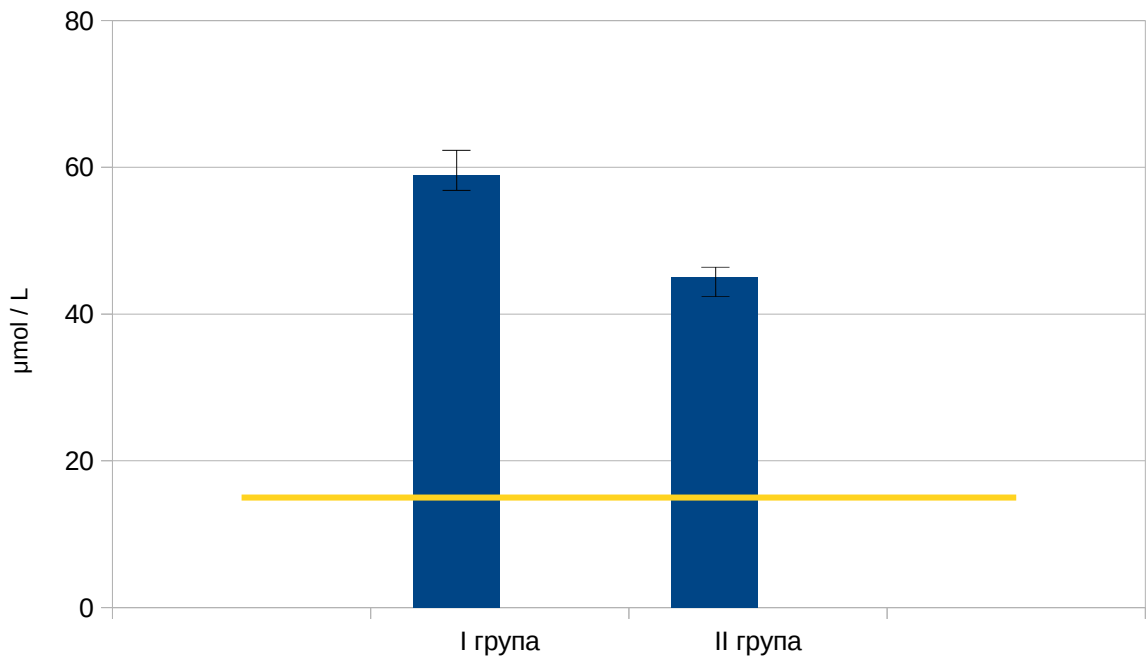


Рис. 4. Вміст загального білірубину в сироватці крові пацієнтів з вірусним та алкогольним гепатитом

Підтвердження діагнозу вірусний гепатит було здійснено шляхом трикратного проведення експрес діагностики за допомогою швидкісних тестів. Це дало підстави для остаточної постановки діагнозу [19].

У випадку підозри на алкогольне ураження печінки постановка діагнозу ґрунтувалася на комплексній оцінці клінічних даних, зокрема, анамнезу життя на захворювань пацієнта, результатів ультразвукової діагностики та лабораторних показників функціонального стану печінки.

ВИСНОВКИ

1. Встановлено, що активність аланінамінотрансферази та аспартатамінотрансферази у сироватці крові пацієнтів, незалежно від етіології захворювання печінки, значно перевищує показники норми. При цьому максимально виражені значення активності амінотрансфераз характерні для пацієнтів з вірусним гепатитом.

2. Показано, що для пацієнтів з вірусним гепатитом характерне зниження коефіцієнту де Рітиса, тоді як у пацієнтів з алкогольним ураженням печінки цей показник зберігається в межах норми. Це вказує на виражений некроз клітин печінки та руйнування мітохондрій у пацієнтів з вірусним гепатитом.

3. Встановлено, що для всіх пацієнтів з ураженням печінки характерне підвищення вмісту загального білірубіну, що свідчить про порушення виведення білірубіну з організму.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУР

1. Біохімія печінки: навчальний посібник / упоряд. Л. М. Ростока, А. Д. Сіткар, Г. Е. Рейті, В. В. Бернада. Ужгород: Ужгородський нац. Ун-т, 2022. 59 с.
2. Цирози печінки: методичні вказівки для самостійної роботи студентів / уклад. Л. В. Журавльова; Харківський національний медичний університет, кафедра внутрішньої медицини №3. Харків, 2016. 29 с.
3. Дичка Л. В., Блага О. С. Хвороби печінки: методичні рекомендації. Ужгород: Ужгородський національний університет, 2021. 30 с.
4. Пількевич Н. Б., Раздайбедін В. М., Боярчук О. Д. Анатомія, фізіологія та біохімія печінки: навчальний посібник. Луганськ: Альма-матер, 2007. 55 с.
5. Основи клінічної біохімії: навчально-методичний посібник / К.В. Александрова, С.А. Біленький, Л.Є. Білоконь та ін. Запоріжжя: Запорізький державний медичний університет, 2011. 288 с.
6. Хронічні гепатити // Compendium.com.ua : електрон. навч. ресурс. Режим доступу: <https://compendium.com.ua/uk/tutorials-uk/vnutrishnya-medicsina/4-rozdil-zakhvoriuvannia-orhaniv-travlennia/4-10-hronichni-gepatiti/>
7. Неміш І.Л. Алкогольна хвороба печінки як міждисциплінарна проблема // Український медичний часопис. 2023. Режим доступу: <https://umj.com.ua/uk/publikatsia-245942-alkogolna-hvoroba-pechinki-yak-mizhdistsiplinarna-problema>
8. Pz Cormay S.A. Liquick Cor-ALAT (II генерація) інструкція для діагностичного набору визначення активності аланін-амінотрансферази (АЛТ). Łomianki, Polska: Pz Cormay S.A., 2020.
9. Pz Cormay S.A. Liquick Cor-AST (II генерація) інструкція для діагностичного набору визначення активності аспаратамінотрансферази (АСТ). Łomianki, Polska: Pz Cormay S.A., 2020.

10. Pz Cormay S.A. Liquick Cor-Bilirubin Total (II генерація) інструкція для діагностичного набору визначення загального білірубину в сироватці крові. Łomianki, Polska: Pz Cormay S.A., 2020.
11. Інструментальні методи аналізу: Навчально-методичний посібник для студентів 2 курсу спеціальності «Фармація» / Змістовий модуль 3. Оптичні методи аналізу. Запоріжжя, 2017. 75 с.
12. Таран В.Г. Конспект лекцій з дисципліни «Оптика» для здобувачів вищої освіти першого (бакалаврського) рівня зі спеціальності 104 «Фізика та астрономія». Кам'янське, 2019. 105 с.
13. URIT Medical Electronic Co., Ltd. Біохімічний аналізатор для ветеринарії URIT-880 Vet / 881 Vet / 882 Vet: Керівництво користувача.
14. Дифренційна діагностика при жовтяницях. Печінкова недостатність: діагностичні критерії, диференційна діагностика та лікування: методичні розробки для студентів V–VI курсу медичного факультету та лікарів-інтернів. Ужгород, 2019. 31 с.
15. Барна О. М., Новицька А. В., Сабадаш В. Є., Погребняк О. О. Печінка в континуумі метаболічного синдрому. *Ліки України*. 2018. № 4(220). С. 40-44.
16. Герасун Б. А Вірусний гепатит В. НВ-вірусна інфекція. Львів : ЛНМУ, 2009. 260 с.
17. Герасун Б.А., Грицко Р.Ю., Ворожбит О.Б., Герасун О.Б. Вірусні гепатити у схемах, таблицях та малюнках. Посібник з проблеми вірусних гепатитів для лікарів-інтернів та слухачів ФПДО. Львів:Ліга-Прес, 2008. 102 с.
18. Гонський Я.І. Максимчук Т.П. Біохімія людини; Тернопіль:Укрмедкнига, 2001. с 699.
19. Малий В.П. Досвід застосування швидких тестів для діагностики вірусних гепатитів В і С. *Лабораторна діагностика*. 2015. № 3 (33). С. 57–58.

20. Львів Д.К. Вірусні гепатити від А до G і далі. *Журнал мікробіології*, 2014. №1. С. 70-77.
21. Паюшіна О.В., Домарацька Є.І., Старостін В.І. Клітинний склад і регуляторні функції стромы зародкової печінки. *Цитологія*. 2012. Т. 54, № 5. С. 369-380.
22. Возіанова Ж.І. Вірусні гепатити. *Лікування та діагностика*. 2017. №2. С. 39-47.

ДОДАТКИ

Охорона праці та безпека в надзвичайних ситуаціях

1. Кожен працівник лабораторії повинен мати робоче місце. В лабораторії робочим місцем є хімічний стіл, який повинен бути покритий кахельною плиткою або кислототривким пластиком.

2. Перед початком роботи слід одягти спецодяг, який зберігається в індивідуальних шафах, окремо від верхнього одягу.

3. В спецодязі забороняється знаходитись за межами лабораторних приміщень (адміністративні, побутові приміщення, тощо).

4. При роботі зі скляними приладами необхідно:

- захищати руки рушником при зборі скляних приладів або з'єднанні окремих частин їх за допомогою каучуку або гуми; при розламуванні скляних трубок притримувати лівою рукою трубку біля надпилу;

- при закриванні колби, пробірки або іншої тонкостінної посудини пробкою, тримати посудину за верхню частину шийки ближче до місця, куди вставляється пробка, захищаючи руку рушником;

- оплавляти і змочувати водою кінці трубок і паличок до одягання каучуку; при плавленні кінців трубок і паличок користуватися тримачами.

5. Скляні пробірки з розчином слід нагрівати поступово, безперервно обертаючи їх, час від часу струшуючи.

6. Нагріваючи посудину не можна закривати притертим корком поки вона не охолоне.

7. Нагріваючи рідину в пробірці або інших посудинах, їх тримають спеціальними утримувачами так, щоб отвір був спрямований від себе і працюючих поруч.

8. При перенесенні посудин із гарячою рідиною користуються рушником, посудину при цьому тримають обома руками: однією за дно, а другою за горловину.

9. Великі хімічні склянки з рідиною піднімають тільки двома руками так, щоб відігнуті краї стакана спиралися на вказівні пальці.

10. Великі (більше 5 кг) сулії з рідиною необхідно переносити вдвох у спеціальних кошиках або ящиках з ручками.

11. При закупорюванні корками посудин із реактивами враховують їх властивості. Гумові корки сильно набухають під дією деяких реактивів (спирт, бензол, ацетон, ефір), а під дією галогенів (бром, йод) втрачають еластичність. Такі реактиви краще закупорювати скляними притертими корками. Луг не можна закупорювати притертою коркою, тому що карбонати, що утворюються між корком і горлом, заклинюють пробку.

12. При переливанні рідин (окрім тих, що містять біологічний матеріал) користуються лійкою.

13. При змішуванні (розведенні) речовин, що супроводжуються виділенням тепла, користуються термостійким хімічним посудом.

14. Нагрівання сильнодіючих отруйних речовин проводять тільки в круглодонних колбах і не на відкритому вогні.

15. При роботі з кислотами та лугами виконують такі заходи безпеки:

- всю роботу з концентрованими кислотами та лугами проводять у витяжній шафі, користуючись при цьому окулярами, гумовими рукавичками та фартухом;

- концентровану кислоту відбирають із посудини тільки за допомогою спеціальної піпетки з грушею або сифоном;

- при приготуванні розчинів кислот, спочатку в посудину наливають необхідну кількість води, а потім обережно додають кислоту. Забороняється додавати воду в кислоту;

- при приготуванні розчинів лугів наважку лугу опускають у велику широкогорлу посудину, заливають необхідною кількістю води і старанно перемішують. Шматки лугу варто брати тільки щипцями. Щоб запобігти розігріванню розчину, при приготуванні розчинів лугів, посуд попередньо поміщають у водяну баню:

- розбивання великих шматків їдкого лугу на дрібні роблять користуючись захисними фартухом і рукавичками, у спеціально відведеному

місці, при цьому розбиті шматки накривають бейтингом або іншим матеріалом;

- концентровані кислоти і луги виливають у раковину після попередньої їх нейтралізації;

- бутлі з кислотами, лугами й іншими їдкими речовинами переносять удвох у спеціальних ящиках (кошиках) або перевозять на спеціальному візку попередньо перевіривши цілісність тари;

- при кип'ятінні кислотних і лужних розчинів не можна щільно закривати посуд пробкою до повного їх охолодження.

- при митті посуду хромовою сумішшю запобігають попаданню її на шкіру, одяг, взуття.

16. При роботі з легкозаймистими речовинами (ефір, бензин, бензол, ацетон, спирт і ін.) дотримуються таких вимог:

- усі роботи проводяться у витяжній шафі при включеній вентиляції, вимкнутих газових пальниках і нагрівальних електроприладах відкритого типу;

- нагрівання легкозаймистих речовин проводять у витяжній шафі на піщаній або водяній бані з закритим електронагрівом;

- зберігати легкозаймисті рідини необхідно у товстостінних склянках у місцях, віддалених від відкритого вогню, в ящиках викладених азбестом з надписом «Вогненебезпечні речовини».

Категорично забороняється:

- доручати проведення робіт із вогненебезпечними речовинами недосвідченому співробітнику;

- під час роботи в приміщенні запалювати сірники, палити, включати прилади, при роботі яких може виникнути іскра;

- виливати в раковину залишки кислот, лугів, легкозаймистих та горючих речовин, викидати туди тверді речовини;

- зберігати в приміщенні лабораторії вогненебезпечні речовини масою більше 1 кг кожної і 3-4 кг загальною масою.

17. Категорично забороняється збереження в лабораторії несправних або розбитих апаратів із ртуттю, несправних газових приладів і систем.

18. З метою безпеки, забороняється працювати одному в приміщенні лабораторії, а також залишати без нагляду працюючі лабораторні пристрої, газові пальники та ввімкнуті електроприлади.

19. Приміщення лабораторії мають бути обладнані спеціальними контейнерами для збору сміття. Утилізація відходів повинна проводитися регулярно у відповідності із спеціальними вимогами.

Після закінчення роботи необхідно:

- привести в порядок робоче місце;
- залишки шкідливих речовин здати на зберігання;
- старанно вимити руки з милом.