

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

**БІОМАРКЕРИ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ПЕЧІНКИ ЗА УМОВ
ПЕРЕБІГУ МЕТАБОЛІЧНО АСОЦІЙОВАНОЇ ХВОРОБИ ПЕЧІНКИ**

Дипломна робота
Рівень вищої освіти – другий (магістерський)

Виконала:

студентка VI курсу, групи 611-М
спеціальності 091-біологія та біохімія
освітня програма – Біохімія та
лабораторна діагностика

Данилюк Надія Федорівна

Керівник: к.б.н., асист., І. М. Николайчук

До захисту допущено:

Протокол засідання кафедри № _____

від «__» _____ 2025 р.

зав. кафедри _____ доц. Волощук О.М.

Чернівці – 2025

Анотація

Кваліфікаційна магістерська робота присвячена дослідженню та аналізу основних біохімічних показників крові хворих на жирові хвороби печінки чоловіків та жінок. Серед взятих до аналізу біомаркерів були: АЛТ, АСТ, вміст білірубінів, рівень глюкози в крові та рівень холестерину. Загалом, у хворих були виявлені підвищення основних біохімічних показників крові, які є «маркерними». Зокрема, було виявлено підвищення вмісту білірубінів та рівнів АЛТ та АСТ, що є важливими індикаторами пошкодження гепатоцитів. Поряд з цим, у хворих спостерігались підвищення рівнів вмісту глюкози та холестерину, що вказує на розвиток інсулінорезистентності та порушення як вуглеводного так і ліпідного обміну.

Ключові слова: жирові хвороби печінки, білірубіни, АЛТ, АСТ, МАФЛД

Abstract

The qualification master's thesis is devoted to the investigation and analysis of the main biochemical blood parameters in male and female patients with fatty liver disease. The biomarkers included in the analysis were ALT, AST, total bilirubins, blood glucose level, and cholesterol level. Overall, the patients demonstrated elevated key biochemical blood indicators that are considered "marker" parameters of this pathology. In particular, increased bilirubin content and elevated ALT and AST levels were identified, which are important indicators of hepatocyte damage. Additionally, the patients exhibited increased glucose and cholesterol levels, indicating the development of insulin resistance and disturbances in both carbohydrate and lipid metabolism.

Keywords: fatty liver disease, bilirubins, ALT, AST, MAFLD

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

ЗМІСТ

ВСТУП.....	4
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	6
1.1. Загальні відомості про жирову хворобу печінки (ЖХП)....	6
1.2. Загальна характеристика біохімічних показників крові...	9
1.3. Лабораторні методи аналізу біохімічних показників крові	14
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ.....	20
2.1. Матеріали та об'єкти дослідження.....	20
2.2. Методики, які використовувались у дослідженні.....	21
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ.....	25
ВИСНОВКИ.....	34
СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ.....	35
ДОДАТКИ.....	39

ВСТУП

На сьогоднішній день жирові хвороби печінки займають не останнє місце серед патологій гепатобіліарної системи та становлять серйозну медико-соціальну проблему. Протягом останніх десятиліть поширюваність даних хвороб постійно зростає, що в першу чергу пов'язано зі зміною способу життя багатьох людей, збільшенням частоти розвитку ожиріння, метаболічного синдрому, цукрового діабету. Окрім того суттєвий вплив здійснюється завдяки зростанню вживання алкоголю.

Не дивлячись на тривалий безсимптомний характер протікання такого типу хвороби печінки, жирові ураження здатні розвиватись до фіброзу печінки, цирозу та навіть гепатоцелюлярної карциноми. Наукова література останніх років значну увагу приділяє патогенетичним механізмам розвитку жирових хвороб печінки, однак багато аспектів щодо діагностики та визначення ризиків на ранніх етапах все ще залишаються дискусійними. Тож актуальним постає завдання дослідження сучасних можливих ефективних систем ранньої діагностики, які б дозволили вирішити існуючі питання в межах встановлення та лікування жирових хвороб печінки.

Досягнення мети, яка витікає із завдання, в першу чергу полягає у дослідженні та вдосконаленні діагностичних методів аналізу, залученні більшої кількості біомаркерів, здатних своєчасно надати інформацію про перебіг хвороби. Крім того, ґрунтовний аналіз змін окремих показників у пацієнтів із жировою хворобою печінки сприятиме поглибленню загального розуміння перебігу цього захворювання, що надалі стане основою для створення ефективних підходів до його профілактики та лікування..

З огляду на існуючу проблематику та невирішені питання **метою** даної магістерської роботи було проаналізувати біохімічні показники крові хворих на жирові хвороби печінки чоловіків та жінок різних вікових груп, історії хвороб яких було взято для аналізу. Для досягнення цієї мети були сформульовані наступні **завдання**:

1. зібрати достатню кількість історій хвороб пацієнтів яким було клінічно встановлено діагноз жирової хвороби печінки.
2. дослідити показники біохімічного аналізу крові, та відібрати до аналізу ті показники, які вважаються маркерними.
3. виявити характерні особливості досліджуваних показників хворих, зафіксувати відхилення від меж норм.
4. описати виявлені особливості досліджуваних показників крові та зробити висновки щодо отриманих результатів.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Загальні відомості про жирову хворобу печінки (ЖХП)

Різноманітні хвороби печінки являються не останніми причинами смертності по всьому світу, оскільки вона є одним із найважливіших органів внутрішньої секреції людини [1]. Від її коректної функціональності залежить те, яким чином будуть відбуватись процеси нейтралізації токсинів, синтезу білків, ліпідів, вуглеводів, регуляції рівнів холестеролу та інших регуляторних речовин. Це робить печінку практично центральним органом регуляції метаболізму в організмі людини, який забезпечує ефективну регуляцію численних біохімічних процесів. Окрім того, печінка регулює рівень глюкози в крові шляхом глікогенезу та глікогенолізу, а також забезпечує синтез і деградацію ліпопротеїнів, необхідних для транспорту жирів. Важливим також є її детоксикаційний потенціал: печінкові ферменти нейтралізують як ендогенні продукти метаболізму, так і ксенобіотики, що надходять ззовні [13].

Окрім вищезгаданих метаболічних і детоксикаційних функцій, печінка відіграє надважливу роль у синтетичних процесах [18, 25]. Безпосередньо у печінці відбувається продукція більшості білків плазми крові, включно з альбуміном і факторами коагуляції, що є критично необхідним для підтримання гемостазу. Також печінка синтезує жовч, необхідну для емульгації та подальшого всмоктування ліпідів у кишечнику. Цілком очевидно, що будь-які патологічні процеси в печінці здатні викликати каскад незворотних змін, які в свою чергу можуть призвести навіть до летальних наслідків.

Жирова хвороба печінки – досить широкий спектр захворювань та патологічних станів печінки, основною характеристикою яких є надмірне накопичення ліпідів у гепатоцитах. Такий патологічний стан прийнято також називати стеатозом. Гістологічна межа, яка зазвичай використовується для встановлення стеатозу печінки – присутність жирових/ліпідних включень щонайменше в ~5 % гепатоцитів або ≥ 5 % загальної маси печінки (рис. 1). Ця

ознака відрізняє патологічний стан (тобто власне стеатоз) від фізіологічної норми наявності невеликої кількості жиру в печінці.

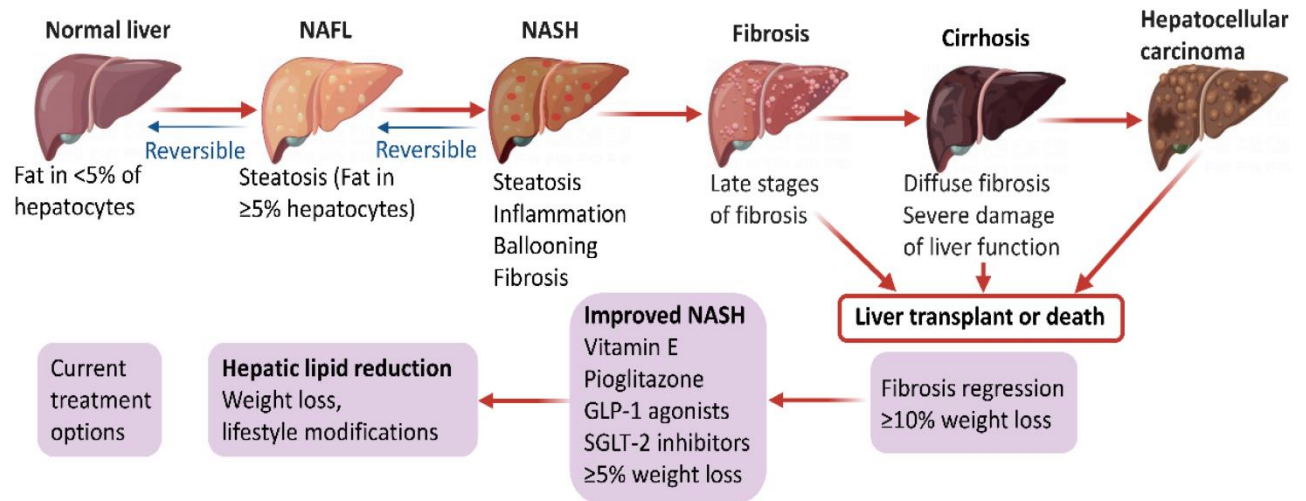


Рисунок 1. Спектр та розвиток жирової хвороби печінки [15].

Епідеміологічно жирова хвороба печінки в наш час вважається однією з найрозповсюдженіших форм хронічних захворювань печінки у світі, поширеність якої в популяції становить десятки відсотків і зростає паралельно із глобальними епідеміями ожиріння та цукрового діабету 2-го типу [4]. До основних факторів ризику відносять абдомінальне ожиріння, інсулінорезистентність, дисліпідемію, артеріальну гіпертензію, порушення обміну глюкози та деякі медикаменти; у частини хворих роль вікових, етнічних та генетичних факторів, що суттєво підвищує вразливість до прогресування хвороби.

Біохімічно, накопичення жирових включень в цитоплазмі гепатоцитів відбувається тоді, коли швидкість утворення в печінці тригліцеридів значно перевищує швидкість їх утилізації, тобто ліполіз тригліцеридів та окислення жирних кислот, включення тригліцеридів у пре- β -ліпопротеїди та їх секреція у кров'яне русло [20]. Розповсюдженим порушенням жирового обміну із надлишковим розповсюдженням жиру та накопиченням їх у тканинах також є кетоз. Цей стан являє собою підвищене утворення кетонових тіл у результаті порушеного метаболізму та накопичення їх у тканинах у разі

декомпенсації цукрового діабету II типу [24]. Таким чином, стеатоз печінки відображає дисбаланс між «захопленням» та синтезом жирних кислот печінкою, їх окисленням та виведенням. Центральною ланкою в патогенезі стеатозу печінки є інсулінорезистентність, що призводить до ліполізу, який в свою чергу сприяє підвищенню рівня циркулюючих вільних жирних кислот, які захоплюються печінкою в якості джерела енергії. Відповідно, жирні кислоти «перевантажують» систему β -окислення в мітохондріях гепатоцитів, призводячи до надмірного їх накопичення у печінці.

Клінічно ЖХП часто може протікати безсимптомно або проявлятися неспецифічною втомою і ниючим болем у правому підребер'ї, особливо якщо мова йде про ранні етапи цієї хвороби. Досить часто ЖХП випадково виявляють під час лабораторних обстежень або УЗД. Проте у загальному виділяють наступні клінічні симптоми:

- тяжкість/дискомфорт у зв'язку зі збільшенням розмірів печінки
- загальна слабкість, швидка втомлюваність
- зниження апетиту, нудота, здуття живота
- порушення концентрації уваги, дратівливість (у зв'язку із впливом на обмін речовин)
- збільшення маси тіла, особливо в ділянці живота (часто поєднується з метаболічним синдромом)
- на більш пізніх стадіях – жовтяниця, свербіж шкіри, набряки, потемніння сечі, що свідчить про перехід у запалення (стеатогепатит), фіброз чи цироз

Ймовірність безсимптомного протікання хвороби на ранніх етапах свідчить про важливість клініко-лабораторних та інструментальних методів дослідження, що дають змогу коректно оцінити морфофункціональний стан печінки. Поєднання клініко-лабораторних та інструментальних методів дає змогу отримати фактично повну картину стану печінки: від функціональної активності до її морфологічних змін. Однак сучасні тенденції в дослідженнях все більше спрямовуються на розвиток неінвазивних технологій

(еластографія, МРТ, біомаркери) з ціллю мінімізувати потреби в біопсії та підвищити точність ранньої діагностики.

1.2 . Загальна характеристика біохімічних показників крові

У сучасній медичній практиці біохімічний аналіз крові виступає важливим джерелом відомостей про стан та зміни метаболічних процесів в організмі людини. Цей метод дає змогу оцінити функціональну активність основних органів і систем – печінки, нирок, підшлункової залози, серцево-судинної та ендокринної систем. Завдяки визначенню концентрації різних біохімічних показників (білків, ферментів, ліпідів, вуглеводів, електролітів тощо) лікар може своєчасно виявити патологічні відхилення, встановити характер метаболічних порушень і контролювати ефективність проведеного лікування. Таким чином, біохімічне дослідження крові є невід’ємною складовою діагностичного процесу, що поєднує наукову об’єктивність із високою клінічною інформативністю [9].

Однак, за винятком деяких окремих показників – зокрема концентрації глюкози та кальцію, які виконують важливу регуляторну функцію в підтримці гомеостазу та беруть участь у ключових метаболічних процесах – більшість біохімічних параметрів крові характеризується значною фізіологічною варіабельністю. Межі їх нормальних коливань можуть суттєво змінюватися під впливом віку, статі, добових ритмів, харчування, фізичної активності, а також функціонального стану організму. Така мінливість ускладнює інтерпретацію отриманих результатів і зменшує специфічність окремих показників для діагностики конкретних патологічних станів. Тому в клінічній практиці оцінка біохімічних показників крові повинна здійснюватися у комплексі з іншими лабораторними та інструментальними методами дослідження, що дозволяє підвищити точність діагнозу та достовірність клінічних висновків.

Більш інформативним як з теоретичної, так і з клінічної точки зору, є визначення/встановлення певних **співвідношень між окремими біохімічними показниками**, оскільки саме вони дають змогу глибше оцінити взаємозв'язки між різними ланками метаболізму. Такі інтегральні показники дозволяють не лише оцінити абсолютні зміни концентрацій метаболітів чи ферментів, але й зрозуміти характер їхньої взаємодії в умовах норми та патології. Встановлення подібних співвідношень відкриває можливість глибше дослідити динамічні зв'язки між різними метаболічними процесами, виявити приховані механізми порушень обміну речовин і, відповідно, точніше інтерпретувати клінічні прояви, прогнозувати перебіг захворювання та обирати оптимальну терапевтичну тактику.

Аналіз таких співвідношень (наприклад, альбумін/глобулін, АСТ/АЛТ, холестерин/тригліцериди тощо) дає змогу виявляти не лише характер метаболічних порушень, а й допомагає фіксувати ранні зміни у функціонуванні окремих органів та систем. Ці індекси часто виявляються більш чутливими діагностично, ніж окремі абсолютні значення показників, оскільки відображають інтегральний стан певних патологічних процесів [23].

До найбільш відомих і клінічно значущих співвідношень між біохімічними показниками належать:

- *Коефіцієнт де Ріміса (АСТ/АЛТ)* – співвідношення активності аспартатамінотрансферази (АСТ) до аланінамінотрансферази (АЛТ), яке використовується в основному для оцінки стану печінки та серцевих м'язів. Значення коефіцієнта менше ніж 1,0 зазвичай свідчить про ураження печінки (наприклад, при гострому гепатиті), тоді як показник понад 1,3 може вказувати на ураження міокарда або алкогольне пошкодження печінки [16]. У нормі рівні АСТ та АЛТ можуть змінюватись залежно від клітинного та органного пошкодження. Наприклад, АСТ значною мірою локалізована в мітохондріях, тоді як АЛТ переважно цитозольна [10].

- *Співвідношення альбумін/глобулін (А/Г)* – це співвідношення відображає баланс між основними білковими фракціями плазми крові. Альбумін - білок плазми крові, відповідає за онкотичний тиск, транспорт речовин, має антиоксидантні властивості. Глобуліни являють собою гетерогенну групу, основою яких є імуноглобуліни, гострофазні білки [3]. Зниження коефіцієнта спостерігається при хронічних запальних процесах, захворюваннях печінки, нефротичному синдромі, а також при імунопатологічних станах. Нормальне значення становить приблизно 1,2-2,0.
- *Співвідношення холестерин/тригліцериди* – використовується для діагностичної оцінки ліпідного обміну та шансів розвитку атеросклерозу. Підвищене співвідношення вказує на дисліпідемію, пов'язану з переважанням холестерину, тоді як зниження може свідчити про порушення синтезу ліпідів у печінці або ендокринні розлади. Окрім того, є дослідження, які демонструють, що високе значення саме цього співвідношення може свідчити про розвиток серцево-судинних захворювань [7]. Попри зручність та інформативність цього маркера, досі існують дискусії на рахунок норматичних значень [8].
- *Співвідношення вмісту кальцію/фосфору* – має важливе діагностичне значення при оцінці стану мінерального обміну, кісткової системи та функції паращитовидних залоз. «Рух» значень цього співвідношення може спостерігатися при остеопорозі, рахіті, гіпо- чи гіперпаратиреозі. Порівняно з попередніми прикладами дане співвідношення використовується рідше.
- *Співвідношення сечовина/креатинін* – служить показником функціонального стану нирок і допомагає диференціювати преренальні та ренальні причини азотемії, тобто є «золотим стандартом» в даному контексті. Підвищення цього

співвідношення (саме сечовини до креатиніну) часто свідчить про загальне зневоднення, зниження перфузії або серцеву недостатність, оскільки за таких обставин сечовина реабсорбується значно сильніше. Зниження – про ураження ниркової паренхіми, порушення нормального метаболізму азотистих сполук.

Основними перевагами використання співвідношень показників у аналізі нормальних, так і патологічних процесів є: економічна (багато співвідношень різних показників можна розрахувати на основі простих/базових біохімічних обстежень, без додаткових тестів) та мультифакторна (можливість інтеграції інформації про декілька фізіологічних процесів). Серед недоліків можна виділити варіабельність (у деяких окремих випадках, для різних захворювань/популяцій нормальні та патологічні порогові значення можуть суттєво варіювати) та часткова інформативність (зокрема, співвідношення АЛТ/АСТ може не бути високоспецифічним індикатором виключно для печінкових захворювань, в окремих випадках сигналізуючи про запальні процеси в м'язових тканинах). Однак, не дивлячись на зазначені обмеження, аналіз саме співвідношень між окремими біохімічними показниками дає змогу значно розширити діагностичні можливості стандартних лабораторних досліджень.

Поряд з стандартизованими значеннями співвідношень, які, як вже зазначалось раніше є більш зручними та ефективними діагностичними маркерами, використовують також і звичайні (абсолютні) показники тих чи інших біологічних молекул в крові, які за коливанням можуть сигналізувати про певні запальні/патологічні процеси. Ці обидва типи маркерів є взаємодоповнюючими, часто використовуються в комплексі, та дозволяють часто отримати значно глибшу та точнішу інтерпретацію картини захворювання.

В першу чергу, якщо мова йде про печінкові хвороби, дуже важливим біохімічним маркером є *вміст білірубінів* у плазмі крові – похідних гемоглобіну, які

утворюються внаслідок руйнування гемових молекул. Він циркулює в крові у двох основних формах: *непрямий* (зв'язаний з альбуміном, некон'югований, який ще не пройшов через печінку) та *прямий* (глюкуронідований, кон'югований в печінці) [6]. Загальний білірубін представляє собою сумарний показник обох фракцій і широко використовується як маркер печінкової функції, холестазу та гемолізу.

Іншим, досить поширеним біохімічним маркером саме плазми крові є вміст *γ-глутамілтрансферази* – мембранного ферменту, що каталізує перенос *γ*-глутамільної групи з *γ*-глутамілпептидів (зокрема глутатіону) на амінокислоти або воду [2]. Реакція, яку каталізує ГГТ, сприяє відновленню та метаболізму глутатіону, який в свою чергу є важливою ланкою антиоксидантного захисту клітини. Через те, що *γ*-глутамілтрансфераза здебільшого локалізується на зовнішній мембрані клітин гепатоцитів, жовчних проток, підшлункової залози та нирок, цей фермент є зручним маркером холестазу та обструкції жовчних шляхів. Нормальні значення зазвичай: 8–61 U/L для чоловіків та 5–36 U/L для жінок.

Загалом, комплексне застосування важливих біохімічних маркерів крові та їхніх співвідношень можна вважати фундаментальним в сучасній медицині/діагностиці, оскільки вони дають змогу отримати максимально повну картину про перебіг хвороби або стану організму людини. *Абсолютні показники* відображають ступінь ушкодження органів, активність запальних/патологічних процесів або ж порушення обміну речовин. *Співвідношення між показниками* – інтегральне уявлення про баланс метаболічних процесів та взаємодію різних ланок біохімічних систем. В комплексі ці маркери утворюють зручний аналітичний інструмент, який: підвищує точність діагностики, дозволяє виявляти патологічні процеси на ранніх етапах, покращує оцінку та загальні прогнози перебігу тих чи інших хвороб.

1.3. Лабораторні методи аналізу біохімічних показників крові

Біохімічний аналіз крові – один з найбільш інформативних методів лабораторної діагностики, котрий показує функціональний стан різноманітних органів і систем людського організму [12, 14, 22]. Методи здійснення такого аналізу базуються на різноманітних фізико-хімічних принципах – в основному від фотометрії та імунологічних реакцій до хроматографії та мас-спектрометрії, що забезпечує їхню високу точність, інформативність, специфічність, та в першу чергу відтворюваність. Історично, перші біохімічні аналізи базувалися на простих якісних реакціях – зміні кольору, випадінні осаду або виділенні газу при взаємодії між собою реагуючих речовин. До середини ХХ століття біохімія була майже повністю хімічною дисципліною: ферменти, білки і метаболіти визначали за допомогою титрування, простих фотометричних систем та гравіметричних методів.

Технологічний «прорив» стався наприкінці ХХ – початку ХХІ століття, коли почали широко застосовувати мас-спектрометрія та високоефективна хроматографія. Це зробило можливою кількісну оцінку навіть тих метаболітів, які присутні в концентраціях 10^{-12} – 10^{-15} моль/л. На сьогодні біохімічна лабораторна діагностика є комплексною, інтегрованою системою, що об'єднує оптичні, електрохімічні, імунологічні та мас-спектрометричні методи.

Сучасні методи лабораторного аналізу біохімічних показників крові можна поділити на такі основні групи:

1. Спектрофотометричні методи аналізу

Серед сучасних методів аналізу дуже важливу роль відіграють спектральні методи аналізу, що ґрунтуються на фізико-хімічних методах якісного й кількісного визначення атомного та молекулярного складу речовин [19]. У клінічній біохімії та діагностиці спектрофотометричні методи аналізу є одними із найстаріших, хоч і найпоширеніших технологій. Принцип полягає в поглинанні світла біомолекулами на специфічних довжинах хвиль.

Для більшості сучасних біохімічних тестів застосовують видиму або УФ-спектрофотометрію.

У діагностиці спектрофотометрія широко застосовується для визначення концентрацій глюкози, креатиніну, сечовини, холестерину, тригліцеридів, загального білка, а також важливих ферментів. У випадку останніх переважно застосовують модифіковані кінетичні спектрофотометричні методики: активність ферменту реєструють за швидкістю зміни оптичної щільності субстрату чи продукту реакції. Наприклад, активність АСТ або АЛТ визначають за швидкістю утворення пірувату або оксалоацетату, які вступають у подальші реакції з утворенням забарвленого або УФ-активного продукту. Загалом спектрофотометрія має свої переваги: такі методи досить легко автоматизуються, забезпечують високу відтворюваність, потребують мінімальної кількості реагентів і доступні майже для всіх лабораторій. Проте вони чутливі до інтерференцій: гемоліз, іктеричність та ліпемія можуть спотворювати результати, оскільки змінюють оптичну властивість зразка.

2. Кінетичні методи ферментного аналізу

Такий тип аналізу є підвидом вищезгаданого спектрофотометричного, але має принципову особливість, яка виділяє цей метод в окрему групу – фіксація не кінцевої концентрації біомолекули (продукту реакції), а саме швидкість її утворення/перебігу реакції [21]. Швидкість ферментативної реакції, та її залежність від концентрації аналізованих речовин – знаючи характер цієї залежності, можна, вимірюючи швидкість ферментативної реакції, розрахувати концентрацію аналізованої речовини. Аналіз спирається на рівняння Міхаеліса-Ментен, яке описує залежність швидкості ферментативної реакції від концентрації субстрату [11]. Зокрема, в умовах надлишку субстрату, що забезпечується спеціальним складом реагенту, швидкість реакції залежить тільки від кількості ферменту в зразку, тобто від його активності. При цьому оптична щільність змінюється лінійно протягом певного часового інтервалу, що дає змогу точно визначити активність ферменту, аналізуючи нахил кривої змін поглинання. Основною вимогою до

кінетичних методів є лінійність реакції: зміна оптичної щільності повинна залишатися пропорційною активності ферменту.

Наприклад, активність АЛТ або АСТ фіксують у динаміці, спостерігаючи в першу чергу за тим, як змінюється поглинання світла протягом кількох хвилин. Окрім визначення активності АЛТ чи АСТ, методами кінетичного аналізу також встановлюють активність креатинфосфокінази (КФК) та її ізоферментів, активність лактатдегідрогенази (ЛДГ), визначають амілазу та ліпазу.

Проте, для даного методу існують свої певні нюанси: зокрема, важливою умовою коректного кінетичного аналізу є суворий контроль температури, оскільки навіть невеликі її коливання суттєво змінюють швидкість ферментативних реакцій. Крім температури, надзвичайно важливими є також показники рН середовища, тип буфера, наявність активаторів або інгібіторів, а також присутність та концентрація кофакторів, наприклад, NAD^+ або NADH .

3. Імунологічні та імуоферментні методи

Імунологічні/імуоферментні методи базуються на реакції між антитілом і специфічним антигеном – гормоном, білком, маркером запалення, цитокіном чи будь-якою іншою біологічно активною молекулою. Для того щоб таку реакцію зробити готовою до вимірювання широко використовують люмінесцентні або флуоресцентні мітки [17]. Внаслідок утворення комплексу «антиген–антитіло» відбувається поява оптичного або світлового сигналу, який далі фіксується апаратно.

Зокрема, імуоферментний метод ELISA є базовим інструментом для визначення концентрацій гормонів щитоподібної залози, статевих гормонів, інсуліну, вітаміну B12, вітаміну D, С-реактивного білка, кардіомаркерів (тропонінів), маркерів автоімунних хвороб та онкомаркерів [5]. Хемілюмінесцентні методи (ECLIA, CLIA) є, так званими «наступниками» ELISA. Оскільки антитіла мають дуже високу специфічність, імуохімічні технології дають можливість точно встановлювати/визначати концентрації

невідомих молекул навіть у пікомолярних кількостях. Однак якість таких тестів дуже сильно залежить від чистоти антитіл і чутливості міток.

4. Хроматографічні методи

Хроматографічні методи аналізу являють собою технології, що використовуються для розділення, ідентифікації та кількісного визначення компонентів складних сумішей на основі їх різного розподілу між двома фазами: нерухомою (стаціонарною) та рухомою (мобільною). Хроматографічні методи аналізу забезпечують ефективне розділення досить складних сумішей біомолекул і дають змогу дослідити компоненти, які неможливо визначити стандартними біохімічними методами. Зокрема, газова хроматографія (ГХ) використовується для аналізу летких сполук – органічних кислот, алкоголів, токсинів, метаболітів у токсикологічних дослідженнях. Рідинна хроматографія високої ефективності (ВЕРХ або HPLC) є значно універсальнішою, покращеною хроматографією, яка придатна для аналізу гормонів, амінокислот, жовчних кислот, антибіотиків, антидепресантів, вітамінів та пептидів.

Принцип роботи таких методів базується на різній швидкості руху молекул через сорбент колонки залежно від їх полярності, заряду, розміру та хімічних властивостей. Це дозволяє розділяти складну суміш на окремі прості компоненти, які потім детектуються УФ-детектором або мас-спектрометрією. Остання комбінація (HPLC–MS/MS) нині є «золотим стандартом» у токсикології та гормональній діагностиці.

Однак, не дивлячись на те, що хроматографічні методи відзначаються високою точністю і чутливістю, застосування часто потребує значного часу та високої кваліфікації персоналу.

5. Мас-спектрометрія

Мас-спектрометрія (МС) вважається наразі найточнішим, найпотужнішим і найспецифічнішим методом ідентифікації, визначення структури, маси та концентрації біохімічних молекул порівняно з усіма іншими доступними інструментами. На відміну від фотометричних або імунологічних методів, МС не залежить від оптичних властивостей або

структури аналізованих молекул, що робить цей метод набагато універсальнішим. Основний принцип полягає в іонізації молекул, поділі їх за масою та зарядом, і наступному вимірюванні кількості кожного іона. Це забезпечує фактично абсолютну специфічність, і дає змогу конкретно ідентифікувати складні сполуки, ефективно визначення яких є неможливим/дуже ускладненим.

Саме метод МС дозволяє одночасно визначати десятки гормонів, вітамінів, амінокислот, метаболітів жирних кислот, що робить його практично незамінним у неонатальному скринінгу, протеоміці, метаболоміці, токсикології, діагностиці рідкісних метаболічних порушень. До прикладу різновид МС – MALDI-TOF-мас-спектрометрія – широко використовується в мікробіологічній діагностиці, забезпечуючи ідентифікацію бактерій за кілька хвилин.

Однак, не зважаючи на свою надзвичайну аналітичну точність, зручність та широку застосовуваність, мас-спектрометрія не позбавлена своїх недоліків та обмежень. В першу чергу це дороговартісне обладнання, яке є невід'ємною частиною аналізу, в іншу – підбір кваліфікованого персоналу. Окрім того, така спектрометрія вимагає чистоти реагентів та, власне, аналізуючої системи.

6. Потенціометричні та іон-селективні методи

Потенціометрія – це електрохімічний метод аналізу, що ґрунтується на вимірюванні електродного потенціалу, який виникає на межі поділу електрода та розчину. Використання іон-селективного електрода (ISE) являє собою зручний метод визначення концентрацій електролітів, зокрема: натрію, калію, хлоридів, кальцію та магнію. Принцип полягає у вимірюванні електричного потенціалу між спеціальним електродом, що селективно реагує на певний іон, і електродом порівняння. Різниця потенціалів пропорційна активності відповідного іона у зразку.

Ці методи є стандартними у багатьох клінічних лабораторіях для визначення електролітів. Більшість сучасних біохімічних аналізаторів (Roche Cobas, Abbot Architect, Beckman Coulter, Siemens Dimension) використовують

саме ІСЕ-технологію. Завдяки своїй високій точності та швидкості є незамінним у відділеннях інтенсивної терапії та при невідкладних станах. На сучасних газоаналізаторах іон-селективні електроди паралельно вимірюють рН, рСО₂, рО₂, іонізований кальцій і електроліти, забезпечуючи повну картину гомеостазу пацієнта.

Однак, поряд з очевидними перевагами існує ряд недоліків. Зокрема, метод дуже чутливий до гемолізу, який може призводити до хибного збільшення рівня калію.

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

2.1. Матеріали та об'єкти дослідження

Матеріалом для дослідження в межах даної роботи були лабораторні показники хворих пацієнтів, яким був встановлений діагноз жирової хвороби печінки. Відбір пацієнтів та показників їх лабораторного обстеження з історій хвороб, відбувався на базі лікувально-діагностичного центру «Клініка еферентної терапії доктора Чорномиза», у м. Київ. Хворими були чоловіки та жінки різних вікових категорій: наймолодшому пацієнту було 27 років, а найстаршому – 82. Діагнози хворим встановлювались лікарями відповідно до результатів діагностичних лабораторних аналізів.

Загалом було проаналізовано 32 історії хвороб пацієнтів, серед яких до подальшого дослідження було відібрано 9 історій хворих із клінічно встановленим загальним діагнозом «стеатоз», 7 історій хвороб пацієнтів, хворих метаболічно-асоційованою жировою хворобою печінки (МАЖХП) та 4 історії хвороб тих пацієнтів, яким було встановлено діагноз неалкогольної жирової хвороби печінки (НЖХП). Для зручності проведення порівняльного аналізу хворі на МАЖХП та НЖХП були об'єднані в одну дослідну групу, а з діагнозом стеатоз – в іншу.

Із отриманих історій хворих пацієнтів на жирові хвороби печінки далі виписували наступні дані: стать, вік, показники загального аналізу крові (вміст еритроцитів, гемоглобіну, лейкоцитів, тромбоцитів та ШОЕ), та біохімічні показники крові (вміст глюкози, загального білку, сечовини, креатиніну, білірубінів, та з визначенням АЛТ, АСТ). Детальніше аналізували наступні маркерні показники: вміст холестерину, глюкози, білірубінів, вміст АЛТ та АСТ.

2.2. Методики, які використовувались у дослідженні

Методика кількісного визначення вмісту білірубінів в плазмі/сироватці крові

Найпоширенішим методом аналізу білірубінів є метод Jendrassik-Grof, або ж діазореакція [6]. Суть методу полягає в тому, що білірубін у кислому середовищі реагує з діазотованою сульфаніловою кислотою, утворюючи кольоровий азобілірубіновий комплекс, який далі кількісно визначається колориметрично. Кон'югований (прямий) білірубін реагує швидко; некон'югований (непрямий) – повільніше або після додавання прискорювача/розчинника. Матеріалом для такого аналізу є сироватка або плазма крові. Досліджувані сироватки або плазми повинні бути ретельно відокремлені від формених елементів крові не пізніше, ніж через 1 годину після взяття крові.

Для проведення аналізу у дві пробірки вносять по 0,5 мл сироватки крові, розведеної удвічі. Перша пробірка служить контролем при визначенні загального білірубіну: до неї додають 0,25 мл ізотонічного розчину хлориду натрію та 1,75 мл кофеїнового реактиву. У другу пробірку, призначену для вимірювання вмісту загального білірубіну, додають 0,25 мл діазореактиву та 1,75 мл кофеїнового розчину.

Через 20 хвилин після внесення діазосуміші проводять вимірювання при довжині хвилі 560 нм у кюветах із товщиною робочого шару 5 мм, використовуючи дистильовану воду як холостий розчин. Різницю між оптичною щільністю дослідного зразка і контрольного використовують для визначення концентрації загального білірубіну за калібрувальним графіком, результат виражають у мкмоль/л.

Методика визначення активності аланінамінотрансферази (АЛТ)

В основі кількісного визначення активності АЛТ також лежать методи, пов'язані з спектро-/колориметрією. Найстарішим прикладом такого аналізу є метод Райтмана-Френкеля, заснований на визначенні піривату, що

утворюється у реакції АЛТ, шляхом утворення забарвленого комплексу з 2,4-динітрофенілгідразином [26]. Аланінамінотрансфераза у присутності α -кетоглутарата каталізує реакцію переамінування L-аланіну з утворенням пірувату. Піруват, в свою чергу, з 2,4-динітрофенілгідрозиним в лужному середовищі утворює динітрофенілгідрозон. Інтенсивність кольору пропорційна концентрації АЛТ в зразку.

Варто зазначити, що наразі цей метод вважається дещо застарілим, точність якого нижча, ніж у новіших. Сучасні методи можуть використовувати інші допоміжні реакції або автоматизовані методи на біохімічних аналізаторах, які оптимізовані за міжнародними рекомендаціями. Найпоширенішим і стандартним у сучасній клінічній практиці вважається оптимізований кінетичний спектрофотометричний метод за рекомендаціями IFCC, який використовують у більшості клініко-діагностичних лабораторій світу.

Принцип кінетичного методу: АЛТ каталізує реакцію перенесення аміногрупи з L-аланіну на α -оксоглутарат, унаслідок чого утворюються піруват і L-глутамат. У подальшій спряженій реакції, що проходить за участю лактатдегідрогенази, утворений піруват реагує з NADH у присутності іонів водню. У результаті цієї реакції з'являються L-лактат і NAD⁺. Перетворення NADH у NAD⁺ супроводжується зменшенням поглинання світла при довжині хвилі 340, 334 або 365 нм. Зниження оптичної щільності розчину прямо пропорційне активності АЛТ у дослідній пробі. Оптичну густину вимірюють при зазначених довжинах хвиль у діапазоні 0-1,0 одиниць оптичної щільності, використовуючи кювету з довжиною оптичного шляху 10 мм.

Для проведення аналізу робочий розчин попередньо доводять до кімнатної температури та змішують субстратно-буферний розчин АЛТ із коензим-ензимним реагентом у співвідношенні 4:1. Суміш витримують не менше 20 хвилин у темному скляному флаконі перед використанням. Об'єм реактивів можна змінювати відповідно до робочого об'єму кювети аналізатора, дотримуючись постійного співвідношення: робочий розчин :

досліджуваний зразок = 10 : 1 (наприклад, 1 мл робочого розчину + 0,1 мл сироватки).

Перед вимірюванням робочий розчин витримують до заданої температури проведення аналізу: 3 хв для об'єму 1 мл або 5 хв при більших об'ємах. Потім у кювету додають досліджуваний зразок, ретельно перемішують і через 1 хвилину вимірюють першу екстинцію (E_1). Через 3 хв вимірюють другу екстинцію (E_2). Потім обчислюють середню зміну екстинції за хвилину ($\Delta E/\text{хв}$), і отримане значення використовується для розрахунку активності АЛТ у зразку.

Методика визначення активності аспаратамінотрансферази (АСТ)

Класична методика визначення активності аспаратамінотрансферази (АСТ), як і у випадку з АЛТ, також ґрунтується на спектро-/колориметрії. Однак поряд з стандартним методом Райтмана-Френкеля, все більше лабораторій переходить на вищезгаданий кінетичний метод, який у випадку АСТ полягає в двох послідовних ферментативних реакціях: *основна* реакція (АСТ, що міститься в пробі, каталізує перенесення аміногрупи з L-аспартату на α -кетоглутарат. В результаті утворюються оксалоацетат та L-глутамат) та *індикаторна* (утворений в попередній реакції оксалоацетат одразу ж відновлюється до L-малату за допомогою допоміжного ферменту малатдегідрогенази (МДГ); коферментом у цій реакції виступає нікотинамідаденіндинуклеотид (NADH), який окислюється до NAD^+). Швидкість зменшення концентрації NADH прямо пропорційна активності АСТ у зразку. NADH поглинає ультрафіолетове світло при довжині хвилі 340 нм, а NAD^+ ні. Тому, фіксація швидкості падіння оптичної щільності при 340 нм, дає змогу розрахувати активність ферменту. Основні етапи проведення аналізу такі ж як і для АСТ.

Дуже важливим перед проведенням будь-якого аналізу зразків пацієнтів є обов'язкове дослідження контрольних сироваток з відомим (нормальним та патологічним) рівнем активності маркерного показника.

Результати вважаються достовірними лише в тому випадку, якщо показники контрольних матеріалів знаходяться у чітко визначених межах.

Далі, після отримання всіх потрібних показників пацієнтів з жировою хворобою печінки, для подальшого аналізу хворих проводилась статистична їх обробка та аналіз/обговорення отриманих результатів.

Статистична обробка отриманих результатів велась з використанням софту Microsoft Excel з пакету Microsoft Office, із додатковим залученням пакету «Аналіз даних».

Порівняння відібраних до аналізу показників також було представлено у вигляді середньої величини (M), максимального значення (max) та мінімального (min). Візуалізовано дані у вигляді таблиць, на яких були показані середні значення по кожному маркерному показнику для двох аналізованих груп та межі нормальних/допустимих значень. Представлення таблиць було виконано також за допомогою пакету Microsoft Office.

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Стеатоз печінки, або жирове переродження гепатоцитів, є однією з найпоширеніших патологій гепатобіліарної системи, що характеризується надмірним накопиченням ліпідів у клітинах печінкової паренхіми. Основним етіопатогенетичним фактором розвитку стеатотичної хвороби печінки та стеатогепатиту, в основному, слугує алкоголь, роль якого відслідковується у 65-75% пацієнтів [27, 28]. Не дивлячись на можливий безсимптомний перебіг, стеатоз цілком може прогресувати до стеатогепатиту, фіброзу та навіть цирозу.

Молекулярні механізми розвитку стеатозу включають комплексні порушення ліпідного обміну, дисфункцію мітохондрій, оксидативний стрес, запальні реакції та зміни міжклітинних сигнальних шляхів. Оцінка цих процесів є важливою для розуміння етапів прогресування захворювання та ідентифікації потенційних терапевтичних мішеней. Тому аналіз змін морфологічних, біохімічних та функціональних параметрів печінки дозволяє комплексно оцінити патологічні зміни та їх патогенетичні зв'язки.

У цій роботі наведено результати дослідження ключових біохімічних маркерів/показників жирової хвороби печінки показників, що відображають розвиток жирової інфільтрації печінки.

Характеристика вмісту АЛТ та АСТ у хворих на жирові хвороби печінки

Аланінамінотрансфераза (АЛТ) та аспартатамінотрансфераза (АСТ) належать до групи ферментів-трансфераз і відіграють ключову роль у процесах амінотранферу в клітинах. Основним місцем їх локалізації є гепатоцити, що зумовлює їх високу специфічність як біохімічних маркерів стану печінкової тканини. За нормальних умов активність АЛТ і АСТ у крові є низькою, однак ушкодження мембран гепатоцитів або їх некроз призводять до вивільнення цих ферментів у системний кровообіг.

Підвищення концентрації трансаміназ розглядається як один із ранніх та чутливих індикаторів структурно-функціональних порушень печінки, оскільки зростання їх рівнів безпосередньо відображає ступінь ушкодження гепатоцитів та дозволяє своєчасно виявити початок патологічного процесу навіть за відсутності клінічних симптомів.

Аналіз вмісту АЛТ та АСТ в крові хворих пацієнтів, історії яких було відібрано для даного дослідження, показав дійсно підвищені їх рівнів у хворих (табл. 1). При чому максимальне значення вмісту АЛТ в крові було зафіксовано для хворого пацієнта з групи МАХП – 254 МО/л, тоді як максимальне значення вмісту АСТ становило 97 МО/л.

Таблиця 1

Середні та допустимі значення вмісту АЛТ та АСТ для досліджуваних груп

Досліджувана група	АЛТ		Досліджувана група	АСТ	
	М	Допустимі значення		М	Допустимі значення
МАХП	92,6 МО/л	ч: 10–41 МО/л ж: 7-35 МО/л	МАХП	49 МО/л	ч: 10–40 МО/л ж: 9-32 МО/л
Стеатоз	43,3 МО/л	ч: 10–41 МО/л ж: 7-35 МО/л	Стеатоз	26,9 МО/л	ч: 10–40 МО/л ж: 9-32 МО/л

Порівняльний аналіз середніх значень вмісту АЛТ та АСТ для обох досліджуваних груп демонструє суттєву різницю в показниках (табл.1). Вміст аналізованих ферментів-трансфераз у хворих пацієнтів групи МАХП виявився значно вищим порівняно з хворими, яким було встановлено стеатотичну хворобу печінки. Це пов'язано з тим, що МАХП зазвичай

супроводжується більш вираженим ушкодженням гепатоцитів і глибшими порушеннями метаболічних процесів.

При МАХП печінка зазнає не лише накопичення жиру, як при звичайній стеатотичній хворобі печінки, але й розвитку запалення, оксидативного стресу, інсулінорезистентності та фіброзних змін. Ці процеси призводять до активного руйнування клітин печінки, а отже – до інтенсивнішого вивільнення АЛТ та АСТ у кров.

Таким чином, відмінності у досліджуваних показниках для двох груп мож бути пояснене різними особливостями які можуть бути характерні як для стеатозу, так і для МАХП. Зокрема, суттєво вищі значення, які спостерігаються у хворих зі встановленими діагнозами МАХП пояснюються тим, що стеатоз характеризується меншим рівнем ушкодження клітин, в той час як МАХП (або стеатогепатит) можуть включати в себе запалення, оксидативний стрес та некротичні процеси.

На загал результати аналізу рівнів вмісту АЛТ/АСТ чітко свідчать про підвищення їх у сироватці крові, що є прямим наслідком структурно-функціональних порушень гепатоцитів, які виникають у процесі розвитку стеатозу та неалкогольної жирової хвороби печінки. Основним патогенетичним чинником цих станів є надмірне накопичення тригліцеридів у клітинах печінки, що спричиняє низку метаболічних і морфологічних змін.

Характеристика вмісту білірубінів у хворих на жирові хвороби печінки

Білірубіни, або ж жовтяні пігменти, утворюються в результаті розпаду гемоглобіну, основного компонента червоних кров'яних клітин. Вони є продуктами катаболізму гемових груп і виконують важливу роль у процесах детоксикації організму, оскільки їх накопичення в крові може свідчити про порушення роботи печінки або жовчовивідних шляхів. Після утворення білірубін надходить у печінку, де він кон'югується з глюкуроною кислотою і виводиться з організму з жовчю. Залежно від ступеня кон'югації

розрізняють прями́й (кон'югований) та непрями́й (некон'югований) білірубін:

- **прями́й** – або кон'югований, форма білірубіну, яка була оброблена в печінці та виведена з неї через жовч. Прями́й білірубін є розчинним у воді і не токсичним.
- **непрями́й** – вільний/некон'югований, форма білірубіну, яка ще не була оброблена в печінці. Непрями́й білірубін є не розчинним у воді і може бути токсичним для організму, особливо у великих кількостях.

Загальний білірубін – це сума прямого та непрямого білірубіну в крові. Вимірювання рівня загального білірубіну є важливим елементом біохімічного аналізу крові, оскільки зміни у рівні білірубіну можуть бути показником різних захворювань, зокрема таких як печінкові захворювання.

Аналіз показників основних форм білірубінів у хворих в межах цього дослідження показали, що у пацієнтів з жировими хворобами печінки спостерігаються відхилення від нормальних/допустимих значень (табл. 2).

Таблиця 2 (початок)

Середні та допустимі значення вмісту білірубінів для досліджуваних груп

	Загальний білірубін			Прями́й білірубін	
	М	Допустимі значення		М	Допустимі значення
МАХП	22 Мкмоль/л	3,4-20,5 Мкмоль/л	МАХП	3,4 Мкмоль/л	≤5,1 Мкмоль/л
Стеатоз	14,7 Мкмоль/л	3,4-20,5 Мкмоль/л	Стеатоз	2,75 Мкмоль/л	≤5,1 Мкмоль/л

Таблиця 2 (продовження)

Середні та допустимі значення вмісту білірубінів для досліджуваних груп

	Непрямий білірубін	
	М	Допустимі значення
МАХП	18,3 Мкмоль/л	≤15,4 Мкмоль/л
Стеатоз	11,9 Мкмоль/л	≤15,4 Мкмоль/л

Середні значення вмісту усіх білірубінів виявились вищими у хворих пацієнтів з групи МАХП (табл. 2). У даній аналізованій групі хворих перевищення допустимих норм було виявлено у хворих за показниками загального білірубіну – 22 мкмоль/л при допустимому 20,5 мкмоль/л, та непрямого білірубіну – 18,3 мкмоль/л, при допустимому 15,4 мкмоль/л. Максимальне значення вмісту непрямого білірубіну серед всіх проаналізованих історій хвороб, яке суттєво перевищує норму, було зафіксовано для хворого пацієнта із діагнозом стеатоз – 20 мкмоль/л. Максимальний показник вмісту загального білірубіну був виявлений у хворого з досліджуваної групи МАХП – 49 Мкмоль/л, що значно перевищує верхню. порогову межу допустимих значень.

Спостережуване підвищення рівня білірубінів у досліджуваних пацієнтів зі стеатозом або МАХП є наслідком порушення нормальних процесів метаболізму та транспорту жовчних пігментів у гепатоцитах. За звичайної стеатотичної хвороби печінки надмірне накопичення ліпідів у клітинах печінки спричиняє механічне та метаболічне навантаження на гепатоцити, що призводить до зниження ефективності ферментативних систем, відповідальних за кон'югацію білірубіну. Це і є основною причиною підвищення рівня некон'югованої форми білірубіну, оскільки знижується активність ферментів, які відповідають за перетворення непрямого білірубіну на водорозчинний.

При МАХП, особливо у випадках переходу стеатозу в стеатогепатит, патологічні зміни стають більш вираженими. Ліпотоксичність, оксидативний стрес, запальна інфільтрація та порушення мітохондріальної функції призводять до ушкодження гепатоцитів і порушення їхньої детоксикаційної здатності.

Значні підвищення в рівнях білірубінів у крові зокрема також можуть вказувати на розвиток цирозу печінки [29, 30]. Оскільки ця хвороба пов'язана з серйозними ушкодженнями тканин печінки, вона втрачає здатність до нормального утилізування білірубіну. Як наслідок, він може накопичуватись в крові та призводити до зміни кольору шкіри та білків очей на жовтий колір (жовтуха), що є однією з ознак цирозу.

Характеристика вмісту холестерину та глюкози у хворих на жирові хвороби печінки

Загальні зміни та порушення глюкозного й ліпідного обміну в організмі людини, поряд з іншими маркерними сигналами, можуть також бути ключовими характеристиками як звичайної стеатотичної хвороби печінки так і більш прогресуючих форм жирової хвороби печінки – зокрема МАХП. Поступове накопичення жиру в гепатоцитах не є ізольованим процесом – воно взаємопов'язане із інсулінорезистентністю, дисліпідемією та метаболічним дисбалансом, що відображається у змінених рівнях глюкози та холестерину в крові [31].

Оцінка вмісту холестерину та глюкози в крові аналізованих пацієнтів показав загалом несуттєві підвищення їх рівнів вмісту у обох досліджуваних групах порівняно з нормальними значеннями (табл. 3).

Таблиця 3

Середні та допустимі значення вмісту холестерину та глюкози для досліджуваних груп

	Холестерин			Глюкоза	
	М	Допустимі значення		М	Допустимі значення
МАХП	5,5	3,0-5,2 ммоль/л	МАХП	5,7	3,3-5,5 ммоль/л
Стеатоз	5,4	3,0-5,2 ммоль/л	Стеатоз	5,7	3,3-5,5 ммоль/л

Підвищення рівнів вмісту глюкози та холестерину в організмі хворих пацієнтів є прямим відображенням системних метаболічних порушень, які виникають та супроводжують жирову хворобу печінки. При цьому жирова хвороба печінки не є лише локальним ураженням печінки, а являється компонентом метаболічного синдрому, де печінка відіграє центральну роль у регуляції обмінних процесів.

Максимальні значення вмісту глюкози були зафіксовані майже однакові для двох досліджуваних груп – 8,35/8,4 мкмоль/л, в той час як найвищий вміст холестерину був виявлений лише у хворого з групи МАХП – 8,1 мкмоль/л. Це свідчить про те, що порушення вуглеводного обміну та підвищення рівня глюкози характерні як для простого стеатозу, так і для більш прогресивної форми жирової хвороби печінки. Це підтверджує наявність інсулінорезистентності у пацієнтів обох груп. Найвище значення вмісту холестерину в групі МАХП можна пояснити тим, що дисбаланс ліпідного обміну є більш характерним і тяжким у пацієнтів із МАХП порівняно з простим стеатозом.

При стеатотичній хворобі печінки та МАХП у м'язах, жировій тканині та гепатоцитах може суттєво знижуватися чутливість до інсуліну [32]. Тому підвищені рівні глюкози можуть бути пояснені посиленням глюконеогенезом в печінці (вироблення глюкози навіть тоді, коли вона не потрібна), або ж порушенням захоплення глюкози периферичними тканинами.

Зростання рівня холестерину в крові хворих на жирові хвороби печінки можна пов'язати загалом із зростанням жиру в тканинах печінки, а також із наступними процесами: зростання синтезу холестерину через активацію ферменту HMG-CoA редуктази, зростання утворення ліпопротеїдів низької щільності та порушення експорту ліпопротеїдів дуже низької щільності. Як наслідок, це все призводить до порушення співвідношення «корисного» холестерину (антиатерогенного) до «некорисного» (атерогенного). Якщо ж мова йде про МАХП, то варто зазначити, що в такому випадку порушення, запалення, оксидативний стрес та мітохондріальна дисфункція є значно серйознішими, як вже згадувалось раніше.

Проведений аналіз історій хвороб пацієнтів з діагнозами стеатоз та МАХП наглядно показав метаболічний стан хворих, а саме: активність трансаміназ (АЛТ, АСТ), рівні білірубину, вміст холестерину та глюкози. Результати по всіх аналізованих показниках показали значно вищі рівні значень саме у хворих групи МАХП.

Підвищені значення усіх аналізованих показників у пацієнтів із МАХП порівняно з пацієнтами з простим стеатозом ймовірно відображають більш глибокі пошкодження печінкової та метаболічної функції та клітин печінки. Високі рівні АЛТ та АСТ свідчать про яскраво виражене гепатоцелюлярне ушкодження, в той час як підвищення вмісту білірубінів зумовлене порушенням кон'югації та внутрішньопечінкового транспорту жовчних пігментів, викликаних пошкодженням гепатоцитів. Зростання рівня глюкози відображає більш виражену інсулінорезистентність, а підвищений холестерин відображає дисбаланс ліпідного обміну, посилений синтезом та накопиченням ліпідів у гепатоцитах. Таким чином, комплексне підвищення всіх цих показників у хворих групи МАХП відображає більш складний

патологічний процес у печінці, що поєднує стеатоз, запалення, оксидативний стрес та метаболічні порушення, тоді як при звичайній стеатотичній хворобі печінки ці зміни менш виражені.

На загал, проведене дослідження відображає взаємопов'язані порушення гепатоцелюлярної функції, ліпідного та вуглеводного обміну, що є характерними для стеатозу і які значно посилюються при МАХП. Отримані дані підтверджують важливу роль біохімічних маркерів АЛТ, АСТ, білірубіну, глюкози та холестерину як інформативних показників для оцінки ступеня ураження печінки та ризику прогресування хвороби.

ВИСНОВКИ

1. У пацієнтів із жировими хворобами печінки спостерігаються суттєві порушення гепатоцелюлярної функції, що підтверджується підвищенням рівнів трансаміназ (АЛТ та АСТ). Найвищі значення цих ферментів виявлено у хворих із МАХП, що свідчить про більш виражене ушкодження гепатоцитів та активні запально-некротичні процеси порівняно зі звичайним стеатозом.
2. Показники білірубінів також демонструють патологічні зміни, зокрема підвищення загального та непрямого білірубіну. Це вказує на порушення кон'югаційної функції печінки та порушення внутрішньопечінкового транспорту жовчних пігментів. Пацієнти з МАХП мали вираженіші відхилення, що корелює з більш тяжким ступенем ураження печінкової паренхіми.
3. Підвищення рівнів глюкози та холестерину у крові свідчить про системні метаболічні порушення, зокрема інсулінорезистентність і дисліпідемію. Ці зміни характерні як для простого стеатозу, так і для МАХП, проте в останній групі вони були суттєво виражені, що вказує на глибший дисбаланс вуглеводного та ліпідного обміну.
4. Порівняльний аналіз пацієнтів із стеатозом та МАХП підтверджує, що МАХП є більш прогресивною та патогенетично складною формою жирової хвороби печінки. Комплексне одночасне підвищення АЛТ, АСТ, білірубінів, глюкози та холестерину відображає поєднання стеатозу, запалення, оксидативного стресу й метаболічної дисфункції, тоді як при простому стеатозі ці зміни менш виражені.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ:

1. Asrani S.K., Devarbhavi H., Eaton J., Kamath P.S. Burden of liver diseases in the world. *Journal of Hepatology*. 2019. Vol. 70, N. 1. P. 151–171.
2. Banderas D.Z., Escobedo J., Gonzalez E., Liceaga M.G., Ramírez J.C., Castro M.G. γ -Glutamyl transferase: a marker of nonalcoholic fatty liver disease in patients with the metabolic syndrome. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*. 2012. Vol. 24, N. 7. P. 805–810.
3. Busher J.T. Serum albumin and globulin. *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations*. 1990. Vol. 3. P. 497–499.
4. European Association for the Study of the Liver; European Association for the Study of Diabetes. EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines on the management of metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease (MASLD). *Obesity Facts*. 2024. Vol. 17, N. 4. P. 374–444.
5. Hnasko R. (Ed.). *ELISA*. New York: Humana Press. 2015. P. 51–59.
6. Kalakonda A., Jenkins B.A., John S. *Physiology, bilirubin*. 2017.
7. Kosmas C.E., Rodriguez Polanco S., Bousvarou M.D., Papakonstantinou E.J., Peña Genao E., Guzman E., Kostara C.E. The triglyceride/HDL-C ratio as a risk marker for metabolic syndrome and cardiovascular disease. *Diagnostics*. 2023. Vol. 13, N. 5. P. 929.
8. Li H.Y., Chen B.D., Ma Y.T., Yang Y.N., Ma X., Liu F., et al. Optimal cutoff of the triglyceride to high-density lipoprotein cholesterol ratio to detect cardiovascular risk factors among Han adults in Xinjiang. *Journal of Health, Population and Nutrition*. 2016. Vol. 35, N. 1. P. 30.
9. Макаренко Т.М., Радченко О.М. Співвідношення біохімічних показників крові в медичній практиці: клініко-діагностичне значення. *Практикуючий лікар*. 2017. N. 2. С. 49–53.
10. Ndrepepa G. De Ritis ratio and cardiovascular disease: evidence and underlying mechanisms. *Journal of Laboratory and Precision Medicine*. 2023. Vol. 8.
11. Nelson D.L., Lehninger A.L., Cox M.M. *Lehninger Principles of Biochemistry*. Macmillan. 2008.

12. Ni J., Zhu W., Wang Y., Wei X., Li J., Peng L., et al. A reference chart for clinical biochemical tests of hemolyzed serum samples. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*. 2021. Vol. 35, N. 1. P. e23561.
13. Rai M., Paudel N., Sakhrie M., Gemmati D., Khan I.A., Tisato V., et al. Perspective on QSTR models to predict hepatic biotransformation of xenobiotics. *Livers*. 2023. Vol. 3, N. 3. P. 448–462.
14. Reissfelder C., Rahbari N.N., Koch M., Kofler B., Sutedja N., Elbers H., et al. Postoperative course and clinical significance of biochemical blood tests following hepatic resection. *Journal of British Surgery*. 2011. Vol. 98, N. 6. P. 836–844.
15. Yin X., Guo X., Liu Z., Wang J. Advances in the diagnosis and treatment of non-alcoholic fatty liver disease. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023. Vol. 24, N. 3. P. 2844.
16. Бойків Д.П. *Клінічна біохімія: підручник*. Київ: Медицина. 2006.
17. Бойко О.П., Титюк О.В., Панівська О.В., Поручинський Б.А., Бойко П.К. Можливості імунофлуоресцентного методу в лабораторній діагностиці інфекційних хвороб. *Нотатки сучасної біології*. 2021. N. 1(1).
18. Грищенко В.А., Томчук В.А., Литвиненко О.М., Чернишенко В.О., Грищук В.І., Платонова Т.М. Оцінка протеїнсинтезуючої функції печінки за експериментального гепатиту. *Український біохімічний журнал*. 2011. Т. 83, N. 1. С. 63–68.
19. Гураль О., Змійовський Н., Кіцак І. Спектрофотометрія та її застосування. *Збірник тез X Всеукраїнської студентської науково-технічної конференції*. 2017. С. 202.
20. Єфімов А.С., Михальчук Л.М. Сучасний погляд на патогенез НАЖХП та застосування бігуанідів. *Medprosvita. Digest Special-edition*. 2010. N. 11–12. С. 25–30.
21. Іванова А.Д., Блажесівський М.Є., Ковальська О.В. Ферментативні методи аналізу. 2023.

22. Калмиков С.А. Динаміка біохімічних показників крові у хворих на інфільтративний туберкульоз легень... *Проблеми безперервної медичної освіти та науки*. 2012. N. 3. С. 34–37.
23. Криворучко І.А., Лурін І.А., Бойко В.В., Фаусто К., Сартеллі М., Коколіні Ф., et al. Changes in the ratio of neutrophils to albumin... *Український радіологічний та онкологічний журнал*. 2024. Т. 32, N. 3. С. 299–320.
24. Урбанович А.М. Неалкогольний стеатогепатит у пацієнтів із ЦД 2 типу. *Сімейна медицина*. 2009. N. 3. С. 21–25.
25. Харів І.І. Білоксинтизувальна функція печінки в інтактних індиків... *Бюлетень Інституту біології тварин...* 2012. Вип. 13. С. 3–4.
26. Reitman S., Frankel S. A colorimetric method for the determination of serum transaminases. *American Journal of Clinical Pathology*. 1957. Vol. 28, N. 1. P. 56–63.
27. Lefkowitz J.H. Morphology of alcoholic liver disease. *Clinics in Liver Disease*. 2005. Vol. 9, N. 1. P. 37–53.
28. Степанов Ю.М., Філіппова О.Ю. Особливості перебігу стеатозу печінки... *Український терапевтичний журнал*. 2011. N. 2. С. 38–44.
29. Козько В.М., Соломенник Г.О., Могиленець О.І., Бондар О.Є., Винокурова О.М. Прогностичні аспекти лабораторних показників у хворих на цироз печінки. 2012.
30. Котів Б.М., Дзідзава І.І., Кашкін Д.П., Смородський А.В., Самуйленко А.В. Нові фактори довгострокового виживання пацієнтів... *Науковий вісник Ужгородського університету*. 2011. Т. 2(41). С. 139–147.
31. Gaggini M., Morelli M., Buzzigoli E., DeFronzo R.A., Bugianesi E., Gastaldelli A. NAFLD and its connection with insulin resistance... *Nutrients*. 2013. Vol. 5, N. 5. P. 1544–1560.

32. Bugianesi E., Moscatiello S., Ciaravella M.F., Marchesini G. Insulin resistance in NAFLD. *Current Pharmaceutical Design*. 2010. Vol. 16, N. 17. P. 1941–1951.