

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

**Біохімічні маркери ранньої діагностики ускладнень
пreekлампсії у жінок з хронічним холециститом на третьому
триместрі вагітності**

Дипломна робота
Рівень вищої освіти – перший(бакалаврський)

Виконала:

Студентка 4-го курсу, групи 400
спеціальності 091 «Біологія та біохімія»

Рахматова К. В.

Керівник: Кеца О. В.

Рецензент(прізвище та ініціали, кафедра, університет)

До захисту допущено:

Протокол засідання кафедри №_____

Від «_____»_____2024 р.

зав. Кафедри_____проф. Копильчук Г. П.

Чернівці 2024

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ ТА ПОЗНАЧЕНЬ	4
ВСТУП.....	5
1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	7
1.1. Амінотрансферази як маркери функціонального стану печінки.	7
1.1.1. Структура та функції аланін амінотрансферази. . .	7
1.1.2. Біологічна роль аспартатамінотрансферази в організмі	8
1.2. Участь креатиніну у метаболічних процесах в організмі	10
1.3. Печінкові проби при здоровій вагітності	12
1.4. Зміна біохімічних показників при прееклампсії	13
2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ... ..	15
2.1. Об'єкт та методи досліджень	15
3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ	22
ВИСНОВКИ	29
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	30
ДОДАТКИ	33

1. АЛТ – Аланінамінотрансфераза
2. АСТ – Аспартатамінотрансфераза
3. АТФ – Аденозин-три-фосфат
4. HELLP(Hemolysis Elevated Liver enzymes Low Platelet count – гемоліз, підвищенні печінкові ферменти та низький рівень тромбоцитів
5. PLP – Піридоксальфосфат

ВСТУП

У сучасному світі здоров'я людини стає однією з найважливіших складових її життя. Здоров'я визначається не лише відсутністю захворювань, а й оптимальним функціонуванням організму на клітинному рівні. У цьому контексті велике значення мають ферменти, які беруть участь у метаболічних процесах людини. Особливо важливою є роль аланінамінотрансферази (АЛТ) і аспартатамінотрансферази (АСТ) у метаболізмі, оскільки вони є ключовими ферментами для функціонування печінки, серця та інших органів.

Дослідження в галузі біохімії та медицини дозволяють розкрити важливу роль цих ферментів у метаболічних процесах організму людини. Розуміння механізмів дії АЛТ і АСТ, їх взаємодія з іншими компонентами системи метаболізму дозволяє не лише ефективно діагностувати захворювання, а й розробляти нові методи лікування та профілактики.

У рамках даної дипломної роботи буде проведено аналіз участі аланінамінотрансферази і аспартатамінотрансферази у метаболізмі людини з огляду на їх біохімічну природу, функціональне призначення та клінічне значення. Дослідження цих ферментів може сприяти покращенню діагностики та лікування ряду захворювань, що пов'язані з порушеннями метаболічних процесів у людини.

1.1 Амінотрансферази як маркери функціонального стану печінки

1.1.1 Структура та функції аланінамінотрансферази

Аланінамінотрансфераза складається з одного поліпептидного ланцюга, довжина якого приблизно 495 амінокислот. Фермент має специфічний активний центр, де відбувається взаємодія з субстратами (аланіном та α -кетоглутаровою кислотою). У активному центрі знаходиться кофермент – піридоксальфосфат (PLP), похідне вітаміну B6, яке бере участь у реакціях[1].

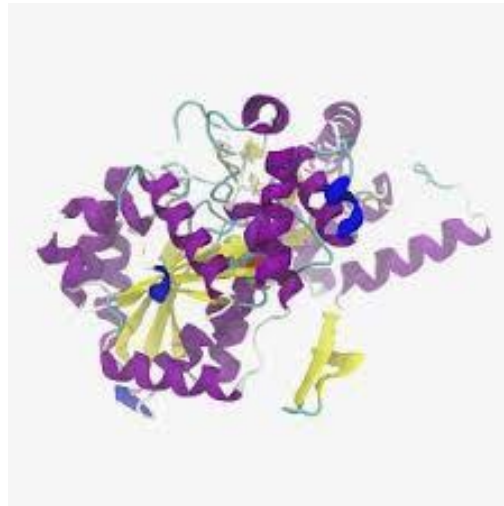


Рис. 1.1 3Д структура аланінамінотрансферази

Структурні особливості АЛТ:

1. Послідовність амінокислот: АЛТ складається з ланцюжка амінокислот, що формують його первинну структуру. Порядок амінокислот визначає його функцію та структуру.

2. Третинна структура: Ця послідовність амінокислот утворює специфічну тривимірну структуру (третинну структуру), яка є важливою для активності ферменту.[2] Ця структура забезпечується взаємодією між амінокислотними залишками, такими як водневі зв'язки, іонні взаємодії та гідрофобні взаємодії.

3. Доменна організація: АЛТ зазвичай складається з двох доменів: N-термінального та С-термінального доменів. Ці домени взаємодіють один з одним, утворюючи активний центр ферменту, де відбувається каталітична реакція.

4. Активний центр: У структурі АЛТ є специфічний активний центр, де відбувається каталітична реакція. Цей центр містить піридоксаль-5-фосфат (PLP) як коензим, який є необхідним для реакції перенесення аміногрупи[3].

5. Кoenзим: PLP — це форма вітаміну B6, яка є необхідним кофактором для АЛТ. Він допомагає стабілізувати проміжні речовини та забезпечує реакційну здатність під час перенесення аміногрупи.

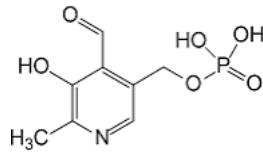


Рис. 1.2 Структурна формула піродоксальфосфату

6. Димеризація: АЛТ зазвичай існує у вигляді димеру, тобто складається з двох ідентичних субодиниць, які взаємодіють один з одним.

Такий організаційний рівень структури АЛТ дозволяє йому виконувати свою функцію в реакції трансамінації (Рис.1.3), забезпечуючи ефективний метаболізм амінокислот та здоров'я печінки та інших тканин.

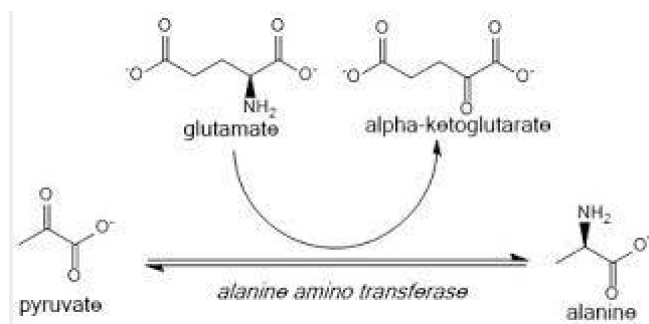


Рис. 1.3 Реакція трансамінації

Найбільші концентрації АЛТ виявлені в печінці, де його вміст приблизно в 3000 разів перевищує концентрацію у сироватці. Таким чином, у разі виникнення ушкоджень клітин печінки різного походження, відбувається вивільнення АЛТ, яке потрапляє у сироватку крові. Аланінамінотрансфераза, яка потрапляє у кров, переробляється в печінці; період її напіввиведення становить 47 ± 10 годин, що значно перевищує термін напіввиведення АСТ (17 ± 5 годин).[4]

Аланінамінотрансфераза (АЛТ) — це фермент, який бере участь у метаболізмі амінокислот, зокрема в реакції трансамінації. Це важлива біохімічна реакція, яка відбувається в клітинах організму, особливо в печінці.

Функції АЛТ можна поділити на:

Каталіз трансамінації:

- Основна функція АЛТ — каталіз реакції перенесення аміногрупи між амінокислотами.

- АЛТ переносить аміногрупу від амінокислоти аланіну до α -кетоглутарату, утворюючи піруват і глутамат.

- Ця реакція має важливе значення для підтримки балансу азоту в організмі та метаболізму амінокислот.[5,6]

Метаболізм амінокислот:

- АЛТ відіграє важливу роль у метаболізмі аланіну, який є однією з основних амінокислот, залучених у обмін речовин.[7]

- Утворення пірувату та глутамату є ключовими кроками у метаболізмі вуглеводів та амінокислот, забезпечуючи енергію та необхідні молекули для клітин.

Печінкова функція:

- АЛТ переважно присутня в печінці і бере участь у метаболічних процесах цього органу.

- Завдяки високій концентрації АЛТ у печінці, підвищення її рівня в крові часто свідчить про пошкодження печінки.

Біомаркер здоров'я печінки:

- АЛТ використовується як біомаркер для оцінки здоров'я печінки. Підвищені рівні АЛТ у крові можуть бути ознакою печінкових захворювань, таких як гепатит, цироз, токсичне ураження та інші.[8]

Утворення пірувату:

- Утворений піруват може бути використаний клітинами для отримання енергії через гліколіз або спрямований на утворення глюкози в процесі глюконеогенезу.[9]

Синтез глутамату:

- Глутамат, утворений у результаті реакції трансамінації, може бути використаний для синтезу інших амінокислот, які є важливими для різних функцій організму.

1.1.2 Біологічна роль аспартатамінотрансферази у організмі

Аспартатамінотрансфераза (АСТ), також відома як глутамат-оксиалоацетат-трансаміназа (ГОТ), відіграє ключову роль у метаболізмі

амінокислот. Основні аспекти її біологічної ролі включають каталіз трансамінації між аспаратом і α -кетоглутаратом, що сприяє обміну амінокислот. АСТ також важлива для циклу Кребса, де вона забезпечує утворення оксалоацетату, та для глюконеогенезу, який дозволяє організму виробляти глюкозу з не-вуглеводних джерел. Крім того, АСТ широко поширена у різних тканинах, зокрема в печінці та серці, і використовує пірідоксаль-5'-фосфат (PLP) як коензим для своєї діяльності. [10] Високий рівень АСТ у крові може свідчити про пошкодження тканин, зокрема печінки та серця, і відтак є важливим показником їх здоров'я.

Нижче буде розписано більш детально:

1. Каталіз трансамінації: АСТ каталізує реакцію перенесення аміногрупи між амінокислотою аспаратом і α -кетоглутаратом.[11] Ця реакція є ключовою для метаболізму амінокислот, оскільки дозволяє їм взаємодіяти та перетворюватися одна в одну, що є важливим для балансу амінокислот в організмі.

2. Роль у циклі Кребса: Утворений у результаті реакції АСТ оксалоацетат є важливим проміжним продуктом циклу Кребса (цикл трикарбонових кислот), який є ключовим для генерації енергії в клітинах у вигляді АТФ.

3. Участь у глюконеогенезі: Оксалоацетат також використовується у процесі глюконеогенезу, під час якого організм виробляє глюкозу з не-вуглеводних джерел, таких як амінокислоти та гліцерол.[12]

4. Розповсюдження в організмі: АСТ присутня у багатьох тканинах організму, включаючи печінку, серце, м'язи, нирки та мозок[13]. Висока концентрація АСТ у серцевому м'язі та печінці робить її важливим індикатором здоров'я цих органів.

5. Роль у діагностиці захворювань: Підвищення рівня АСТ у крові може бути свідченням пошкодження тканин, особливо печінки або серця. Високий рівень АСТ може вказувати на гострий інфаркт міокарда або гепатит.[14]

6. Використання коензиму: АСТ використовує пірідоксаль-5'-фосфат (PLP) як коензим для здійснення реакції трансамінації, що є необхідним для її каталітичної активності.[15]

Таким чином, АСТ виконує важливі біологічні функції у метаболізмі амінокислот, циклі Кребса та інших метаболічних шляхах. Його активність та рівень у крові є важливими показниками здоров'я різних органів, особливо печінки та серця.

1.2 Участь креатиніну у метаболічних процесах в організмі

Креатинін є одним з ключових метаболітів, що утворюється у м'язових тканинах як результат метаболізму креатину. Він відіграє важливу роль у різних аспектах фізіології та метаболізму організму, зокрема у функціонуванні нирок, енергетичному обміні та загальному обміні речовин.[16]

Індикатор функції нирок

Креатинін є кінцевим продуктом обміну креатину, який утворюється у м'язових тканинах. Він постійно виробляється та виділяється через нирки у вигляді сечі. [17]Рівень креатиніну в крові є важливим показником функції нирок. Звичайно, нормальні рівні креатиніну вказують на ефективну роботу нирок, тоді як підвищені рівні можуть свідчити про порушення функції нирок, такі як ниркова недостатність.[18]. Нормальні показники креатиніну в плазмі крові дорослих: Жінки: 44—97 мкмоль/л (5,0-11,0 мг/л); Чоловіки: 62—115 мкмоль/л (7,0-13,0 мг/л).

Енергетичний метаболізм

Креатинін використовується як джерело енергії у м'язах. У м'язових клітинах креатинфосфат перетворюється на креатин та фосфат за участю ферменту креатинкінази. [19]Ця реакція звільнює енергію, яка використовується для сильних м'язових скорочень.(Рис.1.4)Креатинін має важливе значення для підтримки фізичної активності та м'язового розвитку.[20]

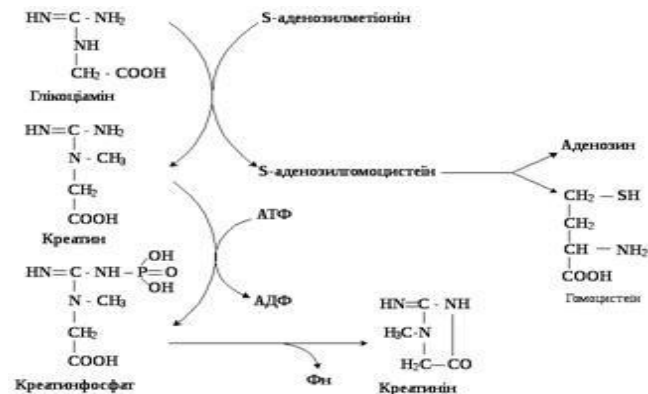


Рис.1.4 Реакція перетворення глікоціаміну до креатину та креатиніну

Загальний обмін речовин

Креатинін є складовою частиною загального обміну речовин у тілі. Після утворення у м'язових тканинах він виділяється через нирки. Рівень креатиніну в крові є важливим показником загального обміну речовин та може бути використаний для оцінки функціонування м'язів та нирок. Креатинін також може служити як індикатор загального стану здоров'я організму.[21]

Креатинін відіграє важливу роль у різних метаболічних процесах організму, забезпечуючи енергію для м'язової діяльності та виступаючи як показник функції нирок та загального обміну речовин. Розуміння його ролі допомагає у лікуванні та діагностиці різних захворювань, пов'язаних з метаболізмом та функцією нирок.

1.3 Печінкові проби при здоровій вагітності

Печінкові проби включають різні біомаркери, такі як амінотрансферази (АЛТ і АСТ), алькалічну фосфатазу (АЛР) та білірубін. У здорової вагітної жінки можуть відбуватися зміни у рівнях цих біомаркерів через фізіологічні зміни, що відбуваються в організмі під час вагітності.[22]

Загалом, у здорових вагітних жінок може спостерігатися зростання рівнів амінотрансфераз (АЛТ і АСТ), особливо в другому та третьому триместрах, але ці зміни, зазвичай, залишаються в межах норми. Норма 5-30 МО/л. Амінотрансферази можуть збільшуватися внаслідок збільшеної активності м'язів або розширенням об'єму кровообігу під час вагітності[23]

Амінотрансферази (АЛТ і АСТ):

АЛТ (аланінамінотрансфераза) та АСТ (аспартатамінотрансфераза) - це ферменти, які зазвичай присутні в клітинах печінки та інших органах[24]. Підвищення рівня цих ферментів в крові може свідчити про пошкодження печінки або інших органів.

У здорових вагітних жінок може спостерігатися помірне зростання рівнів АЛТ і АСТ протягом вагітності, особливо в другому та третьому триместрах. [25]Це пов'язано з фізіологічними змінами, що відбуваються в організмі під час вагітності, такими як збільшення об'єму кровообігу та активності м'язів.[26]

Однак, зазвичай ці зміни залишаються в межах норми, і вони не вказують на патологічні стани. Лише значне підвищення рівнів АЛТ і АСТ може вказувати на можливі проблеми з функцією печінки, які вимагають уваги лікаря.[27]

1.4 Зміна біохімічних показників при прееклампсії

Прееклампсія - це серйозний стан, який виникає під час вагітності і характеризується високим артеріальним тиском та наявністю протеїну в сечі. Це може призвести до ускладнень для матері та плода, а також викликати HELLP-синдром. Зміни біохімічних показників під час прееклампсії можуть бути наступними:

1. *Підвищений артеріальний тиск:* В одному з перших симптомів прееклампсії - підвищення артеріального тиску (зазвичай більше 140/90 мм рт. ст.). Це може вказувати на збільшення опірності судин та зіткнення з недостатньою перфузією органів.

2. *Протеїнурія:* Один з головних ознак прееклампсії - наявність білка у сечі, яка виявляється під час тестування сечі. Це може вказувати на ураження нирок та може бути індикатором пошкодження плода.

3. *Зміни у рівнях печінкових ферментів:* При прееклампсії може спостерігатися підвищення рівня аланінамінотрансферази (АЛТ) та аспартатамінотрансферази (АСТ) в крові, що може вказувати на пошкодження печінки.

4. *Тромбоцитопенія:* Прееклампсія може призвести до зниження кількості тромбоцитів в крові, що може призвести до збільшеного ризику кровотеч та інших ускладнень.

5. *Зміни рівня креатиніну:* У разі ураження нирок, може відзначитися підвищення рівня креатиніну в крові, що може вказувати на погіршення функції нирок.

6. *Гіперурикемія:* Прееклампсія може також супроводжуватися збільшенням рівня сечової кислоти в крові (гіперурикемія).

Ці зміни є характерними для прееклампсії і можуть вказувати на ускладнення вагітності, які вимагають уважного медичного спостереження та можливого лікування для підтримки здоров'я матері та плода.

При преєклампсії може відзначитися зміна рівня печінкових ферментів, таких як аланінамінотрансфераза (АЛТ) та аспартатамінотрансфераза (АСТ). Ці зміни можуть свідчити про ураження печінки та інші ускладнення, пов'язані з цим станом.

Підвищення рівня АЛТ (аланінамінотрансферази): АЛТ є ферментом, який зазвичай присутній у високих концентраціях в клітинах печінки. Підвищення рівня АЛТ у крові може вказувати на пошкодження печінки. При преєклампсії це може бути пов'язано з гепатоцитарною дисфункцією або гепатоцитарним некрозом, які можуть виникати у зв'язку з недостатнім кровопостачанням до печінки, оксидативним стресом або запаленням.

Підвищення рівня АСТ (аспартатамінотрансферази): АСТ також присутня в печінці, але також може бути знайдена в інших тканинах, таких як м'язи та серце. Підвищення рівня АСТ у крові також може вказувати на пошкодження печінки, а також на ураження серця, наприклад, при гіпертензивній або ішемічній хворобі серця, що може виникати внаслідок преєклампсії.

При преєклампсії також може відзначитися зміна рівня креатиніну в крові, що є показником функції нирок та може бути важливим клінічним індикатором ураження нирок у цьому стані.

1. Підвищений рівень креатиніну: При преєклампсії може відбуватися погіршення функції нирок, що призводить до зниження кліренсу креатиніну і підвищення його рівня в крові. Це може виникати через зменшення кровопостачання до нирок, запалення ниркових тканин або інші фактори, які впливають на ниркову функцію.

2. Зниження кліренсу креатиніну: Креатинін - це продукт метаболізму креатину, який утворюється у м'язових тканинах та виводиться з організму через нирки. Знижений кліренс креатиніну може вказувати на зменшену фільтраційну функцію нирок, що може бути результатом ураження ниркових клітин або зменшення кровопостачання до нирок.

II МАТЕРІАЛИ ТА ОБЛАДНАННЯ

Аналіз проводили на даних, наданих мені результатів аналізів здорових вагітних, та вагітних, які мають діагноз преєклампсію. Дана патологія відноситься до ускладнень вагітностей та спостерігається наприкінці другого та всього третього триместра.

Визначення аспаратамінотрансфери

Матеріали та реагенти:

1. Буферний розчин (pH 7.4) (0.1 М фосфатний буфер. Приготувати, розчиняючи відповідну кількість натрійфосфату ($\text{Na}_2 \text{HPO}_4$) та калійфосфату ($\text{KH}_2 \text{PO}_4$) у дистильованій воді. Відрегулювати pH до 7.4.)
2. Аспартат: (0.2 М розчин L-аспарагінової кислоти ($\text{C}_4 \text{H}_7 \text{NO}_4$))
3. α -кетоглутарат: 2 мМ розчин α -кетоглутарової кислоти ($\text{C}_5 \text{H}_6 \text{O}_5$)
4. Піридоксальфосфат (PLP): 0.1 мМ розчин піридоксальфосфату ($\text{C}_8 \text{H}_{10} \text{NO}_6 \text{P}$)
5. 2,4-Дінітрофенілгідрозин (DNPH): 0.05% розчин у 1 М HCl
6. NADH: 0.15 мМ розчин NADH
7. Лактатдегідрогеназа (LDH): Комерційний препарат LDH
8. Альдегіддегідрогеназа (ALDH): Комерційний препарат ALDH
9. Дистильована вода.

Приготування робочих розчинів:

1. Субстратний розчин: змішати 0.2 М розчин аспартату, 2 мМ розчин α -кетоглутарату та 0.1 мМ розчин PLP.
2. Розчин NADH: 0.15 мМ розчин NADH у 0.1 М фосфатному буфері.

Хід роботи:

Підготовка проб: Взяти 0.1 мл досліджуваного зразка (сироватка, плазма, або тканинний екстракт).

1. Інкубація з субстратом: Додати 0.5 мл субстратного розчину до пробірки з зразком. Інкубувати протягом 30 хвилин при 37°C .
2. Зупинка реакції: Додати 0.5 мл 2,4-Дінітрофенілгідрозину (DNPH) для зупинки реакції. Інкубувати протягом 20 хвилин при кімнатній температурі.

3. Колориметричне визначення: Додати 5 мл 0.4 М NaOH.
Інкубувати протягом 10 хвилин при кімнатній температурі.

4. Вимірювання активності: Виміряти абсорбцію утвореного забарвленого продукту при 505 нм.

Обчислення активності:

1. Стандартна крива:

- Підготувати серію стандартних розчинів з відомою концентрацією α -кетоглутарату.
- Обробити кожний стандарт відповідно до описаної вище методики.
- Побудувати стандартну криву залежності абсорбції від концентрації α -кетоглутарату.

2. Розрахунок:

- Визначити концентрацію α -кетоглутарату у пробі за стандартною кривою.
- Обчислити активність АСТ у зразку (U/L), використовуючи відповідну формулу з урахуванням об'єму проби та розведення.

Примітки:

- Технічні умови: Всі вимірювання проводити при кімнатній температурі.
- Безпека: При роботі з хімічними речовинами використовувати засоби індивідуального захисту (рукавички, окуляри).
- Контроль якості: Використовувати контрольні зразки для перевірки точності та відтворюваності результатів.

Ця методика базується на класичному колориметричному визначенні активності ферментів та забезпечує високу точність і чутливість при визначенні активності аспартатамінотрансферази у біологічних зразках.

Визначення активності аланінамінотрансферази (АЛТ)

Матеріали та реагенти:

1. Буферний розчин (pH 7.4): 0.1 М фосфатний буфер. Приготувати, розчиняючи відповідну кількість натрійфосфату ($\text{Na}_2 \text{HPO}_4$) та калійфосфату ($\text{KH}_2 \text{PO}_4$) у дистильованій воді. Відрегулювати pH до 7.4.
2. Аланін: 0.2 М розчин L-аланіну ($\text{C}_3 \text{H}_7 \text{NO}_2$)
3. α -кетоглутарат: 2 мМ розчин α -кетоглутарової кислоти ($\text{C}_5 \text{H}_6 \text{O}_5$)
4. Піридоксальфосфат (PLP): 0.1 мМ розчин піридоксальфосфату ($\text{C}_8 \text{H}_{10} \text{NO}_6 \text{P}$)
5. 2,4-Дінітрофенілгідрозин (DNPH): 0.05% розчин у 1 М HCl
6. NADH: 0.15 мМ розчин NADH
7. Лактатдегідрогеназа (LDH): Комерційний препарат LDH
8. Альдегіддегідрогеназа (ALDH): Комерційний препарат ALDH
9. Дистильована вода.

Приготування робочих розчинів:

1. Субстратний розчин: змішати 0.2 М розчин аланіну, 2 мМ розчин α -кетоглутарату та 0.1 мМ розчин PLP.
2. Розчин NADH: 0.15 мМ розчин NADH у 0.1 М фосфатному буфері.

Хід роботи :

1. Підготовка проб:
 - Взяти 0.1 мл досліджуваного зразка (сироватка, плазма або тканинний екстракт).
2. Інкубація з субстратом:
 - Додати 0.5 мл субстратного розчину до пробірки з зразком.
 - Інкубувати протягом 30 хвилин при 37°C.
3. Зупинка реакції:

- Додати 0.5 мл 2,4-Дінітрофенілгідразину (DNPH) для зупинки реакції.
- Інкубувати протягом 20 хвилин при кімнатній температурі.
- 4. Колориметричне визначення:
 - Додати 5 мл 0.4 М NaOH.
 - Інкубувати протягом 10 хвилин при кімнатній температурі.
- 5. Вимірювання активності:
 - Виміряти абсорбцію утвореного забарвленого продукту при 505 нм.

Обчислення активності:

1. Стандартна крива:
 - Підготувати серію стандартних розчинів з відомою концентрацією α -кетоглутарату.
 - Обробити кожний стандарт відповідно до описаної вище методики.
 - Побудувати стандартну криву залежності абсорбції від концентрації α -кетоглутарату.
2. Розрахунок:
 - Визначити концентрацію α -кетоглутарату у пробі за стандартною кривою.
 - Обчислити активність АЛТ у зразку (U/L), використовуючи відповідну формулу з урахуванням об'єму проби та розведення.

Примітки:

- Технічні умови: Всі вимірювання проводити при кімнатній температурі.
- Безпека: При роботі з хімічними речовинами використовувати засоби індивідуального захисту (рукавички, окуляри).

- Контроль якості: Використовувати контрольні зразки для перевірки точності та відтворюваності результатів.

Ця методика базується на класичному колориметричному визначенні активності ферментів та забезпечує високу точність і чутливість при визначенні активності аланінамінотрансфери у біологічних зразках

Визначення концентрації креатиніну в сироватці крові

Матеріали та реагенти:

1. Пікратний розчин:
 - 0.04 М пікринова кислота ($C_6H_2(NO_2)_3OH$)
 - Розчинити відповідну кількість пікринової кислоти в дистильованій воді.
2. Лужний розчин:
 - 0.75 М гідроксид натрію (NaOH)
 - Розчинити відповідну кількість NaOH в дистильованій воді.
3. Буферний розчин (pH 7.4):
 - 0.1 М фосфатний буфер
 - Приготувати, розчиняючи відповідну кількість натрійфосфату (Na_2HPO_4) та калійфосфату (KH_2PO_4) у дистильованій воді. Відрегулювати pH до 7.4.
4. Стандартний розчин креатиніну:
 - Підготувати стандартний розчин креатиніну відомої концентрації, наприклад, 2 мг/дл.
5. Дистильована вода.

Приготування робочих розчинів:

1. Реагент для реакції з пікриновою кислотою (реагент Яффе):
 - Змішати 0.04 М пікратний розчин та 0.75 М лужний розчин у співвідношенні 1:1 безпосередньо перед використанням.

Хід роботи :

1. Підготовка проб:
 - Взяти 0.1 мл досліджуваного зразка (сироватка або плазма крові).
2. Додавання реагенту:
 - Додати 1 мл реагенту для реакції з пікриновою кислотою (реагент Яффе) до пробірки з зразком.
3. Інкубація:
 - Інкубувати суміш протягом 20 хвилин при кімнатній температурі.
4. Вимірювання абсорбції:
 - Виміряти абсорбцію утвореного забарвленого комплексу при 500 нм.

Обчислення концентрації креатиніну:

1. Стандартна крива:
 - Підготувати серію стандартних розчинів креатиніну різної концентрації (наприклад, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 мг/дл).
 - Обробити кожний стандартний розчин відповідно до описаної вище методики.
 - Побудувати стандартну криву залежності абсорбції від концентрації креатиніну.
2. Розрахунок:
 - Визначити концентрацію креатиніну в пробі за стандартною кривою.
 - Результати виразити в мг/дл.

Примітки:

- Технічні умови: Всі вимірювання проводити при кімнатній температурі.
- Безпека: При роботі з хімічними речовинами використовувати засоби індивідуального захисту (рукавички, окуляри).

- Контроль якості: Використовувати контрольні зразки для перевірки точності та відтворюваності результатів.

Ця методика базується на класичній реакції Яффе, яка є загальноприйнятим методом визначення концентрації креатиніну в сироватці крові та забезпечує високу точність і відтворюваність результатів.

РОЗДІЛ III. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Прееклампсія є одним з найсерйозніших ускладнень вагітності, яке загрожує як матері, так і плоду, і часто виникає у третьому триместрі. Це захворювання характеризується високим артеріальним тиском та наявністю білка в сечі після 20 тижнів вагітності. За відсутності своєчасної діагностики та лікування прееклампсія може призвести до тяжких ускладнень, таких як еклампсія, органна недостатність або навіть перинатальна смертність.

Рання і точна діагностика прееклампсії є надзвичайно важливою для запобігання ускладненням. У сучасній медицині значну увагу приділяють пошуку ефективних біохімічних маркерів, які дозволяють виявити прееклампсію на ранніх стадіях розвитку. Важливим аспектом у цьому напрямі є скринінг у

третьому триместрі вагітності, коли ризики розвитку прееклампсії стають найбільш високими.

У цій частині роботи ми розглянемо результати досліджень, присвячених виявленню і аналізу біохімічних маркерів, що використовуються для скринінгу прееклампсії. Ми звернемо увагу на АЛТ, АсАТ та креатинін, рівні яких значно змінюються у присутності цього патологічного стану.

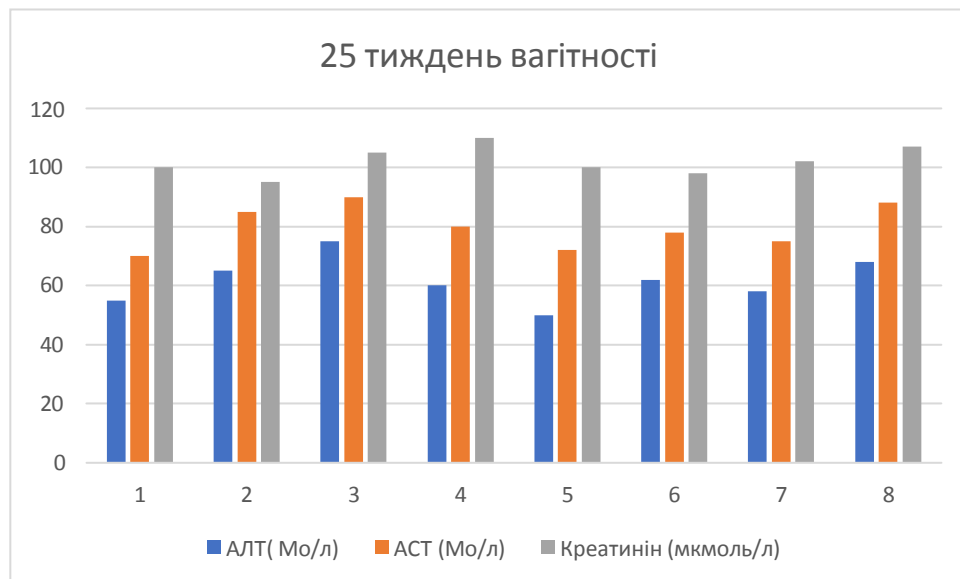


Рис 3.1(біохімічні показники на 25 тижні вагітності)

Прееклампсія є серйозним станом, що виникає після 20-го тижня вагітності і характеризується високим артеріальним тиском та ознаками пошкодження інших органів. Підвищення рівнів АЛТ (аланінамінотрансферази), АСТ (аспартатамінотрансферази) та креатиніну під час прееклампсії може свідчити про порушення функцій печінки і нирок. Ось детальний розгляд того, чому це відбувається і до яких наслідків може призвести.

Причини підвищення АЛТ та АСТ:

Печінкова дисфункція:

- При прееклампсії порушується мікроциркуляція в печінці, що призводить до пошкодження гепатоцитів (клітин печінки). Це вивільняє АЛТ і АСТ у кров.

- **Порушення функцій ендотелію, що вистилає кровоносні судини, призводить до збільшення проникності судин і ушкодження печінкових клітин. При здоровій вагітності норма даних показників становить – АлАТ, АсАТ до 31 Мо/л, креатиніну- 35-80 мкмоль/л. На рис.3.1 ми можемо побачити, що рівні Алт та Аст збільшуються у два рази(~50%). Це вже свідчить про незначне порушення печінки. Також якщо подивитися на креатинін, то він збільшується майже на 20%. Причини підвищення креатиніну:**

1. **Порушення ниркової функції:**

- **Прееклампсія викликає зниження кровотоку в нирках через спазм судин і порушення мікроциркуляції, що знижує їхню здатність до фільтрації.**
- **Пошкодження клубочкових капілярів може призвести до зниження клубочкової фільтрації, внаслідок чого рівень креатиніну в крові підвищується.**

2. **Затримка рідини та об'ємне навантаження:**

- **Прееклампсія супроводжується затримкою рідини, що може призводити до підвищення артеріального тиску і збільшення навантаження на нирки. Це знижує ефективність фільтраційного процесу і сприяє підвищенню рівня креатиніну. Тому, якщо не звертати увагу на ці симптоми, то вже на 30 тижні вагітності ці показники будуть значно вищими і матимуть більшу загрозу, як для матері так і для плода.**

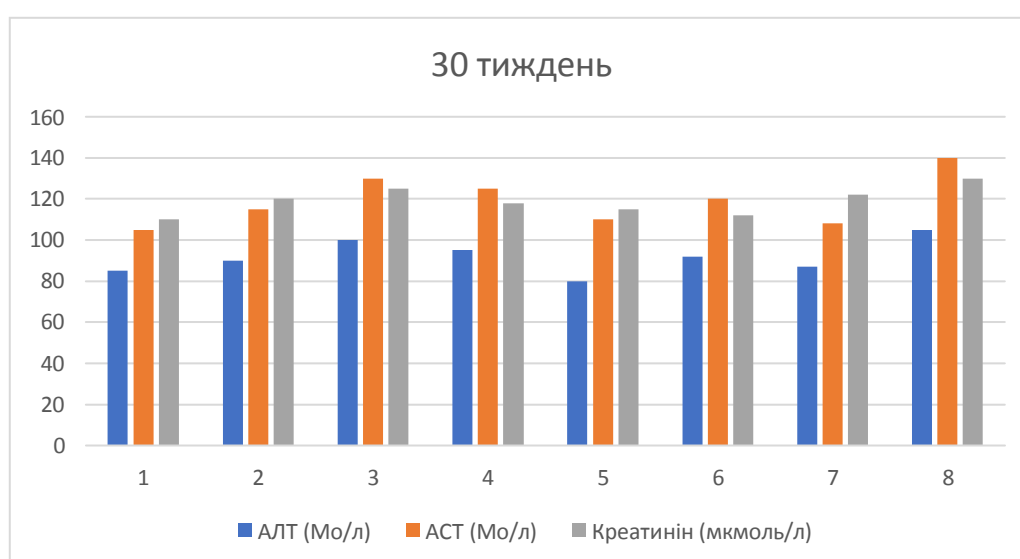


Рис 3.2 (АлАТ, АсАТ та креатинін при прееклампсії на 30 тижні вагітності)

Прееклампсія може прогресувати та погіршуватися з часом, що відображається на рівнях ключових біохімічних маркерів, таких як АЛТ (аланінамінотрансфераза), АСТ (аспартатамінотрансфераза) і креатинін.

30 тижнів вагітності(рис.3.2)

1.АЛТ і АСТ:

- На цьому етапі при прееклампсії рівні АЛТ і АСТ можуть починати зростати, вказуючи на початкові або вже прогресуючі пошкодження печінки.
- Це підвищення може бути помірним, але вказувати на дисфункцію печінкових клітин через недостатнє кровопостачання та гіпоксію.
- Легка чи помірна прееклампсія може ще не викликати значного підвищення ферментів, але їхні рівні можуть бути на верхній межі норми або трохи вищими. На графіку ми бачимо що печінкові проби підвищуються у чотири рази(АСТ у двічі)

2.Креатинін:

- Рівень креатиніну може залишатися у межах норми або лише незначно підвищуватися. Це свідчить про початкове порушення ниркової функції, але ще без значного ураження. Як бачимо по графіку даний показник збільшився на 40%.
- У цей час може з'явитися незначна протеїнурія, що вказує на раннє залучення нирок у патологічний процес.

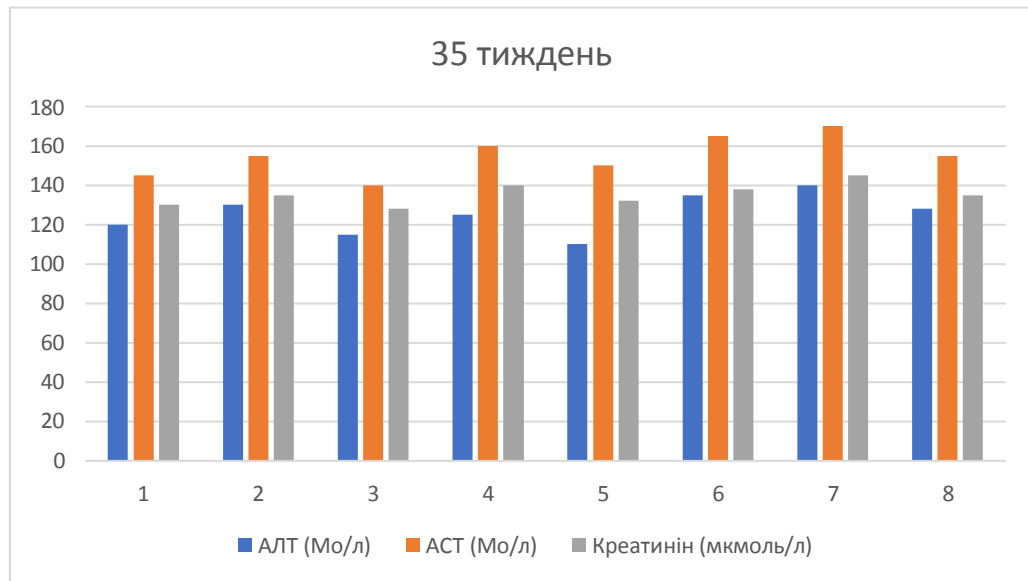


Рис 3.3(Біохімічні показники при преєклампсії на 35 тиждні вагітності)

35 тижнів вагітності:

1. АЛТ і АСТ:

- Якщо преєклампсія прогресує, рівні АЛТ і АСТ можуть суттєво підвищитися, свідчаючи про більш виражене пошкодження печінки.
- Гіпоксія печінки та пошкодження судин можуть призводити до більшого вивільнення ферментів у кров.
- У важких випадках можливий розвиток синдрому HELLP, що характеризується різким підвищенням цих ферментів через масивне пошкодження гепатоцитів.

2. Креатинін:

- З ростом ступеня преєклампсії рівень креатиніну може починати суттєво підвищуватися, що свідчить про значне порушення функції нирок.
- Прогресування протеїнурії та зниження клубочкової фільтрації можуть вказувати на серйозні ураження нирок.
- Ниркова недостатність може призвести до накопичення токсичних метаболітів, що потребує негайного медичного втручання.

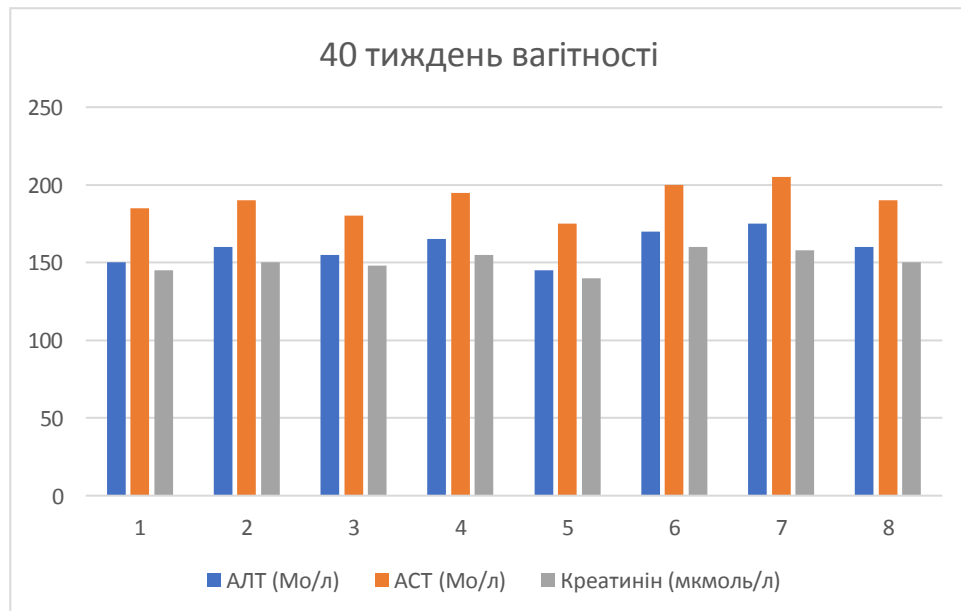


Рис 3.4(Печінкові проби та креатинін на 40 тижні вагітності при прееклампсії)

40 тижнів вагітності:

1. АЛТ і АСТ:

- На цьому етапі прееклампсія може досягти свого піку, якщо не було своєчасного лікування або розродження.
- Рівні АЛТ і АСТ можуть значно перевищувати норму, що вказує на серйозне пошкодження печінки. Це може супроводжуватися клінічними проявами, такими як біль у верхній правій частині живота, нудота, блювання.
- Синдром HELLP на цьому етапі може бути пов'язаний з високим ризиком розриву печінки або масивної кровотечі.

2. Креатинін:

- Значне підвищення рівня креатиніну на цьому терміні вагітності свідчить про важке порушення ниркової функції, яке може призвести до гострої ниркової недостатності.
- Серйозне зниження фільтраційної здатності нирок може бути пов'язане з олігурією (зменшенням виділення сечі) або анурією (відсутністю виділення сечі), що вимагає негайного медичного втручання.

- Тяжка преєклампсія може вимагати невідкладного розродження, незалежно від терміну вагітності, для збереження життя матері та плода.

Наслідки для матері та плода:

1. Для матері:

- Прогресуюче підвищення рівнів АЛТ, АСТ і креатиніну вказує на погіршення стану і підвищення ризику серйозних ускладнень, таких як печінкова недостатність, ниркова недостатність, кровотечі та набряк мозку.

- Без належного медичного втручання ці ускладнення можуть становити загрозу для життя матері.

2. Для плода:

- Підвищення рівнів цих біомаркерів відображає погіршення стану матері, що може призвести до недостатнього кровопостачання і харчування плода через порушення функції плаценти.

- Ризик внутрішньоутробної гіпоксії та затримки росту збільшується, що може призвести до потреби в терміновому розродженні для збереження життя дитини.

Діагностика та лікування:

1. Моніторинг біомаркерів:

- Регулярний контроль рівнів АЛТ, АСТ, креатиніну та протеїнурії для оцінки прогресування преєклампсії.

- Вимірювання артеріального тиску та проведення ультразвукового дослідження для оцінки стану плаценти та плода.

2. Медикаментозна терапія:

3. Розродження:

- У разі важкої преєклампсії може бути необхідне термінове розродження для збереження життя матері та плода.

Висновок:

Преєклампсія є серйозним ускладненням вагітності, яке вимагає ретельного медичного спостереження та своєчасного втручання. Розуміння її

біохімічних аспектів дозволяє краще діагностувати та контролювати цей стан, що є критично важливим для збереження здоров'я матері та дитини.

ВИСНОВКИ

1. Критичність контролю біохімічних показників:

Регулярний моніторинг рівнів АЛТ (аланінамінотрансфери), АСТ (аспартатамінотрансфери) та креатиніну під час вагітності є необхідним для раннього виявлення порушень функцій печінки і нирок. Підвищення цих показників може свідчити про прогресування прееклампсії та необхідність негайного втручання.

2. Динаміка змін біохімічних маркерів:

На різних етапах вагітності (30, 35, 40 тижнів) підвищення рівнів АЛТ, АСТ і креатиніну може вказувати на різні ступені ураження органів і тяжкість прееклампсії. Важливо відслідковувати ці зміни, оскільки прогресування прееклампсії може призвести до серйозних ускладнень як для матері, так і для плода.