

Федеральное государственное автономное  
образовательное учреждение высшего образования  
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Институт фундаментальной биологии и биотехнологии

Кафедра медицинской биологии

УТВЕРЖДАЮ  
Заведующий кафедрой

\_\_\_\_\_ Е.И. Шишацкая

« » июня 2021 г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

06.03.01 – Биология

Показатели ответа острой фазы воспаления при патологических  
состояниях различного генеза

Научный руководитель \_\_\_\_\_доц., канд. биол. наук Ф.А. Гершкорон

Выпускник \_\_\_\_\_ Е.В. Михайлова

Красноярск 2021

## Содержание

Введение .....	4
1 Обзор литературы .....	6
1.1 Ответ острой фазы воспаления .....	6
1.2 Острофазные белки .....	10
1.2.1 С-реактивный протеин .....	11
1.2.2 Церулоплазмин .....	13
1.3 Гипоталамо-гипофизарная система .....	14
1.4 Ишемическая болезнь сердца .....	<b>Ошибка! Закладка не определена.</b>
2 Материалы и методы исследования .....	18
2.1 Определение церулоплазмينا по методу Равина .....	18
2.2 Определение С-реактивного белка методом латекс-агглютинации ....	18
2.3 Определение тироксина иммуноферментным анализом .....	22
2.4 Определения эстрадиола иммуноферментным анализом .....	<b>Ошибка!</b>
<b>Закладка не определена.</b>	
3 Результаты исследования и их обсуждения .....	27
Заключение и выводы .....	31
Список использованных источников .....	32

## Реферат

Бакалаврская работа по теме «Показатели ответа острой фазы воспаления при патологических состояниях различного генеза» содержит 37 страниц текстового документа, 1 таблицу, 7 рисунков и 40 использованных источников.

Ключевые слова: ишемическая болезнь сердца, острая фаза воспаления, белки острой фазы, С-реактивный белок, лейкоцитарная формула, церулоплазмин, тироксин, эстрадиол.

Целью данной работы стало исследование взаимосвязи между секрецией гормонов тироксина и эстрадиола и активацией острой фазы воспаления при ишемической болезни сердца.

Исходя из цели, были поставлены следующие задачи:

1. Определить уровень белков острой фазы, С-реактивного белка и церулоплазмينا, и провести подсчет общего содержания лейкоцитов и лейкоцитарной формулы у людей с ишемической болезнью сердца.

2. Исследовать содержание гормонов тироксина и эстрадиола при ишемической болезни сердца.

3. Оценить возможную физиологическую связь между секрецией гормонов тироксина и эстрадиола и активацией ответа острой фазы воспаления посредством проведения корреляционного анализа.

Рост заболеваемости ишемической болезнью сердца и высокой смертности от патологии делает актуальным исследование данной проблемы и поиск новых методов ранней диагностики и лечения.

## Введение

Ишемическая болезнь сердца (ИБС) - это комплексное заболевание со стороны сердечно-сосудистой системы, характеризующееся недостаточностью поступления в миокард крови, что в свою очередь, приводит к дефициту кислорода и последующей ишемии.

Чаще всего в основе патогенеза ИБС лежит сужение просвета коронарных артерий сердца, в результате появления в них атеросклеротических бляшек. В следствии стеноза происходит абсолютная или относительная недостаточность коронарного кровоснабжения, которая проявляется в несоответствии между доставкой кислорода к миокарду и его потребностью в нем, что приводит к развитию ишемии. Болезнь проявляет себя в виде относительно кратковременного приступа боли за грудиной, который может происходить на фоне эмоциональной или физической нагрузки [1]. На сегодняшний день проблема ИБС имеет широкое распространение среди экономически развитых. Как указывается в данных Всемирной организации здравоохранения, наибольший рост смертности в период с 2000 г. пришелся именно на это заболевание и составляет 16% от общего числа смертей в мире [2]. В отчете Росстата за 2020 год указано, что в Российской Федерации смертность от болезней системы кровообращения составила 46,5 %, из которых на долю ИБС выпадает почти половина [3]. Проблема ИБС занимает одно из лидирующих позиций среди важнейших медицинских проблем XXI века, что делает актуальным исследование данной проблемы и поиск новых методов ранней диагностики и лечения.

Одной из основных причин возникновения и развития ИБС является атеросклероз коронарных артерий, которые снабжают кровью миокард, механизм развития которого - повышение уровня окислительных процессов [4]. В различных публикациях рассматривается связь гипоталамо-гипофизарной системы и острой фазы воспаления, но практически отсутствуют данные научной литературы о взаимосвязи между секрецией

гормонов тироксина и эстрадиола и активацией острой фазы воспаления.

Целью данной работы стало исследование взаимосвязи между секрецией гормонов тироксина и эстрадиола и активацией острой фазы воспаления при ишемической болезни сердца.

Исходя из цели, были поставлены следующие задачи:

1. Определить уровень белков острой фазы, С-реактивного белка и церулоплазмينا, и провести подсчет общего содержания лейкоцитов и лейкоцитарной формулы у людей с ишемической болезнью сердца.
2. Исследовать содержание гормонов тироксина и эстрадиола при ишемической болезни сердца.
3. Оценить возможную физиологическую связь между секрецией гормонов тироксина и эстрадиола и активацией ответа острой фазы воспаления посредством проведения корреляционного анализа.

# 1 Обзор литературы

## 1.1 Ответ строй фазы воспаления

Воспаление представляет собой комплекс реакций организма, который сформировался эволюционно, неся в себе, в первую очередь, защитно-приспособительную функцию в ответ на воздействие патогенных (флагогенных) факторов, с целью уничтожения и удаление флагогенного агента, его отграничение, а также, по возможности, устранение его последствий [17]. Поскольку воспаление является ответом на повреждение, то его причины- это повреждающие факторы, которые можно соотнести на три категории:

1) физические, включают высокую или низкую температуру, механическое/электромагнитное воздействие и т.д.;

2) химические, подразумевающие под собой кислоты, щелочи, окислители, восстановители, соли тяжелых металлов, лекарственные препараты, другие соединения органического и неорганического происхождения;

3) биологические, к ним относятся различные микроорганизмы, в том числе бактерии, вирусы, грибы, токсины, иммунные комплексы, биологически активные вещества.

Применительно к воспалению именно биологические факторы зачастую выступают на первое место [18]. В ряде случаев наблюдается также сочетание повреждающих факторов.

Вторым критерием классификации повреждающих факторов является их источник, в соответствии с чем данные факторы могут быть внешними (экзогенными) или внутренними (эндогенными).

Переходя к классификации следует указать, что существует множество классификационных признаков, по которым воспаление делится на

специфическое и неспецифическое в зависимости от этиологии (делится на инфекционное и неинфекционное), по течению на острое, подострое и хроническое, по типу тканевой реакции на нормергическое, гипоергическое и гиперергическое, и наконец по морфологическому типу воспаление подразделяют на экссудативное и пролиферативное.

В основе патогенеза в независимости от его этиологии и течения лежит последовательная смена трех фаз или стадий [5]:

- 1) альтерации
- 2) экссудации
- 3) пролиферации

Альтерация запускает воспаление, т.е. без стадии альтерации не будет и воспаления, она может быть первичная и вторичная, причем вторичная альтерация может развиваться и после прекращения воздействия повреждающего фактора, а степень ее интенсивности будет зависеть от интегральных систем организма и высвобождения медиаторов воспаления [6].

Во время стадии альтерации происходит высвобождение различных биологически активных веществ- медиаторов воспаления, которые ведут к развитию всех последующих изменений. При этом все медиаторы принято делить на плазменные (гуморальные) и клеточные [19]. Плазменные включают в себя различные кинины, систему комплимента и факторы свертывающей и противосвертывающей системы крови. В качестве основных эффектов выступает повреждение, активация лейкоцитов, изменения со стороны сосудов микроциркуляторного русла в виде вазодилатации и повышения сосудистой проницаемости. При этом среди клеточных медиаторов есть предсуществующие, т.е. те, которые уже есть в организме заранее, к ним относят вазоактивные амины (а именно серотонин и гистамин), а также лизосомальные ферменты в виде протеиназ, нейропептидов и нейромедиаторов [7]. Помимо этого, есть также и вновь синтезируемые медиаторы клеточного воспаления, которые включают

производные арахидоновой кислоты (главным образом простогландины, тромбоксаны и лейкотриены), различные фосфолипиды, монокины и лимфокины, включая интерлейкины и фактор некроза опухоли [19]. То есть главные процессы, происходящие во время стадии альтерации - это повышение сосудистой проницаемости, выход во внесосудистое русло составных частей плазмы крови, далее происходит эмиграция клеток крови и фагоцитоз, а также образование экссудата и воспалительного клеточного инфильтрата [6].

К основным компонентам воспалительного клеточного инфильтрата относятся [8]:

- нейтрофилы (основные клетки острого воспаления), задачей которых выступает осуществление процессов фагоцитоза и регуляция межклеточных взаимодействий в очаге воспаления. Данные клетки короткоживущие, небольшие по размерам, с характерными сегментированными ядрами (молодые палочкоядерные).

- базофилы, опосредуют реакции гиперчувствительности, воспаление при различных паразитарных инфекциях, а также являются источником высвобождения медиаторов воспаления (в частности гистамина). Это округлые клетки с относительно небольшим ядром и характерной базофильной зернистостью в цитоплазме.

- эозинофилы выполняют те же функции, что и базофилы, представляют собой небольшие клетки с характерно выраженной эозинофильной зернистостью в цитоплазме.

- макрофаги (основные клетки хронического воспаления, наряду с лимфоцитами)- это относительно крупные клетки со светлым ядром, выраженным ядрышком и большим объемом цитоплазмы, которая формирует выросты и придает макрофагам неправильную, отростчатую форму [8].

- лимфоциты (основные клетки адаптивного иммунного ответа), в своем многообразии популяции Т- и В-лимфоцитов отвечают за инициацию и



регуляцию как клеточного, так и гуморального звена иммунитета. Относительно небольшие клетки с округлым гиперхромным ядром и узким ободком цитоплазмы. Производные В-лимфоцитов (плазмобласты и плазмциты) отвечают за синтез иммуноглобулинов и характеризуются специфической морфологией- округлые клетки с плотным ядром с характерным перенуклеарным осветлением в цитоплазме за счет расширенных цистерн комплекса Гольджи и гранулярной ЭПС [20].

Вслед за инфильтрацией наступает завершающая фаза- пролиферации, которая характеризуется размножением клеток моноцитарно-макрофагального ряда, клеток мезенхимального происхождения или паренхиматозных клеток, в том числе эпителия. Помимо этого, в рамках пролиферации происходит дифференцировка и трансформация указанных клеток [7].

Исходы воспаления зависят от многих факторов, в том числе от того, где был локализован очаг, его распространенность, а также сам вид и течение воспаления. В качестве общих исходов можно выделить полную и неполную регенерацию структуры и функции, развитие осложнений, а также переход одного вида воспаления в другой.

Как правило, острая воспалительная реакция длится не долго, а развивается напротив- быстро. Сама по себе она не несет негативного эффекта по отношению к тканям, но часто к местному воспалению подключается и общая системная реакция организма [9].

Во время реакции воспаления осуществляется целый ряд изменений системы, который приводит к изменению метаболических и биосинтетических процессов, общему повышению температуры и увеличению проницаемости сосудов. Весь этот комплекс изменений в совокупности и составляет понятие острой фазы воспаления [17].

Развитие острой фазы в разной степени затрагивает все системы организма и характеризуется синтезом особых белков в печени, которые несут название белки острой фазы.

Продолжается острая фаза обычно не долго, в районе 7-12 дней и имеет направленность на помощь организму в восстановлении гомеостаза, отграничении очагов повреждения, а также создание условий для регенерации поврежденных органов и тканей [10].

## **1.2 Острофазные белки**

Белками острой фазы (БОФ) называют большую группу белков плазмы и сыворотки крови, которые синтезируются преимущественно клетками печени и выходят в кровяное русло с увеличенной концентрацией во время различных инфекций или повреждений организма, с целью ограничения повреждения тканей и увеличения скорости восстановления гомеостаза. Данная группа белков представляет собой в основном  $\alpha$ -глобулины с различной молекулярной массой (12-340 кДа) и выполняемыми функциями. По увеличенной концентрации БОФ можно судить о наличии не только явных патологических процессов, протекающих в организме, но и скрытых, таких как, например, развитие атеросклероза [11].

В качестве основных стимуляторов синтеза БОФ выступают цитокины (например, интерлейкин-6, интерлейкин-1, интерферон-7 и др.). Благодаря такому посредничеству, гепатоциты и другие клетки приступают к синтезу и секреции БОФ, что обеспечивает своевременный ответ при различных травмах и вторжениях чужеродных агентов, давая тем самым время на активацию общего иммунного ответа организма [22].

Различные инфекции, ожоги, злокачественные новообразования, воспалительные процессы, инфаркт миокарда, физические травмы и другие патологические состояния сопровождаются синтезом острофазных белков [23]. Некоторые белки острой фазы изменяют свою концентрацию в кровяном русле в том числе при состоянии беременности.

Чаще всего в литературе можно встретить классификацию белков острой фазы в зависимости от их изменения концентрации в ходе острой фазы, их подразделяют на следующие группы:

- В первую группу входят белки, которые являются наиболее чувствительными к воспалению и их концентрация увеличивается во много раз. В эту группу входят С-реактивный и амилоидный-А белки сыворотки крови [25].

- Во второй группе находятся те белки, уровень которых увеличивается в 2-5 раз, например, кислый  $\alpha$ 1-гликопротеид,  $\alpha$ 1-антитрипсин, фибриноген и другие.

- Уровень белков третьей группы увеличивается на 20-60% в сравнение с исходным. В данную группу входят церулоплазмин и С3-компонент комплемента.

- Концентрация белков четвертой группы либо не изменяется, либо увеличивается клинически незначительно, но они все равно участвуют в острофазном ответе. К этой группе относят  $\alpha$ 1- макроглобулин, гемопексин, амилоидный Р-белок и другие.

Помимо этого выделяют также группу так называемых «негативных» белков острой фазы, концентрация которых может снижаться на 30-60%. К таким белкам относят: альбумин, трансферрин,  $\alpha$ -липопротеид [24].

### **1.2.1 С-реактивный протеин**

С-реактивный белок (СРБ) известен как наиболее реактивный и чувствительный показатель процесса воспаления при бактериальных инфекциях, его концентрация увеличивается во много раз в течение 14-24 часов с начала активации острой фазы и при должном лечении пациентов снижается до референтных значений уже на 3-7 сутки [26].

Нормальным уровнем СРБ в сыворотке крови принято считать концентрацию не более 5 мг/л.

СРБ усиливает подвижность лейкоцитов. Связываясь с Т-лимфоцитами, он влияет на их функциональную активность, инициируя реакции преципитации, агглютинации, фагоцитоза и связывания комплемента. Повышение СРБ в крови начинается через 14-24 ч с момента начала воспаления и исчезает в ходе реконвалесценции. СРБ синтезируется в печени и состоит из 5 кольцевых субъединиц. В присутствии кальция СРБ связывает лиганды в полисахаридах микроорганизмов и вызывает их элиминацию [27].

СРБ человека представляет собой пентамер из идентичных глобулярных субъединиц, которые формируют кольцеобразную дисковую структуру. Белки с подобной структурой относят к семейству пентаксинов [28].

СРБ может существовать в виде двух форм, обладающих различными физико-химическими свойствами и функциональными активностями: нативной (пентамерной) и моносубъединичной (нео-СРБ). В организме нео-СРБ обнаруживают ассоциированным с поверхностью периферических лимфоцитов крови [12].

В настоящее время можно считать, что главной функцией СРБ у млекопитающих является иммунорегуляторная, изменяющая иммунные и неспецифические реакции и обеспечивающая кооперацию между ними. Тест количественного определения СРБ в крови получил широкое распространение в клинической лабораторной практике для диагностики и мониторинга при различных заболеваниях (в ревматологии, пульмонологии, гематологии, хирургии, кардиологии, урологии и др.), оценки активности воспалительного процесса, выбора адекватного лечения, контроля и прогноза болезни.

### 1.2.2 Церулоплазмин

Церулоплазмин (ЦП) – Cu-содержащая ферроксидаза (КФ.1.16.3.1.). ЦП является бета-глобулином и входит в состав альфа<sub>2</sub>-глобулиновой фракции плазмы крови. Молекулярная масса данного фермента колеблется у разных авторов в пределах 130-160 кДа, средняя – 132 кДа с учётом углеводного компонента. Полипептидная цепь образует 6 гомологичных доменов, с которыми связано 6 атомов Cu и один атом кальция. Данный фермент представлен 4-мя изоформами, две из которых в норме присутствуют у новорожденных и две – у взрослых [29].

На долю углеводов приходится 2-8% молекулярной массы, представлены они девятью «хвостами», состоящими из глюкозамина, глюкозы, галактозы, маннозы, мальтозы, фукозы, сиаловых кислот и т.д.

На долю Cu приходится 0,27-0,32% массы белка, при том, что ЦП содержит 90-95% всей меди сыворотки, причём Cu, переносимая ЦП, обладают разными спектральными свойствами, в зависимости от которых принадлежат к одной из трёх групп [30].

Известны две изоформы церулоплазмина человека, каждая из них - это сывороточный гликопротеин, представленный одной полипептидной цепью. Медь - это необходимый элемент для многих биологических процессов. Функциональный диапазон ее весьма широк - от влияния на экспрессию специфических генов до участия в построении кофакторных и специфических групп медьзависимых ферментов. Медь как микроэлемент необходима для роста организма, нормального функционирования иммунной системы, созревания клеток крови, метаболизма глюкозы и холестерина, развития и функционирования мозговой ткани, сокращения миокарда [31].

В плазме крови в норме ЦП содержится в концентрации 0,20-0,40 мг/мл. Увеличение синтеза ЦП наблюдается под действием интерлейкина-6. Повышение концентрации ЦП коррелирует с увеличением уровня других острофазовых 18 маркеров. Понижение уровня ЦП может быть обусловлено:

болезнью Вильсона-Коновалова (снижение синтеза фермента), синдромом Менкеса, ацерулоплазминемией, тяжелыми заболеваниями печени, снижением абсорбции меди (нарушения всасывания, недостаточность питания), потерями с общим белком плазмы при заболеваниях ЖКТ или нефротическом синдроме [32, 33].

Среди многообразных функций ЦП в настоящее время могут быть выделены следующие основные:

- 1) транспорт и регулирование оборота меди в крови и органах;
- 2) феррооксидазное действие и иммобилизация сывороточного железа;
- 3) антиоксидантное действие;
- 4) участие в острофазных реакциях;
- 5) повышает стабильность всех клеточных мембран;

Установлено, что уровень ЦП крови значительно изменяется при различных инфекционных заболеваниях; остром и хроническом воспалительных процессах, сопровождающихся деструктивными и некротическими изменениями в тканях; при злокачественном опухолевом росте, при наследственных ацерулоплазминемиях, при ишемической болезни сердца [33].

### **1.3 Гипоталамо-гипофизарная система**

Гипоталамо-гипофизарная система включает структуры как гипоталамуса, так и гипофиза и функционирует как нервная и эндокринная системы, участвуя в обеспечении регуляции важных вегетативных функций всего организма.

Гипоталамо-гипофизарная система условно подразделяется на следующие структуры: ножка гипофиза и передняя, вставочная, задняя доли.

Нейросекреторные клетки управляют работой всех трех долей гипоталамуса. Под воздействием секреторных клеток происходит синтез

гипоталамических и гипофизарных гормонов, которые влияют на секрецию тропных гормонов [13].

Согласно классическому определению эндокринной системы следует считать, что некоторые участки центральной нервной системы функционируют как эндокринные железы: они вырабатывают гормоны и выделяют их в кровь для доставки к органу-мишени. Одной из таких структур является гипофиз [35].

Достигая коры надпочечников, адренкортикотропный гормон стимулирует секрецию глюкокортикоидов (в частности, гормона кортизола), обеспечивая глюконеогенез, позволяющий энергетически насытить адаптивные реакции. Также он незначительно повышает синтез надпочечниками прогестерона, андрогенов и эстрогенов [14].

Тироксин (Т4) - тироидный гормон с молекулярным весом 777 Да, является одним из гормонов, синтезируемых щитовидной железой. Т4 циркулирует в крови в свободной и связанной форме - с тироксинсвязывающим глобулином (ТСГ), тироксинсвязывающим преальбумином и альбумином. Количественное определение концентрации тироксина в крови имеет диагностическое значение при оценке функционального состояния щитовидной железы [34].

В крови тиреоидные гормоны связываются с белком - переносчиком и в таком виде транспортируются в ткани-мишени. Ткани-мишени для тиреоидных гормонов - это все ткани, кроме селезенки и семенников. В тканях-мишенях тиреоидные гормоны освобождаются от белка и поступают в клетку. Действие тиреоидных гормонов на организм зависит от концентрации этих гормонов в крови: в физиологических дозах они оказывают анаболическое действие, в больших дозах - катаболическое.

Действие Т4 на синтез белка. Через рецепторы цитоплазмы гормон действует на хроматин ядра, в результате чего увеличивается синтез нуклеиновых кислот (ДНК, мРНК) и белка. Нарботка новых молекул белка ускоряет рост, деление и дифференцировку клеток, что особенно важно для

растущего организма. Тиреоидные гормоны абсолютно необходимы для структурного, биохимического и функционального созревания мозга. Считают, что в ЦНС клетки продолжают делиться в течение 1-1,5 лет после рождения. Поэтому если в этот период или еще до рождения возникает дефицит тиреоидных гормонов (гипотиреоз), это приводит к снижению синтеза белка во всем организме и, в частности, в мозговой ткани, нарушается процесс дифференцировки коры больших полушарий и мозжечка, и развивается умственная и физическая отсталость [15].

#### **1.4 Ишемическая болезнь сердца**

Ишемическая болезнь сердца (ИБС), как уже писалось выше, это комплексное заболевание со стороны сердечно-сосудистой системы, характеризующееся недостаточностью поступления в миокард крови, что в свою очередь, приводит к дефициту кислорода и последующей ишемии.

Несоответствие между необходимым доступом кислорода и возможностью его в полной мере доставить по коронарному кровотоку может развиваться на фоне сильных эмоциональных потрясений, чрезмерной физической нагрузке, развития атеросклеротических процессов, в следствие стеноза артерий [40].

Одной из основных причин ИБС считается атеросклероз. Атеросклероз характеризуется образованием на внутренней стенке сосуда атеросклеротических бляшек, которые разрастаются и тем самым сужают просвет сосуда и делают его менее эластичным. Если же еще добавить провоцирующих факторов, например, увеличение силы сокращения коронарного кровотока, то бляшка может надорваться и образовать тромб, который по мере увеличения тромба будет ускорять и рост бляшки. Сужение просвет акоронарных сосудов более чем на 80% чаще приводит к стенозу и внезапной смерти [40]. Быстрый рост атеросклеротических бляшек



характеризует нестабильную стенокардию, в то время как медленный-стабильную.

Мужчины в значительной мере более подвержены ИБС, чем женщины. Это связано с особенностями половых гормонов, поскольку после менопаузы частота заболеваемости женщин нивелируется и становится примерно на уровень с мужчинами. Многие авторы считают, что эстрогены помимо своих очевидных функций также вносят свой вклад в предупреждение развития атеросклероза [37,39].

Помимо атеросклеротического поражения в основе патогенеза ИБС немаловажную роль играет и локальное воспаление. Оно обусловлено движением лейкоцитов к атеросклеротической бляшке. Лейкоциты продуцируют цитотоксичные ферменты, активные формы кислорода (АФК) и цитокины, которые повреждают клетки сердца [16].

## **2 Материалы и методы исследования**

### **2.1 Материалы исследования**

Объект исследований: сыворотка, плазма, а также цельная кровь людей, страдающих ИБС. Под контрольной группой подразумеваются условно здоровые люди (а именно люди, у которых нет проблем со стороны кардиологии). Пробы для исследований предоставлялись «НИИ медицинских проблем Севера».

В состав опытной группы вошли 54 человека с ишемической болезнью сердца, в состав контрольной группы вошли 6 условно здоровых людей.

Определялись уровни плазменного церулоплазмينا и С-реактивного сывороточного белка у людей с ишемической болезнью сердца и условно здоровых людей. Концентрация церулоплазмينا определялась в плазме крови по модифицированному методу Равина. Методом латекс-агглютинации определялся С-реактивный белок. Гормоны гипоталамо-гипофизарной системы- тироксин и эстрадиол измеряли при помощи иммуно-ферментного анализа. Определение количества лейкоцитов производилось в камере Горяева (разведение крови в 20 раз 3–5%-ной уксусной кислотой, подкрашенной метиленовым синим). Для изучения морфологии лейкоцитов мазки окрашивались по Романовскому.

### **2.2 Определение церулоплазмينا по методу Равина**

Принцип метода основывается на том, что пара-фенилендиамин при участии церулоплазмينا окисляется, что регистрируется изменением окраски раствора. Для отработки методики используются следующие реактивы:

- 3% раствор фтористого натрия, который необходимо пропустить через фильтровальную бумагу после того, как соль фтористого натрия растворится в дистиллированной воде (данный реактив понадобится для инактивации ферментативной активности церулоплазмينا);

- 0.5% водный раствор солянокислого р-фенилендиамина, при этом перед каждым определением ЦП рекомендуется использовать свежеприготовленный раствор, т.к. данный ароматический диамин способен довольно быстро окисляться на воздухе (в методике Равина используется в качестве субстрата);

- 0.4 М ацетатный буфер, рН 5.5.

Для приготовления последнего смешивают два раствора в соотношении 9:1- раствор ацетата натрия (54.44 г ацетата натрия в 1л дист. воды) и ледяная уксусная кислота (22.6 мл лед. уксусн. кисл-та, доведенная до 1л).

Проведение эксперимента:

В чистые пробирки помещают по 100 мкл плазмы и 8 мл ацетатного буфера. Затем к контрольным пробам добавляют фтористый натрий, в каждую по 2 мл.

Далее вносится по 1 мл раствора пара-фенилендиамина и в опытные, и в контрольные пробирки, после чего их встряхивают и инкубируют в термостате 60 минут при температуре 37°C.

По истечении указанного времени в опытные образцы помещают по 2 мл раствора фтористого натрия, после чего пробирки необходимо перемешать и внести в холодильник на 30 минут при температуре 4°C.

Чтобы определить концентрацию церулоплазмينا, нужно колориметрировать опытные пробы против контроля в кюветах с шириной слоя 1,0 см при L (длине волны) равной 530 нм, а полученное значение оптической плотности умножить на коэффициент пересчета 875. Таким образом получают величину концентрации церулоплазмينا в единице измерения мг/л.

## **2.3 Обнаружение С-реактивного белка методом латекс-агглютинации**

Принцип метода определения С-реактивного белка основан на том, что белок исследуемой пробы взаимодействует со специфическими антителами против С-реактивного белка человека, которые расположены на поверхности латексных частиц. Если в сыворотке крови концентрация СРБ превышает 5мг\л, то в результате реакции образуется визуально определяемая агглютинация латексных частиц.

Преимущество данного метода в том, что его можно использовать для быстрого полуколичественного определения СРБ, что в экстренных случаях крайне важно.

Чаще всего его применяют для скрининга повышенных концентраций, далее рекомендуется перейти к мониторингу уже с использованием полуколичественных методов. Для этого исследуемый образец подвергается последовательному разведению, и по последнему титру, при котором еще была видна агглютинация, делают вывод об уровне СРБ.

Все необходимые реактивы уже готовые входят в набор, а именно:

- Анти-СРБ латекс (Реагент № 1) в количестве 2 мл;
- Буфер (Реагент № 2), 10 мл;
- Позитивный калибратор (Реагент № 3), 100 мкл;
- Пограничный калибратор (Реагент № 4), 200 мкл;
- Негативный калибратор (Реагент № 5), 200 мкл;
- Тест-пластинка и одноразовые шпатели.

Набор необходимо хранить в холодильнике при температуре 2-8 °С не более срока годности, указанного на упаковке, в противном случае есть риск получить ложные результаты.

Оптимальная температура реагентов и окружающей среды при проведении анализа 22-25 °С возможно получение ложных результатов.

Анти-СРБ латекс перед использованием следует перемешать осторожным встряхиванием.

Ход эксперимента:

Перед проведением анализа необходимо нагреть все реагенты до комнатной температуры (22-25 °С), а Реагент № 1 аккуратно встряхнуть.

1. Для выполнения качественного определения С-реактивного белка в сыворотке крови необходимо достать из набора тест-пластинку и поместить исследуемые образцы и реагенты при помощи пипетки и одноразовых наконечников по 20 мкл в лунки, ориентируясь на следующую схему:

- с 1 по 10 лунку раскапать исследуемые образцы сыворотки;
- в лунку со знаком «+» поместить реагент №3;
- в лунку, имеющую обозначение «+/-» добавить реагент №4;
- в лунку, где значится «-» - реагент №5.

2. Далее снова чистым наконечником необходимо поместить по 20 мкл латекс-суспензии (это реагент №1) во все лунки, рядом с только что раскапанными каплями и смешать их между собой одноразовыми шпателями (не забывая, что для каждой лунки надо использовать новый шпатель) до однородного состояния по всей поверхности черной лунки.

3. После того, как вся поверхность лунки задействована, тест-пластинку рекомендуется вращать в течении 2 минут. Для этого также можно использовать механическую мешалку на слабых оборотах, со скоростью 80-100 об/мин.

4. Визуальная регистрация процесса агглютинации происходит с первой по вторую минуту после прекращения вращения тест-пластины. Важно не упустить этот момент, в противном случае содержимое лунок начнет подсыхать, что приведет к неверной регистрации агглютинации, следовательно, к получению ложного результата.

5. Для того, чтобы оценить результат исследования, необходимо вовремя рассмотреть реакционную смесь в лунках:

- если агрегаты латексных частиц видны хорошо и четко различимы, то это говорит о концентрации С-реактивного белка более 5 мг/л;

- если агглютинаты мелкие и слабо различимые, то концентрация СРБ считается близкой к 5 мг/л;

- если содержимое лунки будет в виде молочно-белой и гомогенной суспензии, то это свидетельствует о том, что результат считается отрицательным, т.е. концентрации белка в этом случае ниже 5 мг/л.

Для проведения полуколичественного определения необходимо приготовить нужные разведения исследуемых проб с помощью буфера, который также присутствует в наборе (Реагент №2). Соотношения разведения исследуемых проб и буфера представлены в таблице 1:

Соотношение исследуемая проба/буфер	Содержание СРБ (мг/л), (С)
1:1	$12 < C < 18$
1:2	$18 < C < 24$
1:3	$24 < C < 30$
1:4	$30 < C < 36$

Таблица 1 - Разведение исследуемых проб буфером.

Далее с каждым разведением проводить качественный анализ, который был описан выше. В таком случае в качестве результата будет считаться проба с последним разведением, при котором еще была видна агглютинация.

#### **2.4 Определение тироксина методом иммуноферментного анализа**

Принцип метода основан на твердофазном конкурентном иммуноферментном анализе с применением моноклональных антител. При добавлении раствора 8-АНС-конъюгат-Т4-пероксидаза и исследуемого образца, тироксин общий конкурирует с Т4, входящим в состав конъюгата за связывание с моноклональными антителами к Т4, расположенными внутри

лунок. Во время удаления содержимого из лунок свободного и связанного антителами Т4 и конъюгата Т4-пероксидаза разделяются, причем количество второго обратно пропорционально количеству Т4 в исследуемом образце крови.

Во время инкубации раствор в лунках окрашивается, что в последствии позволяет определить оптическую плотность раствора и рассчитать по калибровочному графику уровень тироксина общего.

Для количественного определения Т4общ имеется набор «ДС-ИФА-Тироид-Т4общий», который имеет в своем составе реактивы, не требующие предварительного приготовления:

- Т4, меченный пероксидазой хрена (в роли конъюгата);
- калибратор 0, 1, 2, 3, 4, 5 соответственно (калибровочные пробы на основе сыворотки крови человека, которые содержат уже рассчитанные концентрации Т4общ);
- сыворотка с известным содержанием общего Т4 (контрольная);
- ТМБ-Субстратный раствор (тетраметилбензидина);
- стоп-реагент (серная кислота, 0,2М);

Также имеются реактивы, которые необходимо подготовить перед проведением исследования:

- промывочный раствор (ПР), концентрат;
- раствор 8-анилинонафтил-1-сульфокислоты (8-АНС, необходим для блокировки взаимодействия Т4 с белками-переносчиками);

Для приготовления рабочего промывочного раствора нужно извлечь из набора флакон с концентратом ПР (х 25) и необходимое для работы количество развести в 25 раз дистиллированной (или ионизированной) водой, затем тщательно смешать. Полученный раствор можно хранить при комнатной температуре, но не более 14 суток, либо в холодильнике, но не более 28 суток. Емкость с раствором должна быть плотно закрыта, вдали от прямого источника света.

Следующий раствор (8-АНС) рекомендуется готовить перед каждым проведением опыта, хранить его нельзя. Для его приготовления берут раствор конъюгата и 8-АНС в равных объемах и смешивают.

Помимо этого, в набор также прилагается планшет с моноклональными антителами к Т4, которые расположены внутри лунок (выступает в роли иммуносорбента) и расчерченный лист для построения калибровочного графика.

Перед проведением исследования необходимо разогреть все используемые реагенты до комнатной температуры (18-24 °С), для этого можно просто достать используемые реагенты и выдержать в течение 30 минут в теплом помещении.

Ход эксперимента:

1. На планшете выделяется две лунки для ТМБ-Субстратного раствора. В свободные лунки вносятся по 25 мкл калибратора и контрольная сыворотка (в двух повторах). Остальные лунки отводятся для опытных образцов, также по 25 мкл в каждую лунку с повторностью. Здесь важно не затягивать процесс и внести образцы в планшет не более, чем за 10 минут.

2. Далее вносится по 0,2 мл 8-АНС во все лунки, за исключением лунок с контролем ТМБ-Субстратного раствора, после чего планшет аккуратно следует заклеить защитной пленкой приступить к инкубации.

3. Инкубировать можно как в термостатируемом шейкере (при 37 °С), так и при комнатной температуре (20-25 °С). В первом случае инкубация длится 30 минут при встряхивании 500-800об/мин, температура выставляется на 37 °С. Если нет возможности воспользоваться термостатируемым шейкером, то содержимое планшета нужно аккуратно перемешать легким постукиванием о края пол минуты, а затем закрыть защитной пленкой и оставить инкубироваться в течении полутора часа.

4. По истечении времени инкубации планшет достать, аккуратно убрать содержимое лунок (не задевая ничем нижнюю поверхность и стенки лунок), после чего добавить во все лунки 250-300 мкл промывочного



раствора и тщательно, но также аккуратно удалить его. Повторить данную процедуру пять раз, причем после последнего раза перевернуть планшет на предварительно расстеленную чистую фильтровальную бумагу и легким постукиванием об рамку планшета удалить всю жидкость.

5. После отмывки во все лунки вносят по 0,1 мл ТМБ-Субстратного раствора и планшет помещают на время в темноту при комнатной температуре на 15-20 минут.

6. Чтобы остановить реакцию во все лунки планшета вносят по 0,15 мл стопреагента, перемешивают на шейкере или механически в течение 5-10 секунд и смотрят результаты.

7. Планшет устанавливают в фотометр, настраивают длину волны 450 нм и измеряют оптическую плотность. Важно успеть замерить оптическую плотность после внесения стоп-реагента в течении 20 минут. Далее выстраивается калибровочный график, по которому определяется уровень тироксина в опытных (исследуемых) образцах.

## **2.5 Определение эстрадиола методом иммуноферментного анализа**

Принцип метода определения эстрадиола основан том, что эстрадиол из исследуемой пробы конкурирует с конъюгированным эстрадиолом за связывание с кроличьими поликлональными антителами, которые расположены на внутренней поверхности лунок планшета, в результате чего образуется содержащий пероксидазу хрена «сэндвич».

Ход эксперимента:

1. Вскрыть пакет с планшетом и установить на рамку необходимое количество стрипов, учитывая, что исследуемые образцы и калибровочные пробы будут в двух повторах, а также контрольная сыворотка.

2. В соответствующие лунки вносятся соответствующие пробы, каждая по 25 мкл в течение не более 15 минут.

3. Далее во все лунки добавляют по 0,1 мл конъюгата и заклеивают планшет пленкой, затем инкубируют.

4. Инкубировать можно как в термостатируемом шейкере (при 37 °С), так и просто в термостате. В первом случае инкубация длится 60 минут при встряхивании 600 об/мин, температура выставляется на 37 °С. Во втором случае закрыть защитной пленкой и оставить инкубироваться в течении двух часов при той же температуре 37 °С.

5. По истечении времени инкубации планшет достать, аккуратно убрать содержимое лунок (не задевая ничем нижнюю поверхность и стенки лунок), после чего добавить во все лунки 250-300 мкл промывочного раствора и тщательно, но также аккуратно удалить его. Повторить данную процедуру пять раз, причем после последнего раза перевернуть планшет на предварительно расстеленную чистую фильтровальную бумагу и легким постукиванием об рамку планшета удалить всю жидкость.

6. После отмывки во все лунки вносят по 0,1 мл ТМБ-Субстратного раствора в течении 2-3 минут и планшет помещают в темноту при комнатной температуре на 15-20 минут, в зависимости от степени окрашивания в синий цвет.

7. Чтобы остановить реакцию во все лунки планшета вносят по 0,1 мл стоп-реагента, при этом содержимое лунок окрасится в желтый цвет.

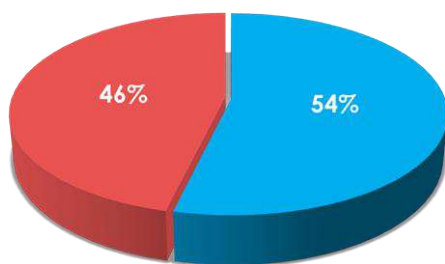
8. Производится измерение оптической плотности. Планшет устанавливают на фотометр вертикального сканирования, настраивают длину волны 450 нм, бланк фотометра выставляется по воздуху, и измеряют оптическую плотность. Важно успеть замерить оптическую плотность после внесения стоп-реагента в течении 20 минут. Далее выстраивается калибровочный график, по которому определяется уровень эстрадиола в опытных (исследуемых) образцах.

### 3 Результаты исследования и их обсуждения

Статистическая обработка результатов.

По результатам исследований была сформирована база данных, на основе которой производился статистический анализ с помощью пакета прикладных программ Microsoft Office Excel 2010. Обработку данных проводили с помощью методов описательной статистики: среднего значения и среднего отклонения.

В ходе проведения исследования содержания С-реактивного белка у людей больных ИБС методом латекс-агглютинации по полученным данным была построена диаграмма:



■ Пробы в пределах нормы (5 мг/л) ■ Превышение верхней границы нормы (5 мг/л)

Рисунок 5- Средние значения СРБ больных ИБС

В ходе проведения исследования содержания С-реактивного белка у людей больных ИБС методом латекс-агглютинации по полученным данным была построена диаграмма:

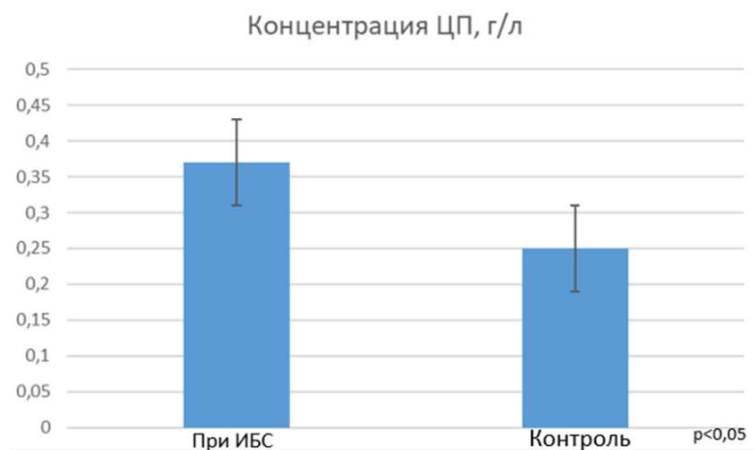


Рисунок 4 - Сравнение показателей ЦП у больных ИБС и контрольных групп

Повышение уровня белков острой фазы воспаления свидетельствуют об активации ответа острой фазы при исследуемой патологии. Значительные изменения уровня церулоплазмينا вероятно связаны с участием данного показателя в системе антиоксидантной защиты.

В ходе подсчета лейкоцитарной формулы и количества лейкоцитов у людей больных ИБС и здоровых по полученным данным были построены диаграммы, отображающие процентное соотношение различных видов лейкоцитов в крови к их общему количеству лейкоцитов в крови:



Рисунок 1 - Содержание лейкоцитов у больных ИБС и здоровых испытуемых



Рисунок 2 – Лейкоцитарная формула больных ИБС

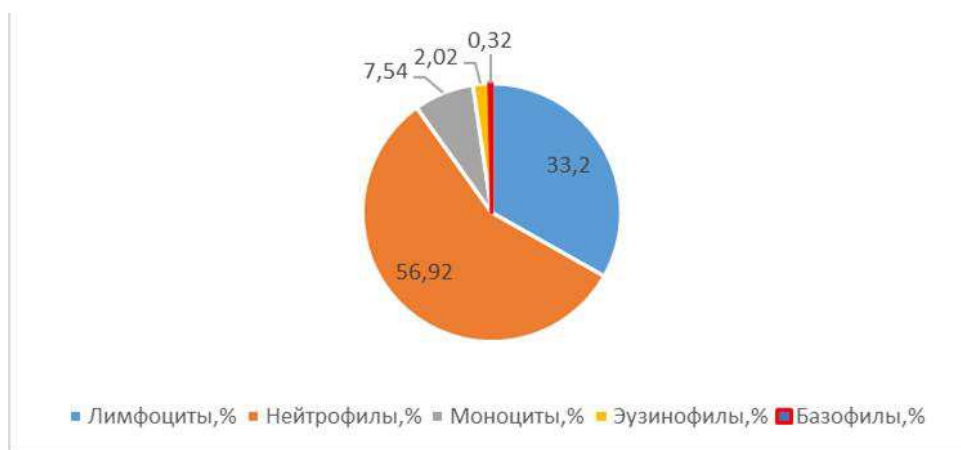


Рисунок 3 – Лейкоцитарная формула контрольной группы

В крови больных ИБС наблюдается немного повышенное количество нейтрофилов по отношению к здоровым испытуемым, а также имеется незначительный лейкоцитоз (референтные значения  $9 \cdot 10^9/\text{л}$ ), что свидетельствует в пользу повышения уровня окислительных процессов при данной патологии.

Концентрация эстрадиола у женщин и у мужчин, больных ИБС, повышена ( $p < 0,05$ ):

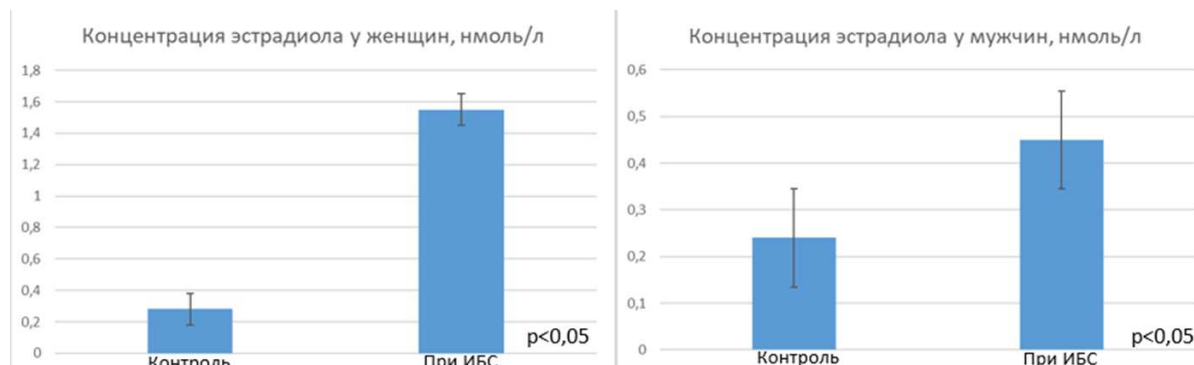


Рисунок 6 - Уровень концентрации эстрадиола у женщин и мужчин

Концентрация общего тироксина у женщин также повышена; у мужчин находится в норме:

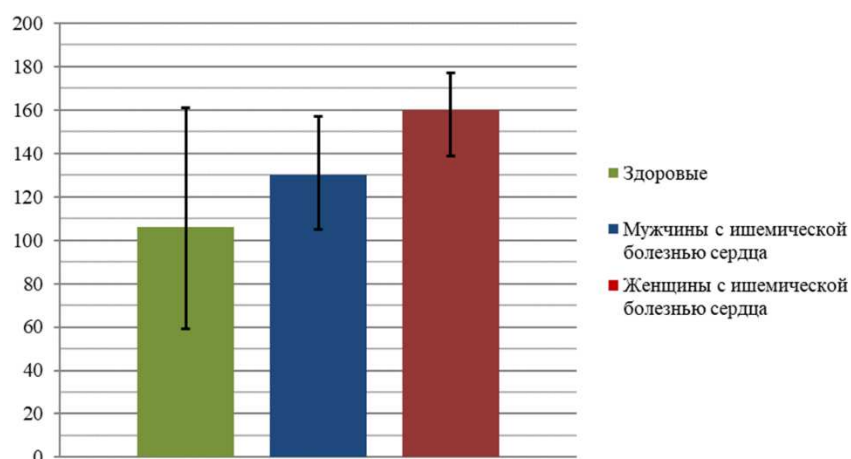


Рисунок 7 - Концентрация тироксина у больных с ИБС и здоровых людей

Повышение содержание в крови гормонов тироксина и эстрадиола указывает на активацию гипоталамо-гипофизарной системы.

В результате исследования было выявлено, что у больных ишемической болезнью сердца наблюдается отрицательная корреляционная связь между концентрацией С-реактивного белка и уровнем гормона эстрадиола, числовое значение которой составило  $r = -0,716$  ( $p < 0,05$ ). Не выявлена корреляционная связь между концентрацией С-реактивного белка и содержанием гормона тироксина ( $r = -0,076$ ;  $p < 0,05$ ). Выявлена положительная корреляционная связь между гормоном эстрадиолом и уровнем церулоплазмينا ( $r = 0,66$ ;  $p < 0,05$ ).

Отрицательная корреляционная зависимость между белками острой фазы воспаления и исследуемыми гормонами является доказательством противовоспалительного эффекта активации гипоталамо-гипофизарной системы.

Положительная корреляционная зависимость между уровнем гормона эстрадиола и содержанием белка церулоплазмينا, вероятно, отражает вовлечение гормона эстрадиола в регуляцию процесса синтеза белка.

## **Заключение**

### **Выводы:**

1. Установлено повышение уровня белков острой фазы воспаления и общего содержания лейкоцитов крови у людей с ишемической болезнью сердца.

2. Выявлено увеличение содержания гормонов тироксина и эстрадиола при ишемической болезни сердца.

3. Проведение корреляционного анализа показало тесную взаимосвязь между секрецией гормонов тироксина и эстрадиола и активацией ответа острой фазы воспаления.

### **Заключение:**

Увеличение содержания белков острой фазы, С-реактивного белка и церулоплазмينا, общего содержания лейкоцитов в крови свидетельствуют о повышении уровня окислительных процессов при ишемической болезни сердца.

Повышенные значения концентрации гормонов, тироксина и эстрадиола, вероятно, являются следствием активации гипоталамо-гипофизарной системы.

Выявленная корреляционная зависимость указывает на отрицательную физиологическую связь между запуском ответа острой фазы воспаления и активации гипоталамо-гипофизарной системы, а также, вероятно, свидетельствуют о включении гормона эстрадиола в процессы активации синтеза белков острой фазы воспаления.

## Список использованных источников

1. Ишемическая болезнь сердца и инфаркт миокарда: от патогенеза к молекулярным маркерам диагностики / В. А. Бунин, Н. С. Линькова, Е. О. Кожевникова, Е. А. Карпасова, Е. М. Пальцева, И. М. Кветной // Успехи физиологических наук. – 2020. – Т. 51. – №. 1. – С. 33-45.
2. 10 ведущих причин смерти в мире [Электронный ресурс]: - 2020. Режим доступа: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>
3. Оперативные демографические показатели [Электронный ресурс]: Федеральная служба государственной статистики – 2020. Режим доступа: [https://rosstat.gov.ru/storage/mediabank/BgjLrP31/demogr\\_01-06.pdf](https://rosstat.gov.ru/storage/mediabank/BgjLrP31/demogr_01-06.pdf)
4. Куликов, В. Ю. Роль окислительного стресса в регуляции метаболической активности внеклеточного матрикса соединительной ткани (обзор) / В. Ю. Куликов // Journal of Siberian Medical Sciences. – 2009. – №. 4.
5. Полотнянко, Л. И. Клиническая химия: [учеб. пособие] / Л. И. Полотнянко // - Москва: ВЛАДОС-ПРЕСС, 2008. - 343 с.
6. Марри, Р. Биохимия человека : учебник / Р. Марри, Д. Греннер, П. Мэйес, В. Родуэлл // - Москва : Мир,1993. - Т1. - 384 с; - Т2. - 415 с.
7. Чиркин, А. А. Диагностический справочник терапевта: клинические симптомы, программы обследования больных, интерпритация данных / А.А. Чиркин, А. Н. Окороков // - Минск: Беларусь, 2013. - 688 с.
8. Волчек, Е.И. МОНОЦИТ-ИСТОЧНИК ТКАНЕВЫХ МАКРОФАГОВ ОРГАНИЗМА / Е.И. Волчек //Устойчивое развитие науки и образования. – 2020. – №. 8. – С. 78-88.
9. Ганковская, Л.В. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии: учеб. / Л. В. Ганковская, Л. В. Ковальчук, Р. Я. Мешкова. - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2011. - 640 с.



10. Чукаева, И.И. Инфаркт миокарда и воспаление / И.И. Чукаева, О.Т.Богова, И. М. Корочкин, В. А. Алешкин // Научный обзор. : НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. Н. Габричевского. - 2007. - №4(11). - С. 19-23.
11. Вельков, В.В. Прокальцитонин и С-реактивный белок в лабораторной диагностике воспалительных процессов / В. В. Вельков // Лаборатория. Журнал для врачей. - Москва: ООО "Лабдиаг", 2012. - № 3. - С. 14-19.
12. Зотова, Е.Г. С-реактивный белок: строение, свойства и способы его выделения / Е.Г. Зотова, Е.Б. Мысякин, С.Ж. Токсамбаева, К.С. Рубцов, Г.А. Серебренникова // Биоорганическая химия. – 1995. – Т. 21. – №. 10. – С. 739-751.
13. Тонких, А. В. Гипоталамо-гипофизарная область и регуляции физиологических функций организма / А. В. Тонких. – 2008. – С. 146-161.
14. Масловская, А. А. Биохимия гормонов : пособие для студентов педиатрического, медико-психологического, медико-диагностического факультетов и факультета иностранных учащихся, 6-е изд. / А.А. Масловская. – Гродно : ГрГМУ, 2012. - 44 с.
15. МакДермотт, М. Т. Секреты эндокринологии : учебное пособие / М. Т. МакДермотт. - Москва : Бином, 2010. - 584 с.
16. Басалай, О. Н. Роль воспаления в патогенезе ишемической болезни сердца и инфаркта миокарда / О.Н. Басалай, М.И. Бушма, О.А. Борисенок // Медицинские новости. – 2020. – №. 6. – С. 13-18.
17. Kushner, I. The acute phase response: an overview / I. Kushner, A. Mackiewicz // Acute phase proteins. – 2020. – С. 3-19
18. Lüthje, F. L. The host response to bacterial bone infection involves a local upregulation of several acute phase proteins / F. L. Lüthje, S.A. Blirup-Plum, N.S. Møller, P.M. Heegaard, H.E. Jensen, K. Kirketerp-Møller, L.E. Jensen // Immunobiology. – 2020. – Т. 225. – №. 3. – С. 151914.

19. Abdulkhaleq, L.A. The crucial roles of inflammatory mediators in inflammation: A review / L.A. Abdulkhaleq, M.A Assi, R. Abdullah, M. Zamri-Saad, Y.H. Taufiq-Yap, M.N. Hezmee // *Veterinary world*. – 2018. – T. 11. – №. 5. – C. 627.
20. Strokotov, D. I. Is there a difference between T-and B-lymphocyte morphology? / D.I. Strokotov, M.A Yurkin, K.V. Gilev, D.R. Van Bockstaele, A. G. Hoekstra, N. Rubtsov // *Journal of biomedical optics*. – 2009. – T. 14. – №. 6. – C. 064036.
21. Germolec, D.R. Markers of inflammation/ D. R Germolec, K. A Shipkowski, R. P. Frawley // *Immunotoxicity Testing*. – 2018. – C. 57-79.
22. Koj, A. Initiation of acute phase response and synthesis of cytokines / A. Koj // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*. – 1996. – T. 1317. – №. 2. – C. 84-94.
23. Gabay, C., Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation / C. Gabay, I. Kushner // *New England journal of medicine*. – 1999. – T. 340. – №. 6. – C. 448-454.
24. Aldred, A.R. The negative acute phase proteins / A.R. Aldred, G. Schreiber // *Acute phase proteins*. – CRC Press, 2020. – C. 21-37.
25. Zhang, Y. Acute phase reactant serum amyloid A in inflammation and other diseases / Y. Zhang, J. Zhang, H. Sheng, H. Li, R. Wang // *Advances in clinical chemistry*. – 2019. – T. 90. – C. 25-80.
26. Kolb-Bachofen, V. A review on the biological properties of C-reactive protein / V. Kolb-Bachofen // *Immunobiology*. – 1991. – T. 183. – №. 1-2. – C. 133-145.
27. Sproston, N. R Role of C-reactive protein at sites of inflammation and infection / N.R. Sproston, J.J. Ashworth // *Frontiers in immunology*. – 2018. – T. 9. – C. 754.
28. Volanakis, J. E. Human C-reactive protein: expression, structure, and function / J. E. Volanakis // *Molecular immunology*. – 2001. – T. 38. – №. 2-3. – C. 189-197.

29. Fox, P. L. Structure, oxidant activity, and cardiovascular mechanisms of human ceruloplasmin / P. Fox, C. Mukhopadhyay, E. Ehrenwald // *Life sciences*. – 1995. – T. 56. – №. 21. – C. 1749-1758.
30. Harris, Z. L. Ceruloplasmin / Z.L. Harris // *Clinical and Translational Perspectives on Wilson Disease*. – Academic Press, 2019. – C. 77-84.
31. Gunturu, S., Dharmarajan T. S. Copper and Zinc / S. Gunturu, T.S. Dharmarajan // *Geriatric Gastroenterology*. – 2020. – C. 1-17.
32. Linder, M. C. Ceruloplasmin and other copper binding components of blood plasma and their functions: an update / M.C. Linder // *Metallomics*. – 2016. – T. 8. – №. 9. – C. 887-905.
33. Arenas de Larriva, A. P. Ceruloplasmin and Coronary Heart Disease-A Systematic Review / A.P. Arenas de Larriva, L. Limia-Pérez, J. F. Alcalá-Díaz, A. Alonso, J. López-Miranda, J. Delgado-Lista // *Nutrients*. – 2020. – T. 12. – №. 10. – C. 3219.
34. MKGarg N. M., Kumar K. H. Laboratory evaluation of thyroid functions: dilemmas and pitfalls / N. M. MKGarg, K. H. Kumar // *Princ Pract Thyroid Gland Disord*. – 2017. – T. 22. – C. 3-332.
35. Leng, G. The heart of the brain: the hypothalamus and its hormones. / G. Leng // MIT Press. - 2018.
36. Raggi, P. Role of inflammation in the pathogenesis of atherosclerosis and therapeutic interventions / Raggi, P., Genest, J., Giles, J. T., Rayner, K. J., Dwivedi, G., Beanlands, R. S., & Gupta, M. // *Atherosclerosis*. – 2018. – T. 276. – C. 98-108.
37. Nasser, S. A. Inflammatory basis of atherosclerosis: Modulation by sex hormones /Nasser, S. A., Afify, E. A., Kobeissy, F., Hamam, B., H Eid, A., & El-Mas, M. M. // *Current Pharmaceutical Design*. – 2021
38. Teoh, J. Estrogen-mediated gaseous signaling molecules in cardiovascular disease / Teoh, J. P., Li, X., Simoncini, T., Zhu, D., & Fu, X. // *Trends in Endocrinology & Metabolism*. – 2020.


39. Hsu, S. P. Effects of female sex hormones on the development of atherosclerosis / Hsu, S. P., & Lee, W. S.//Chinese Journal of Physiology. – 2020. – T. 63. – №. 6. – C. 256.

40. Yasue, H. Coronary arterial spasm in ischemic heart disease and its pathogenesis. A review / H. Yasue, S. Omote, A. Takizawa, M. Nagao //Circulation research. – 1983. – T. 52. – №. 2 Pt 2. – C. I147-52.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение  
высшего образования  
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Институт фундаментальной биологии и биотехнологии  
Кафедра медицинской биологии

УТВЕРЖДАЮ  
Заведующий кафедрой


 Е. И. Шишацкая  
« 25 » июня 2021 г.

## БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

06.03.01 – Биология

Показатели ответа острой фазы воспаления при патологических  
состояниях различного генеза

Руководитель  25.06.2021      доцент, к.б.н.      Ф.А. Гершкорон

Выпускник  25.06.2021      Е.В. Михайлова

Красноярск 2021