

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

Институт фундаментальной биологии и биотехнологий

Кафедра Медицинская биология

УТВЕРЖДАЮ
Заведующий кафедрой
_____ Е. И. Шишацкая

« _____ » _____ 20 ____ г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

06.03.01 - Биология

Исследования содержания железа и церулоплазмينا в плазме крови у людей
с различными патологиями

Руководитель

подпись, дата

проф. д.б.н. Н. М. Титова

Студент

подпись, дата

А. Н. Пуяткина

Красноярск 2017

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	2
1 Обзор литературы	4
1.1 Содержание и формы железа в организме	4
1.2 Характеристика белков, участвующих в метаболизме железа	5
1.3 Метаболизм железа в организме	9
1.4 Церулоплазмин – важнейший антиоксидант плазмы крови	11
1.5 Роль железа в развитии свободнорадикальных патологий.....	13
1.6 Диффузный токсический зоб.....	14
1.7 Рак желудка.....	16
2. Материалы и методы	18
2.1 Объект исследований.....	18
2.2 Определения содержания железа	18
2.3 Определения содержания церулоплазмина.....	20
2.4 Статистическая обработка данных.....	21
3. Результаты исследования	22
3.1 Содержание железа и церулоплазмина в плазме крови здоровых людей.....	Ошибка! Закладка не определена. 23
3.2 Содержание железа в плазме крови при раке желудка и диффузном токсическом зобе.....	Ошибка! Закладка не определена. 23
3.3 Содержание церулоплазмина в плазме крови при раке желудка и диффузном токсическом зобе	Ошибка! Закладка не определена. 25
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	Ошибка! Закладка не определена. 28
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	23
ПРИЛОЖЕНИЕ А – М.....	28–45

ВВЕДЕНИЕ

Железо является важным элементом в организме человека, оно необходимо для осуществления ряда функций: входит в состав белков (гемоглобин, миоглобин, и др.), участвует в процессах энергообмена. Железо активизирует процесс фагоцитоза, тем самым защищая организм от болезнетворных микроорганизмов.

Концентрация железа в организме поддерживается на постоянном уровне. Отклонение от данного показателя приводит к развитию различных патологических процессов.

Большое значение в метаболизме железа имеет церулоплазмин. Обладая феррооксидазной активностью, он окисляет железо до 3-х валентного состояния, тем самым переводя железо в доступную для белков (ферритина, трансферрина) форму. Благодаря этому железо не вовлекается в процессы перекисного окисления липидов, и уровень АФК поддерживается в нормальном состоянии.

В связи со всем вышесказанным изучение содержания железа и церулоплазмينا в плазме крови при патологических состояниях является актуальным.

Целью данной работы явилось исследование содержания железа и церулоплазмينا у здоровых людей и при таких патологиях, как рак желудка и диффузно токсический зоб (ДТЗ).

Исходя из цели, были поставлены следующие задачи:

1. Проанализировать уровень плазменного железа и церулоплазмينا у здоровых людей
2. Исследовать содержание железа в плазме крови у больных ДТЗ и раком желудка
3. Исследовать уровень церулоплазмينا в плазме крови у больных ДТЗ и раком желудка.

Данная работа является частью комплексных исследований по изучению механизмов развития оксидативного стресса при различных патологиях. Работа выполнена на базе кафедры медицинской биологии Института фундаментальной биологии и биотехнологии Сибирского федерального университета, при взаимодействии с лабораторией клинической патофизиологии и аллергологии, лабораторией молекулярно-клеточной физиологии и патологии Красноярского научного центра СО РАН «НИИ медицинских проблем Севера».

1 Обзор литературы

1.1 Содержание и формы железа в организме

Железо в организме человек представлено в виде клеточного, внеклеточного железа, и железа запасов. В норме среднее количество железа в организме составляет 4 – 4,5 г.

Клеточное железо. Железо, входящее в состав некоторых белков таких как гемоглобин и миоглобин. Составляет значительную часть от общего количества железа в организме, участвует во внутреннем обмене железа.

Внеклеточное железо. Это свободное железо плазмы крови, а также различные сывороточные белки, обладающие способностью связывать и транспортировать железо по организму. Например, трансферрин, лактоферрин.

Железо запасов. В организме представлено двумя белками – ферритином и гемосидерином. Данное железо включается в обменные процессы при недостаточности клеточного железа. Основными местами депонирования являются: печень, селезёнка и мышцы.

Железо поступает в организм с пищей. В пищевых продуктах содержится 2 типа железа — гемовое (красное мясо) и негемовое или ионизированное (овощи, фрукты, зерновые культуры)

Гемовое железо (клеточное): Составляет около 75% от общего количества железа в организме. Всасывание гемового железа осуществляется быстрее ионного. Оно попадает в желудок в комплексе с порфирином в гемоглобине и миоглобине. Такой комплекс «Fe + порфирин» всасывается нерасщепленным и расщепляется лишь в клетках эпителия.

Негемовое железо: Представлено свободными ионами железа в 2-х и 3-х валентной форме. Всасывание негемового железа контролируется организмом конкретного человека: больше негемового железа всасывается при недостаточности железа; меньше – при насыщении организма железом.

Витамин С так же участвует в процессе всасывания железа. Являясь одним из наиболее сильных стимуляторов всасывания он восстанавливает железо из 3-х валентной формы до 2-х валентной.

Таким образом, до 20% железа мы получаем из мясной пищи, тогда как из растительной - только около 6%.

В сыворотке крови железо обнаруживается в комплексе с белком, его связывающим и транспортирующим – трансферрином. Обычно поводом для расчета концентрации сывороточного железа служит низкий уровень гемоглобина, который, как известно, входит в число главных параметров общего анализа крови.

В норме железо в плазме крови содержится в пределах от 8,8 – 28 мкмоль/л.

Повышенное содержание железа в биохимическом анализе крови, равно, как и его недостаток, свидетельствует об определенных патологических состояниях организма.

1.2 Характеристика белков, участвующих в метаболизме железа

Трансферрин

Трансферрин относится к белкам острой фазы, т.е. при воспалительных реакциях уровень данного белка изменяется.

Являясь специфическим транспортным белком плазмы, он осуществляет связывание и перенос трехвалентное железо по организму. Состоит из одиночного сплетенного полипептида (679 аминокислот) с 19 бисульфидными мостиками [20]. В молекуле трансферрина есть 2 участка для связывания Fe^{3+} :

1. Кислотоустойчивый участок располагается на С-конце.
2. Кислотолабильный участок на N-конце молекулы белка, более нагруженный железом.

Трансферрин может присутствовать в плазме крови человека в четырех формах: апотрансферрин – лишен железа, две моноферриформы (содержат железо в одном из двух возможных участков связывания) и диферритрансферрин который содержит железо сразу на двух участках связывания. Так как трансферрин обладает большим сродством к Fe^{3+} чем к Fe^{2+} , то прежде чем включить железо в состав трансферрина, происходит его окисление. Высвобождение железа из трансферрина требует присутствия анионов (в основном HCO_3^- и $H_2PO_4^-$), которые связываются со специальными участками молекулы [12].

Главная роль трансферрина заключается в доставке трехвалентного железа в места его использования, В первую очередь это костный мозг, где в митохондриях эритроидных клеток осуществляется синтез гема, а в миелоидных клетках, кроме того, синтезируется значительное количество лактоферрина. Также трансферрин участвует в обратном транспорте железа из тканевых депо макрофагов (в которых происходит реутилизация железа из разрушающихся эритроцитов), к костному мозгу.

Биологическая роль трансферрина состоит не только в связывании и транспортировке железа, но и в усиленном накоплении его в случае избытка последнего.

Основным местом синтеза трансферрина является печень. Однако экспрессия трансферрина обнаружена и в других тканях – миокарде, головном мозге. Синтез трансферрина осуществляется всеми клетками, но в наибольшем количестве – гепатоцитами, энтероцитами и клетками костного мозга.

Так как трансферрин является переносчиком железа, его рассматривают как один из факторов неспецифической резистентности организма: доказано, что при инфекциях и различного рода иммунных процессах для обеспечения функционирования систем клеточного и гуморального иммунитета и, прежде всего, фагоцитирующих макрофагов, необходимо определенное количество железа.

Ферритин

Внутриклеточный белок, сохраняющий железо в растворимой, нетоксичной и доступной форме – в виде трехвалентного железа. Ферритин представляет собой сферу, построенную из 24 цепей с внутренней полостью, в которой расположен железистый гидрофосфат. В состав сферы входят цепи двух типов: Апоферритин L и Апоферритин H. Железо составляет 1/5 молекулы ферритина. Сывороточный ферритин является острофазовым реактантом [20].

Ферритиновая форма хранения железа обеспечивает, при необходимости, мобилизацию железа для синтеза гемоглобина, других гемосодержащих и негемовых железосодержащих соединений.

Синтезируется ферритин клетками печени, селезенки, костного мозга, тонкого кишечника, поджелудочной железы, почек, легких, щитовидной железы, плаценты, а также лейкоцитами. Синтезированный в различных органах ферритин используется для обеспечения функций этих органов, однако в небольших количествах он поступает и в плазму крови. В клинической практике уровень ферритина рассматривается как показатель запасов железа в организме.

Ферритин синтезируемый в условиях воспалительного процесса, содержит меньше железа, чем ферритин нормальный. Снижение уровня сывороточного ферритина наблюдается после физической нагрузки, что объясняется усилением потребления кислорода мышцами.

Из ферритиновой формы железо способно активно мобилизоваться. При нарастающем дефиците железа количество гранул ферритина в клетках уменьшается вплоть до полного его исчезновения. В случае избытка железа в организме ферритин превращается в гемосидерин.

В организме существует много гетерогенных изоформ ферритина, каждая из которых органоспецифична по молекулярной структуре, что обеспечивает выполнение ими специфических функций [13].

Основную железодепонирующую функцию в организме выполняет ферритин печени. Ферритин слизистой оболочки тонкого кишечника отвечает

за перенос железа, всосавшегося в энтероциты, к трансферрину плазмы. Ферритин системы фагоцитирующих макрофагов абсорбирует железо, высвобождающееся после деструкции эритроцитов и железосодержащих структур, для процессов его реутилизации. Ферритин эритроидных клеток-предшественниц обеспечивает адекватное поступление железа для нужд гемопоэза, а ферритин селезенки выполняет депонирующую роль и обеспечивает «отдачу» железа трансферрину плазмы.

Гемоглобин

Гемоглобин является сложным белком класса хромопротеинов и выполняет в организме ряд важных функций – транспорт кислорода и углекислого газа, связывает токсические продукты обмена – цианиды, оксиды углерода, поддерживает постоянство pH среды, входя в состав гемоглобиновой буферной системы.

Молекула гемоглобина состоит из 4 субъединиц, каждая из которых содержит гем и полипептидную цепь. Гем – небелковая часть молекулы гемоглобина – является комплексным соединением пигмента протопорфирина (4 пиррольных кольца связанных метиновыми мостиками) с ионом двухвалентного железа. Второй компонент гемоглобина представлен белком глобином. Именно он осуществляет транспорт кислорода из легких в ткани и углекислого газа в легкие [17].

Известно, что железо легко вступает в связь с кислородом, и хотя кислород является окислителем, при его соединении с железом окисления не наблюдается. Ион железа лишь «сопровождает» молекулу кислорода к месту окисления, в котором и «освобождает» кислород для его действительного окисления.

В свою очередь гемоглобин выполняет и другую не менее важную функцию – «выводит» с места окисления углекислый газ. И если в клетку кислород вводится гемом, то углекислый газ выводится глобином. Интересно, что именно соединение железа с кислородом обеспечивает красный цвет крови.

Доказано, что не весь кислород, доставленный гемоглобином, расходуется сразу: организм частично оставляет его «про запас» в мышцах. В ситуациях, требующих значительной мышечной работы, возникает физиологическая потребность в больших количествах кислорода, превышающих поступающие с кровью. Вот тут организм и «вспоминает» о мышечных запасах, представленных миоглобином – пигментным протеидом мышечной ткани, в состав которого входят также гем и глобин.

Гепсидин и гемосидерин

Гепсидин – полипептид, синтезируемый печенью. Состоит из 25 остатков аминокислот, соединенных 4 дисульфидными мостиками. Его функцией является регуляция поглощения железа кишечником, а также он участвует в регуляции плацентарного и транспортного железа. Гепсидин ограничивает адсорбцию железа кишечником и усиливает задержку железа в ретикулоэндотелиальной системе. Гепсидин становится избыточным при перегрузке железом и снижен при его дефиците [31].

Гемосидерин – железосодержащий пигмент, темно-желтого цвета, образующийся внутри клеток после распада эритроцитов. Он представляет собой коллоидную гидроксид железа, связанную с белками, и липидами. Клетки, в которых образуется гемосидерин, называются сидеробластами. В их сидеросомах происходит синтез гранул гемосидерина. Гемосидерин содержится в макрофагах селезенки, печени и костного мозга. Является одной из форм хранения железа в организме.

1.3 Метаболизм железа в организме

Железо поступает в организм в основном из пищевых продуктов, в которых, как известно, содержится 2 типа железа — гемовое, которое входит в состав гемоглобина и содержится в красном мясе и негемовое или ионизированное содержащееся в овощах, фруктах и зерновых культурах.

Гемовое железо легко всасывается слизистой оболочкой тонкого кишечника как железопорфириновый комплекс с помощью специальных рецепторов. Негемовое железо содержится в основном в форме Fe^{3+} , но лучше всасывается в двухвалентной форме Fe^{2+} .

Трехвалентное железо (Fe^{3+}) восстанавливается на апикальной стороне мембраны ферроредуктазой DcytB (дуоденальный цитохром b). Ионы двухвалентного железа транспортируются через мембрану специальным транспортером для ионов двухвалентных металлов – DMT-1. При низких запасах железа взаимодействие железо регуляторных элементов IRP с IRE стимулирует экспрессию трансферринового рецептора (TfR) и, соответственно, всасывание железа. Напротив, при высоких запасах железа IRP не связывается с IRE, из-за чего синтеза TfR не происходит и железо не может попасть в клетку [6].

В норме железо в клетке сохраняется в форме ферритина или транспортируется через базолатеральную мембрану транспортером железа ферропортином (IREG1), с которым связан гепестин. Экспортируемое железо вновь превращается в трехвалентное мембранной оксидазой гепестином и связывается с трансферрином для доставки в ткани [3].

Если же организм перегружен железом, то наблюдается увеличение синтеза гепсидина. Чем он активнее, тем меньше всасывается железа в кишечнике и транспортируется из макрофагального депо в плазму, т.е. гепсидин блокирует всасывание и выход железа из депо [23].

После захвата железа трансферрином образуя комплекс трансферрин-железо, который поступает главным образом в костный мозг, где используется для эритропоэза, небольшая часть — в депо (преимущественно в печень) и еще меньшее количество ассимилируется тканями для образования миоглобина, некоторых ферментов тканевого дыхания, нестойких комплексов железа с аминокислотами и белками.

Депонирование железа осуществляется ферритином. В случае избытка железа в организме ферритин преобразуется в гемосидерин. Основную

железодепонирующую функцию выполняет ферритин печени, тогда как в слизистой оболочке тонкого кишечника он отвечает за перенос железа, абсорбированного энтероцитами к трансферрину плазмы крови. Ферритин системы фагоцитирующих макрофагов абсорбирует железо, которое высвобождается после деструкции энтероцитов, для его реутилизации.

Комплекс Fe^{2+} -Tf связывается с рецептором трансферрина на мембране эритроидного предшественника. Транспорт железа в эритроидные предшественники включает эндоцитоз трансферрина и затем с помощью такого транспортера как DMT1 – железо поступает в митохондрии, где происходит синтез гема.

Подавляющее количество функционирующего железа появляется не в результате постоянно осуществляемой в кишечнике абсорбции, а в результате реутилизации уже имеющегося в организме железа. Самым важным источником реутилизируемого железа являются клетки эритроидного ряда, содержащие гемоглобин. Через 100-120 дней циркуляции «состарившиеся» эритроциты поглощают ретикулоэндотелиальные макрофаги, преимущественно селезенки. Некоторое количество железа может оставаться в макрофагах в виде ферритина или гемосидерина, но большая его часть высвобождается в плазму крови, где присоединяется к трансферрину, завершая процесс реутилизации [46].

1.4 Церулоплазмин – важнейший антиоксидант плазмы крови

Церулоплазмин (ЦП) — медьсодержащая оксидаза (КФ.1.16.3.1), относящаяся к α -2-глобулиновой фракции плазмы крови человека, – впервые описан в 1944 г. и выделен в чистом виде в 1951 г. [5].

ЦП – единичная полипептидная цепь, 1046 аминокислотных остатков, высокомолекулярный белок с $M_r = 132$ кДа. Молекула содержит 6 доменов, образующих тригональную структуру, и 6 ионов Cu [32, 35]. По структурному сходству домены разделяются на две группы: нечетные домены 1,3 и 5 и

четные домены⁴ и 6. Ионы меди, представленные в медьсодержащих оксидазах, делят на три типа:

T1Cu-ион меди первого типа – имеет пик оптического поглощения при 610нм и определяет интенсивный голубой цвет ферментов данного класса. В качестве лигандов иона Cu выявлены 2 остатка His, один Cys и один Met

T2Cu-ион (так называемых «не синих») ион Cu координирован двумя остатками His и гидроксильной группой или молекулой воды.

T3Cu-ион (биядерные) содержит два антиферромагнитно спаренных иона Cu²⁺, каждый из которых связан тремя остатками His, а между этими ионами находится либо OH- группа, либо молекула O₂.

Углеводный компонент ЦП, на долю которого приходится 2–8% массы молекулы, представлен девятью олигосахаридными цепями, содержащими глюкозамин, лактозу, мальтозу, фукозу и сиаловые кислоты. Углеводы в молекуле ЦП находятся в следующих количествах: глюкозамин 15.7–19.2%, манноза – 14.2%, галактоза – 12.3%, фукоза – 1.6%, сиаловые кислоты – 8.6% [7].

Церулоплазмин синтезируется в печени гепатоцитами на мембраносвязанных полисомах в виде простой полипептидной цепи. У взрослых ЦП еще может вырабатываться в моноцитах, синтез индуцируется гамма-интерфероном [2].

ЦП, подобно другим медьсодержащим белкам, способен участвовать в окислительно – восстановительных реакциях, причем в последние годы важнейшей физиологической функцией ЦП считается именно антиоксидантная функция.

Среди многообразных функций ЦП следует выделить ряд наиболее существенных: ЦП является медной оксидазой, обеспечивающей поддержание уровня меди в тканях; феррооксидазой, мобилизующей сывороточное железо для кроветворения; одним из гликопротеинов “острой фазы”, эндогенным модулятором воспалительного ответа; одним из наиболее значимых ферментных антиоксидантов сыворотки крови [9].

Транспорт меди - ЦП обеспечивает поддержание её уровня в тканях, особенно в печени, способствуя специфическому переносу ионов меди от печени к клеткам других тканей. Тем самым поддерживая гомеостаз меди, так же способствует нормальному внутриклеточному транспорту меди.

Ферроксидазная функция ЦП – заключается в мобилизации сывороточного железа для кроветворения. Эта функция зависит от особенностей состояния структуры молекулы ЦП и изменяется вследствие изменения активных центров.

В плазме крови человека ЦП окисляет двухвалентное железо до трехвалентного. Образующееся трехвалентное железо встраивается в молекулу апотрансферрина. Таким образом ферроксидазная активность обеспечивает насыщение трансферрина железом, который транспортирует железо в костный мозг, где происходит синтез гема. ЦП усиливает связывание ионов железа с трансферрином, а при его избытке в сыворотке и с ферритином, принимая тем самым участие в утилизации железа, ЦП способствует кроветворению.

ЦП способен «перехватывать» свободные супероксидные радикалы. Он ингибирует активированные процессы перекисного окисления липидов, также предотвращает окисление липидов клеточных мембран.

ЦП играет роль ингибитора на ряде этапов образования активированных кислородных метаболитов, принимая участие в удалении токсичных свободных радикалов супероксиданиона; ингибируя образование стабильной перекиси водорода, не инактивируемой основным клеточным антиоксидантным ферментом – супероксиддисмутазой [44].

1.5 Роль железа в развитии свободнорадикальных патологий

Активные формы кислорода (АФК), как стало понятно в последнее время, составляют отдельную систему в организме, участвующую как в ряде физиологических функций, так и во многих патологических процессах.

В ходе естественного старения организма изменяются различные элементы системы АФК; изменяется состояние системы АФК и в ходе различных патологических процессов [10, 21].

АФК — это, с физико-химической точки зрения, прежде всего свободные радикалы, которые имеют на внешней электронной оболочке неспаренный электрон. АФК генерируются во всех частях клетки. 95–98 % вдыхаемого O_2 расходуется на выработку энергии и окислительный метаболизм субстратов, 2–5 % O_2 переходит в активные формы кислорода [8, 11].

Важнейшими АФК считаются: супероксидный радикал $\bullet O_2$, гидроксильный $\bullet OH$ и пероксидный $\bullet HO_2$ радикалы, перекись водорода H_2O_2 , пероксидный ион HO_2^- [14].

Железо как переходный металл участвует в образовании вторичных радикалов АФК. Перекись водорода H_2O_2 , в присутствии ионов Fe^{2+} образует высоко активный гидроксильный радикал ($\bullet OH$), обладающий наибольшей цитотоксичностью среди АФК. Радикалы гидроксила образуются также при взаимодействии ионов железа (Fe^{2+}) с гипохлоритом.

Реакция взаимодействия перекиси водорода с железом носит название реакции Фентона: $Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH\bullet + OH^-$.

1.6 Диффузный токсический зоб

Диффузный токсический зоб (ДТЗ) – заболевание щитовидной железы, связанное с избыточной секрецией тиреоидных гормонов. Гиперфункция щитовидной железы обусловлена воздействием на нее особых антител, обладающих тиреостимулирующим действием [43].

Диффузный токсический зоб чаще встречается у женщин, однако у мужчин это заболевание чаще сочетается с офтальмопатией или претибиальной микседемой. Офтальмопатия и претибиальная микседема встречаются не более чем у 5% лиц с диффузным токсическим зобом.

ДТЗ – аутоиммунное заболевание, развивается у лиц с наследственной предрасположенностью. В развитии тиреотоксического зоба главную роль играют нарушения со стороны иммунной системы. Повреждающий фактор изменяет структуру и свойства Т и В – лимфоцитов – клеток, участвующих в образовании специфических антител. В норме антитела борются различными с инфекционными агентами, инородными телами, проникшими в организм [38, 40].

В данном случае, структурно изменённые антитела носят название аутоантител, и направлены против щитовидной железы. Кроме того, эти антитела обладают стимулирующим свойством на рост самой железы, и выработку ею гормонов. В результате получается, что железа постепенно увеличивается в размере, а в организме постоянно присутствует повышенное количество тиреоидных гормонов, тироксина и трийодтиронина.

Резкий рост выделения тиреоидных гормонов вызывает нарушения обмена веществ:

- Нарушения со стороны углеводного обмена проявляются в виде повышенного расщепления глюкозы в тканях, с образованием большого количества энергии. При истощении тканевой глюкозы организм ищет дополнительные источники питания, и находит их в виде гликогена (углевод, который откладывается в печени, мышцах в виде запасов энергии).

- Повышается использование жировых запасов. Липиды (жиры) накапливают в себе несравненно большее количество энергии, чем углеводы.

- Усиливается процесс распада белков до аминокислот, также с освобождением энергии и тепла. При этом повышается количество азота в моче.

Все указанные процессы ведут к истощению организма. Наряду с нормальным или повышенным аппетитом отмечается:

- Снижение массы тела
- Появление мышечной слабости
- Развитие патологических процессов в органах и системах

Так же диффузный токсический зоб характеризуется в первую очередь изменениями сердечно-сосудистой и нервной систем [15, 19].

1.7 Рак желудка

Рак желудка — это опухоль злокачественного характера, которая образуется из клеток эпителия в большинстве случаев слизистой оболочки. Это заболевание является одним из наиболее распространённых онкологических заболеваний в мире. Среди всех злокачественных образований второе место смертей от рака занимает именно рак желудка. Ежегодно в мире регистрируется около 1 млн новых случаев и более 700 тысяч смертей от этого заболевания [16, 28, 47].

Возникновению рака желудка в большинстве случаев предшествуют такие хронические заболевания как полипоз, язва желудка, атрофический хронический гастрит, пернициозная анемия. Питание, как и образ жизни человека так же играет немаловажную роль, опухоль возникает при нерегулярном питании, употреблении грубой, чрезмерно горячей и острой пищи, копченых продуктов, крепких спиртных напитков, курении [33]. Однако люди, питающиеся фруктами, овощами, бобовыми и кисломолочными продуктами, гораздо меньше подвержены риску данного заболевания.

Низкая обеспеченность организма витамином С, недостаточное потребление фруктов и овощей, богатых аскорбиновой кислотой и аскорбатами, способствует инфицированию *Helicobacter pylori* которая в последствии может привести к развитию рака [26, 27, 29]. Опухолевые клетки синтезируют значительное количество коллагеназ и стромелизина, а также активатора плазминогена, что способствует разрыхлению межклеточного матрикса, нарушению цитоархитектоники клеток и высвобождению их для метастазирования. Уникальная роль витамина С заключается и в том, что витамин С принимает участие в синтезе коллагена, соответственно замедляя метастазирование.

Важно заметить, что на ранних стадиях заболевание протекает бессимптомно. Основным методом диагностики рака желудка является фиброгастроскопия, которую нужно выполнять всем больным с подозрением на данное заболевание [4, 24].

Так же важный фактор — это генетическая предрасположенность, доказано что люди, имеющие среди близких родственников онкобольных, более подвержены риску. Для родственников риск заболеть постепенно возрастает в зависимости не только от возраста проявления у них злокачественного новообразования и числа пораженных членов семьи, но и от тяжести клинического течения заболевания.

Анемия встречается более чем у трети больных злокачественными опухолями [34, 45]. Есть 3 причины развития анемии у больных: кровопотери, снижение образования эритроцитов, усиленное разрушение эритроцитов [1, 16, 22]. Химиотерапия оказывает подавляющее действие на процесс кроветворения. Так же одной из причин анемии может являться дефицит витамина В12 который возникает в случае неправильного питания или же на фоне нарушения всасывания в связи с изменением слизистой оболочки кишечника. При дефиците витамина В12 в костном мозге появляются большие ядродержащие эритроидные клетки — мегалобласты, которые образуют с замедленной скоростью большие эритроциты — мегалоциты с резко укороченным периодом жизни. Замедление поступления эритроцитов в кровь и быстрое их разрушение ведет к анемии [18].

2. Материалы и методы

2.1 Объект исследований

Объектом исследования служила кровь группы здоровых людей и людей, с такими патологиями как рак желудка и ДТЗ, забранная натошак из локтевой вены в вакутейнеры с гепарином в качестве антикоагулянта.

Использование таких антикоагулянтов как цитрат, оксалат, ЭДТА недопустимо при определении железа.

Гепаринизированную кровь центрифугировали 20 мин при 3000 об/мин. После центрифугирования осторожно отбирали плазму и сохраняли до проведения эксперимента. Плазму следует хранить при температуре не выше - 20°C.

2.2 Определения содержания железа

Содержание железа определяли используя набор «Железо Витал» фирмы ОАО «Витал Девелопмент Корпорэйшн», Россия, г. Санкт – Петербург.

Принцип метода: В кислой среде белковые комплексы, связывающие железо, диссоциируют, и железо восстанавливается до Fe^{2+} . Ион двухзарядного железа связывается с хромогеном, образуя окрашенный комплекс, концентрация которого пропорциональна концентрации железа в образце и измеряется фотометрически. Комплексы хромогена с ионами цинка и меди маскируются, образуя не окрашиваемые комплексы с хелатором, что обеспечивает более точное определение концентрации железа, свободное от интерференции.

Реактивы:

1. Реагент №1: Гуанидин гидрохлорид – 2,5 моль/л.; Nitro-PAPS – 3,6 моль/л.; Детергенты; Стабилизаторы.
2. Реагент №2: Хелатор – 40 ммоль/л.; Ацетатный буфер – 30 ммоль/л.

3. Реагент №3 – Калибратор: железо – 30 мкмоль/л.
4. Рабочий раствор: Для приготовления рабочего раствора необходимо смешать реагент №1 и реагент №2 в пропорции 19:1. Рабочий реагент стабилен не менее 8 часов при температуре хранения 18-25°C. Хранится в плотно закрытой темной склянке.

Примечание: срок годности набора – 12 месяцев при 18-25°C. Срок годности вскрытого реагента № 3 – 1 месяц при 18-25°C.

Ход работы:

Готовили 3 пробы, пропись которых представлена в таблице №1.

Таблица 1 – Состав опытной, калибровочной и холостой проб

	Опытная проба	Калибровочная проба	Холостая проба
Образец	0,10 мл	-	-
Деионизированная вода	-	-	0,10 мл
Рабочий реагент	2,0 мл	2,0 мл	2,0 мл
Реагент № 3	-	0,10 мл	-

Пробы перемешивают и инкубируют точно 10 мин при комнатной температуре (18-25°C).

Фотометрируют против холостой пробы при длине волны – 578нм. Окраска стабильна в течение 15 мин.

Расчеты:

Расчеты концентрации железа осуществляются по следующей формуле:

$$C = \frac{A_{оп}}{A_{кал}} * 30 \text{ [мкмоль/л]}, \text{ где}$$

$A_{оп}$ – оптическая плотность опытной пробы;

$A_{кал}$ – оптическая плотность калибровочной пробы;

30 мкмоль/л – концентрация железа в калибраторе.

Примечание: так как основным источником ошибок в данном методе является загрязнение посуды и кювет, стеклянную посуду необходимо мыть 4

моль/л раствором соляной кислоты, и ополаскивать бидистиллированной (деионизованной) водой.

2.3 Определения содержания церулоплазмينا

Принцип метода: основан на окислении р-фенилендиамина при участии церулоплазмينا (ЦП).

Реактивы:

1. 0,4 М ацетатный буфер (рН 5,5), приготовленный путем смешивания растворов 1 и 2 (в соотношении 9:1). 1-й раствор – 55,44 ацетата натрия помещали в мерную колбу на 1 л и доводили до метки. 2-й раствор – 22,6 мл ледяной уксусной кислоты растворяли и доводили до метки 1 л дистиллированной водой.

2. 1,3%-ный раствор фтористого натрия.

3. 0,5%-ный раствор солянокислого р-фенилендиамина.

Ход определения.

В контрольную и опытную пробы вносили по 0,1 мл плазмы и 8 мл ацетатного буфера. В контрольную пробирку добавляли 2 мл раствора фтористого натрия (для инактивации ферментативной активности церулоплазмينا). Затем в пробирки вносили по 1 мл раствора солянокислого р-фенилендиамина. Пробирки встряхивали и помещали в термостат, инкубируя в течение часа. После инкубации во все пробирки, кроме контрольной, добавляли по 2 мл раствора фтористого натрия. Содержимое пробирок перемешивали, затем пробирки переносили в холодильник на 30 минут. Пробы колориметрировали против контроля в кюветах с толщенной 1,0 см при длине волны 530 нм.

Расчеты.

$$ЦП = D \cdot 875 \text{ мг / л где}$$

D – значение оптической плотности;

875 – коэффициент пересчета.

2.4 Статистическая обработка данных

По результатам исследования в пакете электронных таблиц MSExcel была сформирована база данных. В работе использованы стандартные статистические приемы подсчета среднего значения, квадратичного отклонения и отклонения от среднего с помощью пакета прикладных программ Statistica 7.0. Достоверность различий между показателями независимых выборок оценивали по t-критерию Стьюдента.

3. Результаты исследования

Из текста ВКР изъяты результаты интеллектуальной деятельности, которые имеют потенциальную коммерческую научную ценность в силу неизвестности их третьим лицам.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Абдурахманов, Д. Т. Железодефицитная анемия при заболеваниях желудочно - кишечного тракта / Д. Т. Абдурахманов // Фарматека. – 2012. – №13. – С. 9–14.
2. Белова, С.В. Церулоплазмин – структура, физико-химические и функциональные свойства / С.В. Белова, Е.В. Крякина // Успехи современной биологии. –2010. – Т.130, № 2. – С.180–189.
3. Беловол, А. Н. От метаболизма железа – к вопросам фармакологической коррекции его дефицита / А. Н. Беловол, И. И. Князькова // Лики Украины. – 2015. – № 4. – С. 46–51.
4. Бондарь, Г. В. Рак желудка: Профилактика, диагностика и лечение на современном этапе / Г. В. Бондарь [и др.] //Онкология. –2006. – Т. 8, № 2. – С. 171-175.
5. Вавилова, Т.П. Роль церулоплазмина при развитии неопластических процессов / Т.П. Вавилова и [др.] // Биомедицинская химия. – 2005. – Т. 51, вып. 3. – С. 263–275.
6. Ватутин, Н. Т. Роль железа в организме человека / Н. Т. Ватутин [и др.]. // Вестник Харьковского национального университета имени В.Н. Каразина. – 2012. - № 1024. – С. 74–75.
7. Ващенко, В. И. Церулоплазмин – от метаболита до лекарственного средства / В. И. Ващенко, Т. Н. Ващенко // Психофармакология и биологическая наркология. – 2006. – Т. 6, № 3. – С. 1254–1269.
8. Владимиров Ю. А. Свободные радикалы в биологических системах / Ю. А. Владимиров // Соросовский образовательный журнал. – 2000. – Т. 6, № 12. – С. 13–19.
9. Горошинская, И. А. Изучение белков острой фазы при лечении больных мышечно–неинвазивным раком мочевого пузыря / И. А.

Горошинская[и др.] // Медицинский вестник северного кавказа. – 2016. – Т. 11, № 4. – С. 521–523.

10. Гривенникова, В. Г. Генерация активных форм кислорода митохондриями / В. Г. Гривенникова, А. Д. Виноградов // Успехи биологической химии. – 2013. – Т. 53, № 4. – С. 245–296.

11. Кулинский, В. И. Активные формы кислорода и оксидативная модификация макромолекул: польза, вред и защита / В. И. Кулинский // Соросовский образовательный журнал. – 1999. – № 1. – С. 2–7.

12. Данилова, Л. А. Справочник по лабораторным методам исследования/ Л. А. Данилова. – СПб: Питер, 2003. – 736 с.

13. Дати, Ф. Белки: лабораторные тесты и клиническое применение/ Ф. Дати, Э. Метцманн. – Москва: Лабора, 2007. – 560 с.

14. Донцов В. И. Активные формы кислорода как система: значение в физиологии, патологии и естественном старении / В. И. Донцов [и др.] // Труды института системного анализа российской академии наук. – 2006. – Т. 19. – С. 50–69.

15. Макаров, И. В. Современные тенденции и наш опыт лечения диффузного токсического зоба / И. В. Макаров, Р. А. Галкин, М. М. Андреев // Вестник ЮУрГУ. – 2010. – №24. – С. 54-56.

16. Моисеев, С. В. Анемия при онкологических заболеваниях / С. В. Моисеев // Онкология. Журнал им. П. А. Герцина. –2012. – №1.

17. Мусил, Я. Современна биохимия в схемах / Я. Мусил, О. Новакова, К. Кунц. – Москва: Мир, 1981. – С.96–67.

18. Надей, Е. В. Дефицит железа. Группы риска в общей клинической практике / Е. В. Надей, Г. И. Нечаева // Лечащий врач. – 2014. – №7.

19. Надольник, Л. И. Стресс и щитовидная железа / Л. И. Надольник // Биомедицинская химия. – 2010. – Т. 56, №4. – С. 443-456.

20. Назаров, П. Г. Реактанты острой фазы воспаления/ П. Г. Назаров. – СПб: Наука, 2001. – 423 с.

21. Пожилова, Е. В. Активные формы кислорода в физиологии и патологии клетки / Е. В. Пожилова, В. Е. Новиков, О. С. Левченкова // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2015. – Т. 14, № 2. – С. 13–22.
22. Стуклов, Н. И. Лечение железодефицитной анемии. Что важнее, эффективность или переносимость? Существует ли оптимальное решение? / И. Н. Стуклов, Е. Н. Семенова // журнал международной медицины. – 2013. – №1(2). – С. 47–55.
23. Цветаева, Н. В. Основы регуляции обмена железа/ Н. В. Цветаева, А. А. Левина, Ю. И. Мамукова// Клиническая онкогематология. – 2010. – Т. 3, №3. – С. 278–282.
24. Шаназаров, Н. А. Рак желудка. Эпидемиологические особенности на современном этапе / Н. А. Шаназаров [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – №4.
25. Boz, A. The value of serum zinc, copper, ceruloplasmin levels in patients with gastrointestinal tract cancers / A. Boz [et.al] // Turk J Gastroenterol. – 2005. – № 16. – P. 81 – 84.
26. Cover, T. L. Diet, microbial virulence, and Helicobacter pylori-induced gastric cancer / T. L. Cover, R. M. Peek // Gut Microbes. – 2013. – V. 4, № 6. – P. 482–493.
27. Dahlerup, J. F. Diagnosis and treatment of unexplained anemia with iron deficiency without overt bleeding / J. F. Dahlerup [et.al] // Danish medical journal. – 2015. – № 62. – P. 1–13.
28. Dionigi, P. Nutritional Assessment and Surgical Infections in Patients with Gastric Cancer or Peptic Ulcer / P. Dionigi [et.al] // Journal of parenteral and enteral nutrition. – 1982. – V. 6, № 2. – P. 128–133.
29. El-Omar, E. M. Iron deficiency and Helicobacter pylori-induced gastric cancer: too little, too bad / E. M. El-Omar // The journal of clinical investigation. – 2013. – V. 123, № 1. – P. 113–114.

30. Fonseca-Nunes, A. Body iron status and gastric cancer risk in the EURGAST study / A. Fonseca-Nunes [et.al] // *International Journal of Cancer*. – 2015. – № 137. – P. 2904–2914.
31. Ganz, T. Hcpidin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation / T. Ganz // *Blood*. – 2003. – V.102, №3. – P. 783–788.
32. Gaware, V. Ceruloplasmin its role and significance: a review / V. Gaware [et.al] // *International Journal of Biomedical Research*. – 2010. – № 1. – P. 153-162.
33. Ghosh, S. Epidemiologic evidence of gastric cancer prognosis: role of dietary factors / S. Ghosh [et.al] // *International Journal of Research and Development in Pharmacy and Life Sciences*. – 2015. – V. 4, № 4. – P. 1620–1624.
34. Goddard, A. F. Guidelines for the management of iron deficiency anaemia / A. F. Goddard [et.al] // *Guidelines*. – 2011. – № 60. – P. 1309–1316.
35. Hellman, N. E. Ceruloplasmin metabolism and function / N. E. Hellman, J. D. Gitlin // *Annu. Rev. Nutr.* – 2002. – № 22. – P. 439–458.
36. Jakszyn, P. Dietary intake of heme iron and risk of gastric cancer in the European prospective investigation into cancer and nutrition study / P. Jakszyn [et.al] // *International Journal of Cancer*. – 2012. – № 130. – P. 2654–2663.
37. Jin, L. Decreased serum ceruloplasmin levels characteristically aggravate nigral iron deposition in Parkinson's disease / L. Jin [et.al] // *BRAIN*. – 2011. – № 134. – P. 50–58.
38. Khatawkar, A. V. Multi-nodular goiter: epidemiology, etiology, pathogenesis and pathology / A. V. khatawkar, S. M. Awati // *International Archives of Integrated Medicine*. – 2015. – V. 2, № 2. – P. 152–156.
39. Knekt, P. Serum ceruloplasmin and the risk of cancer in Finland / P. Knekt [et.al] // *Br. J. Cancer*. – 1992. – № 65. – P. 292–296.
40. Knobel, M. Etiopathology, clinical features, and treatment of diffuse and multinodular nontoxic goiters / M. Knobel // *J Endocrinol Invest*. – 2016. – № 39. P. 357–373.
41. Kondi-Pafiti, A. Immunohistochemical study of ceruloplasmin, lactoferrin and secretory component expression in neoplastic and non-neoplastic

thyroid gland diseases / A. Kondi-Pafiti [et.al] // *Actaoncologica*. – 2000. – V. 39, № 6. P. 753–756.

42. Koulaouzidis, A. Soluble Transferrin Receptors and Iron Deficiency, a Step beyond Ferritin. A Systematic Review / A. Koulaouzidis [et.al] // *J Gastrointestin Liver Dis*. – V. 18, № 3. – P. 345–352.

43. Lewinski, A. The problem of goitre with particular consideration of goitre resulting from iodine deficiency (I): Classification, diagnostics and treatment / A. Lewinski [et.al] // *Neuroendocrinology letters*. – 2002. – № 23. – P. 351–355.

44. Lopez-Avila, V. Ceruloplasmin levels in human sera from various diseases and their correlation with patient's age and gender / V. Lopez-Avila, W. H. Robinson, K. Lokits // *Health*. – 2009. – V. 1, № 2. – P. 104–110.

45. Panzuto, F. Large hiatal hernia in patients with iron deficiency anaemia: a prospective study on prevalence and treatment / F. Panzuti [et.al] // *Aliment Pharmacol Ther*. – 2004. – № 19. – P. 663–670.

46. Patel, M. Ramavataram, D. V. S. S. Non transferrin bound iron: Nature, manifestations and analytical for estimation/ M. Patel, D. V. S. S. Ramavataram// *Ind J ClinBiochem*. – 2012. – V. 27, № 4. – P. 322–332.

47. Piazuolo, M. B. Gastric cancer: Overview / M. B. Piazuolo, P. Correa // *Colombia Medica*. – 2013. – V. 44, № 3. – P. 192–201.

48. Ponka, P. The transferrin receptor: role in health and disease / P. Ponka, C. N. Lok // *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. – 1999. – № 31. – P. 1111 – 1137.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

Результаты исследования содержания железа в плазме крови у людей без патологий.

Номеробразца	Оптическаяплотность	Концентрация (мкмоль/л)
1	0,049	11,48
2	0,191	37,05
3	0,066	13,11
4	0,058	11,52
5	0,028	5,56
6	0,088	16,1
7	0,095	18,75
8	0,040	7,9
9	0,043	8,48
10	0,101	18,47
11	0,061	11,16
12	0,05	10,7
13	0,09	19,28
14	0,080	17,14

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

Статистическая обработка результатов содержания железа в плазме крови
здоровых людей.

Fe	$\bar{x} - x_i$	$(\bar{x} - x_i)^2$	σ	$m = \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$
9,93	-5,13	26,27	8,20	$\pm 2,19$
38,72	23,66	559,72		
13,38	-1,68	2,82		
11,76	-3,30	10,90		
5,68	-9,38	88,03		
17,84	2,78	7,73		
19,26	4,20	17,63		
8,11	-6,95	48,30		
8,72	-6,34	40,22		
20,47	5,42	29,32		
12,36	-2,69	7,25		
10,14	-4,92	24,23		
18,24	3,19	10,15		
16,22	1,16	1,34		
$\bar{x} = 15,06$				

ПРИЛОЖЕНИЕ В

Результаты исследования содержания церулоплазмينا в плазме крови у людей без патологий.

Номер образца	Оптическая плотность	Концентрация (мг/л)
1	0,319	279,2
2	0,140	122,5
3	0,072	63,0
4	0,201	175,9
5	0,093	81,4
6	0,495	433,1
7	0,235	205,6
8	0,339	296,6
9	0,307	268,6
10	0,318	278,3
11	0,277	242,4
12	0,400	350,0
13	0,253	221,4

ПРИЛОЖЕНИЕ Г

Статистическая обработка результатов содержания церулоплазмина в
плазме крови здоровых людей.

ЦП	$\bar{x} - x_i$	$(\bar{x} - x_i)^2$	σ	$m = \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$
279,2	-47,0	2213,3	104,7	29,0
122,5	109,7	12024,0		
63,0	169,2	28613,0		
175,9	56,3	3164,5		
81,4	150,8	22726,7		
433,1	-200,9	40379,4		
205,6	26,6	705,1		
296,6	-64,4	4153,3		
268,6	-36,4	1328,3		
278,3	-46,1	2129,5		
242,4	-10,2	105,0		
350,0	-117,8	13887,7		
221,4	10,8	115,6		
$\bar{x} = 232,15$				

ПРИЛОЖЕНИЕ Д

Результаты исследования содержания железа в плазме крови у людей больных диффузно токсическим зобом.

Номер образца	Оптическая плотность	Концентрация (мкмоль/л)
1	0,04	8,11
2	0,02	4,05
3	0,065	13,18
4	0,06	12,16
5	0,025	5,07
6	0,015	3,04
7	0,018	3,65
8	0,02	4,05
9	0,01	2,03
10	0,045	9,12
11	0,055	11,15
12	0,04	8,11
13	0,01	2,03
14	0,04	8,11
15	0,03	6,08
16	0,036	7,30
17	0,071	14,39
18	0,082	16,62
19	0,098	19,86

ПРИЛОЖЕНИЕ Е

Статистическая обработка результатов содержания железа в плазме крови
больных ДТЗ.

Fe	$\bar{x} - x_i$	$(\bar{x} - x_i)^2$	σ	$m = \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$
8,11	-0,21	0,04	5,10	$\pm 1,17$
4,05	-4,26	18,21		
13,18	4,85	23,56		
12,16	3,84	14,75		
5,07	-3,25	10,58		
3,04	-5,28	27,88		
3,65	-4,67	21,83		
4,05	-4,26	18,21		
2,03	-6,29	39,62		
9,12	0,80	0,64		
11,15	2,82	7,99		
8,11	-0,21	0,04		
2,03	-6,29	39,62		
8,11	-0,21	0,04		
6,08	-2,24	5,01		
7,30	-1,02	1,04		
14,39	6,07	36,84		
16,62	8,30	68,89		
19,86	11,54	133,24		
$\bar{x} = 8,32$				

ПРИЛОЖЕНИЕ Ж

Результаты исследования содержания железа в плазме крови у людей с раком желудка.

Номер образца	Оптическая плотность	Концентрация (мкмоль/л)
1	0,02	4,05
2	0,065	13,18
3	0,06	12,16
4	0,035	7,09
5	0,04	8,11
6	0,06	12,16
7	0,03	6,08
8	0,07	14,19
9	0,05	10,14
10	0,035	7,09
11	0,035	7,09
12	0,05	10,14
13	0,11	22,30

ПРИЛОЖЕНИЕ 3

Статистическая обработка результатов содержания железа в плазме крови
больных раком желудка.

Fe	$\bar{x} - x_i$	$(\bar{x} - x_i)^2$	σ	$m = \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$
4,05	-6,24	38,90	4,71	$\pm 1,31$
13,18	2,88	8,32		
12,16	1,87	3,50		
7,09	-3,20	10,22		
8,11	-2,18	4,77		
12,16	1,87	3,50		
6,08	-4,21	17,72		
14,19	3,90	15,20		
10,14	-0,16	0,02		
7,09	-3,20	10,22		
7,09	-3,20	10,22		
10,14	-0,16	0,02		
22,30	12,01	144,15		
$\bar{x} = 10,29$				

ПРИЛОЖЕНИЕ И

Результаты исследования содержания церулоплазмина в плазме крови у людей с диффузно токсическим зобом.

Номер образца	Оптическая плотность	Концентрация (мг/л)
1	0,72	631,75
2	0,36	310,63
3	0,28	243,25
4	0,62	545,13
5	0,39	341,25
6	0,48	415,63
7	0,12	105,00
8	0,40	350,00
9	0,17	150,50
10	0,36	315,00
11	0,34	297,50
12	0,50	435,75
13	0,48	416,50
14	0,50	434,88
15	0,44	387,63
16	0,86	749,88
17	0,55	478,63
18	0,34	300,13
19	0,55	483,88
20	0,23	203,88
21	0,17	147,00
22	0,28	240,63
23	0,34	300,13

ПРИЛОЖЕНИЕ К

Статистическая обработка результатов содержания церулоплазмина в
плазме крови людей больных ДТЗ.

ЦП	$\bar{x} - x_i$	$(\bar{x} - x_i)^2$	σ	$m = \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$
631,75	271,55	73741,76	155,28	±32,38
310,63	-49,57	2457,25		
243,25	-116,95	13676,29		
545,13	184,93	34198,86		
341,25	-18,95	358,94		
415,63	55,43	3072,41		
105,00	-255,20	65124,82		
350,00	-10,20	103,95		
150,50	-209,70	43972,27		
315,00	-45,20	2042,65		
297,50	-62,70	3930,74		
435,75	75,55	5708,46		
416,50	56,30	3170,18		
434,88	74,68	5577,00		
387,63	27,43	752,37		
749,88	389,68	151849,99		
478,63	118,43	14025,51		
300,13	-60,07	3608,48		
483,88	123,68	15296,58		
203,88	-156,32	24436,15		
147,00	-213,20	45452,39		
240,63	-119,57	14297,14		
300,13	-60,07	3608,48		
$\bar{x} = 360,20$				

ПРИЛОЖЕНИЕ Л

Результаты исследования содержания церулоплазмина в плазме крови у людей больных раком желудка.

Номер образца	Оптическая плотность	Концентрация (мг/л)
1	0,27	234,50
2	0,64	563,50
3	1,36	1187,38
4	0,52	455,00
5	1,41	1232,88
6	0,94	821,63
7	1,46	1274,00
8	0,94	825,13
9	0,35	301,88
10	0,53	461,13
11	0,31	271,25
12	0,43	375,38
13	0,34	296,63
14	0,24	206,50
15	0,18	159,25
16	0,32	282,63
17	0,35	306,25
18	0,37	327,25
19	1,06	927,50

ПРИЛОЖЕНИЕ М

Статистическая обработка результатов содержания церулоплазмина в плазме крови людей больных раком желудка.

ЦП	$\bar{x} - x_i$	$(\bar{x} - x_i)^2$	σ	$m = \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$
234,50	-318,64	101530,28	371,96	±85,33
563,50	10,36	107,37		
1187,38	634,24	402256,37		
455,00	-98,14	9631,10		
1232,88	679,74	462042,17		
821,63	268,49	72085,18		
1274,00	720,86	519641,80		
825,13	271,99	73976,84		
301,88	-251,26	63133,17		
461,13	-92,01	8466,42		
271,25	-281,89	79460,93		
375,38	-177,76	31599,74		
296,63	-256,51	65799,00		
206,50	-346,64	120158,01		
159,25	-393,89	155147,88		
282,63	-270,51	73177,37		
306,25	-246,89	60953,76		
327,25	-225,89	51025,46		
927,50	374,36	140146,79		
$\bar{x} = 553,14$				

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

Институт фундаментальной биологии и биотехнологий

Кафедра Медицинская биология

УТВЕРЖДАЮ
Заведующий кафедрой
_____ Е. И. Шишацкая

« _____ » _____ 20 ____ г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

06.03.01 - Биология

Исследования содержания железа и церулоплазмينا в плазме крови у людей
с различными патологиями

Руководитель

подпись, дата

проф. д.б.н. Н. М. Титова

Студент

подпись, дата

А. Н. Пуяткина

Красноярск 2017