

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Институт Фундаментальной Биологии и Биотехнологии
институт
Кафедра Медицинской биологии
кафедра

УТВЕРЖДАЮ
Заведующий кафедрой

_____ Е. И. Шишацкая
подпись инициалы, фамилия

« ____ » _____ 2020 г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

06.03.01 – Биология
код – наименование направления

Исследование активности гипоталамо–гипофизарной системы
в условиях патологии
тема

Руководитель _____ доцент, к.б.н. Ф.А. Гершкорон
подпись, дата должность, ученая степень инициалы, фамилия

Выпускник _____ Ю.М. Меркулова
подпись, дата инициалы, фамилия

Красноярск 2020

РЕФЕРАТ

Текст 53 с., 8 рис., 4 табл., 44 источника.

ГИПОТАЛАМО–ГИПОФИЗАРНАЯ СИСТЕМА, ГОРМОНЫ, КОРТИЗОЛ, ЭСТРАДИОЛ, ЭРИТРОЦИТАРНАЯ МЕМБРАНА, ВЯЗКОСТЬ КРОВИ, ДИФфуЗНО–ТОКСИЧЕСКИЙ ЗОБ

Целью работы – исследование активности гипоталамо–гипофизарной системы в условиях патологии «Диффузно–токсический зоб».

Объектами исследования являлись образцы сыворотки и цельной крови контрольной группы (здоровых людей) и группы больных с диагнозом диффузно–токсический зоб.

Исследовано содержание гормонов гипоталамо–гипофизарной системы: кортизола и эстрадиола в образцах крови больных ДТЗ.

Изучены литературные данные о влиянии гормонов ГГС на состояние мембраны эритроцитов.

Проанализированы данные литературы о целесообразности и актуальности применения метода кислотных эритрограмм для оценки функционального состояния мембраны эритроцитов крови.

Проведена оценка функционального состояния мембраны эритроцитов крови методом кислотных эритрограмм у больных диффузно–токсическим зобом.

Исследована вязкость крови методом гематокрита у больных диффузно–токсическим зобом.

Содержание

Содержание	3
ВВЕДЕНИЕ.....	5
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	7
1.1 Общий обзор итературы	7
1.1.1 Стресс	7
1.1.2Триада Селье.....	7
1.1.3 Гипоталамо–гипофизарная системы	8
1.1.4 Гипоталамус.....	8
1.1.4 Гипофиз	9
1.1.5 Гормоны стресса	9
1.1.6 Кортизол.....	10
1.1.7 Эстрадиол.....	11
1.1.8 Диффузно–токсический зоб.....	12
1.1.9 Эритроциты.....	13
1.1.10 Строение эритроцита	13
1.1.11 Состояние эритроцитов при патологии	14
1.2 Данные научных статей о влиянии стресс–гормонов на мембрану эритроцитов и применении метода кислотных эритрограмм	14
1.2.1 Основы наноструктурных переходов в мембранах эритроцитов и их разрушения при взаимодействии с гормонами стресса	14
1.2.2 Гормоны стресса и коронарный синдром X.....	16
1.2.3 Изменение фазового портрета и электрофоретической подвижности эритроцитов при различных видах заболеваний	18
1.2.4 Исследование структурно–функциональных свойств эритроцитов крови	19
1.2.5Способ оценки степени тяжести заболевания по данным кислотных и осмотических эритрограмм.....	21
2 Материалы и методы	24
2.1 Материалы исследования.....	24

2.2 Методы исследования.....	24
2.2.1 Определение кортизола методом иммуноферментного анализа	24
2.2.2 Определение эстрадиола методом иммуноферментного анализа	27
2.2.3 Метод химических (кислотных) эритрограмм.....	31
2.3.4. Определение гематокрита	33
3 Результаты и обсуждение.....	35
Заключение	36
Список сокращений	37
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	38

ВВЕДЕНИЕ

Кровь – это одна из тех соединительных тканей, которая может рассказать нам о состоянии организма, метаболических и воспалительных процессах. При различных заболеваниях и патологиях параметры крови могут изменяться. Некоторые патологии можно регистрировать и диагностировать при изменениях формы эритроцита (эхиноциты, сфероциты, стоматоциты и др.), по количеству эритроцитов, по содержанию гемоглобина и других различных параметров.

Медицине известно большое количество заболеваний, которые вызывают стресс–реакции в организме. Отрицательный эффект стрессора может зависеть от его силы, длительности или частой периодичности. Один и тот же стрессор может вызывать у разных людей неодинаковые проявления и течения болезней.

Гипотеза

Гипоталамо–гипофизарная система является одной из основных регуляторных систем организма. При этом существуют данные о том, что при патологических состояниях и стрессах, происходит повышение уровня кортизола (гиперкортизолемиа), что вызывает тиреотоксикоз [1, 2]. В литературных источниках так же отмечено, что кортизол может вызывать структурные изменения в мембране эритроцитов и изменять вязкость крови, а эстрадиол и кортизол могут усиливать эритропоэз [3].

В данной работе будет исследован уровень активности гипоталамо–гипофизарной системы посредством определения содержания гормонов – кортизола и эстрадиола. А так же исследована возможность влияния указанных гормонов на эритропоэз, эритроцитарную мембрану и вязкость крови.

Актуальность

При патологических состояниях в организме развивается физиологический стресс. В основе стресс–реакции лежит активация ГГС и ее деятельность при патологии мало изучена. Поэтому исследование проводилось с целью сбора новой информации и пополнения экспериментальных данных.

Цель

Целью данной работы являлось исследование активности гипоталамо–гипофизарной системы (ГГС) в условиях патологии «Диффузно–токсический зоб».

Задачи:

- 1) Исследовать содержание гормонов гипоталамо–гипофизарной системы: кортизола и эстрадиола в образцах крови больных диффузно–токсическим зобом.
- 2) Изучить литературные данные о влиянии гормонов гипоталамо–гипофизарной системы на состояние мембраны эритроцитов.
- 3) Проанализировать данные литературы о целесообразности и актуальности применения метода кислотных эритрограмм для оценки функционального состояния мембраны эритроцитов крови.
- 4) Оценить функциональное состояние мембраны эритроцитов крови методом кислотных эритрограмм у больных диффузно–токсическим зобом.
- 5) Исследовать вязкость крови методом гематокрита у больных диффузно–токсическим зобом.
- 6) Определить взаимосвязь исследуемых показателей.

1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Общий обзор литературы

1.1.1 Стресс

Стресс – это общая неспецифическая адаптивная реакция организма на стрессор, возникающая при наличии в организме патологических процессов, которые влекут за собой нарушение гомеостаза и изменения функций нервной и эндокринной систем [4].

Стрессовые реакции возникают в организме через систему гормональных сдвигов, а их направленность определена скоростью действия гормонов и типами стрессов. Основными типами таких стрессов являются – посттравматический, физический, механический, хронический, острый, психологический и иммобилизационный [5].

Стресс–реакция (общий адаптационный синдром) – активный механизм, который направлен на борьбу с факторами, неблагоприятными для организма, а так же направлен на предотвращение процессов, которые ведут к гибели организма [6].

1.1.2Триада Селье

Многообразные изменения, которые возникают в организме при стрессе, описаны Гансом Селье и названы, в настоящее время, «триадой Селье». Эта триада включает в себя:

- 1) Гипертрофию коры надпочечников и атрофию тимико–лимфатического аппарата, включающий в себя селезенку, тимус и лимфоузлы;
- 2) Образование геморрагических язв в ЖКТ;
- 3) Нарушение обмена веществ, изменения нормальных показателей крови, проявляющиеся в виде нейтрофильного лейкоцитоза и понижение количественного состава лимфоцитов.

Г. Селье в своих учениях писал: «При решении любой изнуряющей задачи человек сначала чувствует трудность, затем втягивается и, наконец, чувствует, что больше вынести эту нагрузку не в состоянии» [7].

В условиях патологии стресс вызывается раздражителями которые делятся на "сильные", "экстремальные" или "чрезвычайные". Такие раздражители, в зависимости от степени тяжести, могут приводить к шоку или смерти. При этом Г. Селье указывал, что состояние стресса вызывается как при избыточном действии раздражителя, так и при отсутствии привычных, необходимых воздействий [8].

1.1.3 Гипоталамо–гипофизарная системы

Гипоталамо–гипофизарная система (ГГС) представляет собой объединение структур гипоталамуса и гипофиза, которые выполняют нейроэндокринные функции. Данная система наглядно показывает тесную взаимосвязь нервной и гуморальной способов регуляции. ГГС – это основной регулятор, который отвечает за функционал и нормальную работу желез внутренней секреции [9]. Длительный стресс, в свою очередь, вызывает гиперактивацию оси гипоталамус–гипофиз–надпочечники (ГГН), за которой может последовать состояние гипоактивации [10].

1.1.4 Гипоталамус

Гипоталамус – высший нервный центр регуляции эндокринных функций. Этот участок промежуточного мозга является центром симпатического и парасимпатического отделов вегетативной нервной системы. Он отвечает за регуляцию и интеграцию обменных, трофических, эндокринных и других функций организма. Он продуцирует гипофизотропные гормоны, которые, в свою очередь, регулируют секрецию гипофизарных гормонов. Среди гормонов гипоталамуса можно выделить: либерины, активирующие секрецию гормонов гипофиза, и статины, которые действуют противоположно. К либерином относят: кортиколиберин, соматолиберин, тиролиберин, гонадолиберин,

пролактолиберин. К статидам в свою очередь можно отнести: соматостатин, меланостатин [11].

1.1.4 Гипофиз

Гипофиз – железа внутренней секреции, которая ответственна за выработку ряда гормонов и эти гормоны, в свою очередь, регулируют работу периферических эндокринных желез и некоторые метаболические процессы. Он лежит в гипофизарной ямке турецкого седла задней клиновидной кости и связан с гипоталамусом через гипофизарную ножку. Гипофиз состоит из передней, средней и задней долей. Его масса может изменяться, так как зависит от возраста и пола. [12].

У гипофиза различают две доли: переднюю и заднюю (аденогипофиз и нейрогипофиз соответственно) доли [13].

В нейрогипофизе имеются окончания волокон гипоталамо–гипофизарного тракта, которые вытекают из супраоптического и паравентрикулярных ядер гипоталамуса. Вазопрессин и окситоцин, которые секретируются в гипоталамических ядрах, поступают через аксовазальные синапсы, которые заканчиваются в аксоны клеток нейросекреции. Всего в АГ синтезируется шесть гормонов: гормон роста – соматропин, пролактин, тиреотропин, аденокортикотропный гормон, лютеинизирующий гормон, фолликулостимулирующий гормон [14].

Аденогипофиз – является главным регулятором эндокринной системы. Гормоны (ЛГ, ФСГ, ТТГ, АКТГ), которые секретируются в АГ, регулируют работу периферических желез эндокринной системы (гонад и щитовидной коры надпочечников). Остальные гормоны, такие как пролактин и ГР, работают с органами и тканями–мишенями, оказывая на них прямое действие [14].

1.1.5 Гормоны стресса

Гормонами стресса являются кортизол и адреналин. Данные гормоны, вступая во взаимодействие с мембранами эритроцитов, провоцируют ряд

структурных изменений, которые сопровождаются повышением микровязкости мембран в зонах белок– и липид–липидных взаимодействий [15]. В механизме связывания принимают участие водородные связи, гидрофобные и электростатические взаимодействия. Активные группы гормонов (метиламин–, амино–, имино–, кето– и гидроксигруппы) одновременно взаимодействуют с СО– и NH–группами как белков, так и фосфолипидов. Данные процессы лежат в основе структурно–фазовых переходов в мембране при взаимодействии ее с гормонами стресса [3]. К гормональным медиаторам стресса можно так же отнести цитокины и пептиды [16].

1.1.6 Кортизол

Кортизол является глюкокортикоидным гормоном и принадлежит к стероидам, тем самым гормонам, которые регулируют физиологические и биохимические процессы. Он производится в наружной коре надпочечников. Секретия биологически активного вещества происходит под воздействием АКГТ, который вырабатывается гипофизом. Диапазон действия этого гормона довольно обширный [17, 18, 19]. Кортизол влияет на возбудимость и пластичность нейронов, воздействуя на рецепторы минералокортикоидов и глюкокортикоидов, способствует выработке эритроцитов и тромбоцитов и расщеплению жиров [20].

Секретия кортизола, находится под влиянием гипоталамо–гипофизарно–надпочечниковой системы, которая начинается от гипоталамуса кортикотропин–рилизинг–гормоном. Его выделение усиливается при действии на организм стрессорных стимулов различной природы, что является пусковым моментом для развития адаптационного синдрома. Кортиколиберин стимулирует высвобождение адренкортикотропного гормона из передней доли гипофиза [21].

Кортизол является важным элементом в развитии стресс–реакции и противостоит воспалению. Почти любой тип стресса, как физический, так и эмоциональный, вызывает немедленное и заметное увеличение секреции КРФ,

который стимулирует выработку АКТГ аденогипофизом, затем значительно увеличивается секреция кортизола надпочечниками [22].

Реактивность кортизола, являющаяся показателем функции ГГА, является одним из возможных механизмов, посредством которых стресс может влиять на риск развития различных заболеваний [23].

В присутствии высокой концентрации кортизола происходит активизация липолиза в жировых тканях, что усиливает эффект глюкагона, соматотропного гормона и катехоламинов. Кортизол также имеет прямое воздействие на усиление окисления жирных кислот в клетках. Повышенная мобилизация жиров, в сочетании с увеличением окислением жирных кислот в клетках, помогает сдвигать метаболические процессы в клетках от утилизации глюкозы для обеспечения энергии к утилизации жирных кислот [24].

Кортизол является неким синергистом для эритроцитарных мембран, так как он увеличивает жесткость этих мембран и вызывает развитие гипоксии при прохождении по капиллярному кругу кровообращения [3]. Так же в мембранах эритроцитов кортизол вызывает изменения эритроцитарных структур, которые могут сопровождаться повышением микровязкости мембран [25].

1.1.7 Эстрадиол

Эстрадиол – это стероидный гормон, он является основным и наиболее активным природным гормоном группы эстрогенов [26]. Эстрадиол нужен для образования и развития тканей в критические периоды жизни организма. Для коммуникации специализированных клеток организма и мезенхимой, эстрадиол регулирует экспрессию факторов роста тканей и их рецепторов, а так же выполняет роль «тормоза» для обратного захвата серотонина в гипоталамусе [27].

Эстрадиол является гормоном стресс–реакции, он имеет способность отвечать на стрессорное воздействие двояко. Данный гормон, при концентрации как в пределах нормы, так и в повышенных концентрациях, может благоприятно влиять и на мужчин, и на женщин. Эстрадиол принимает

участие в регуляции репродуктивной функции, поддерживает тонус сосудов и костной массы, а так же активирует синтез надпочечниковых андрогенов [28]. В норме уровень эстрадиола в крови снижает жирность крови, снижает тромбообразование и оказывает значительное влияние на уровень липопротеинов плазмы крови [29]. Но многие эффекты эстрадиола, осуществляемые через мембранные связи, могут блокироваться антагонистами эстрогенов [27].

1.1.8 Диффузно–токсический зоб

Диффузно–токсический зоб (или по–другому болезнь Грейвса, Базедова болезнь) – это аутоиммунное заболевание, характеризующееся зобом. ДТЗ обусловлен гипертрофией щитовидной железы и стимуляцией функции, возникающей в результате взаимодействия анти–ТТГ–рецепторных антител (TRAb) с рецептором ТТГ на фолликулярных клетках щитовидной железы. Измерения сывороточного уровня TRAb и УЗИ щитовидной железы представляют собой наиболее важные диагностические тесты для болезни Грейвса [30]. Данное заболевание провоцирует острые и хронические инфекции, заболевание ГГ системы. При тяжелой форме ДТЗ может быть угнетена функция костного мозга, которая ведет за собой развитие анемии и лейкопении [31]. Морфологические изменения, которые проявляются при ДТЗ, обусловлены увеличенным размером долек щитовидной железы, гиперплазией ЩЖ и активным разрастанием тиреоидного эпителия [32].

ДТЗ — это многофакторное заболевание, которое является взаимодействия между генетической предрасположенностью в комплексе с факторами внешней (окружающей) среды. Идентифицировано несколько генетических маркеров, которые могут определить предрасположенность к развитию данного заболевания. Факторы внешней среды, которые могут повлечь за собой развитие этого заболевания, являются различные инфекции, высокое потребление йода через продукты питания и воды, ведение нездорового образа жизни, курение и психологический стресс [33].

При ДТЗ можно наблюдать тиреотоксикоз, который сопровождается увеличением объема циркулирующей крови и эритроцитарной массы. Причиной этому служит изменение уровня сывороточного эритропоэтина, что приводит в конечном итоге к увеличению количества эритроцитов [1].

1.1.9 Эритроциты

Эритроциты, также известные под названием «красные кровяные тельца» – это клетки крови человека, позвоночных и нескольких беспозвоночных животных. Они выполняют функцию транспорта кислорода из лёгких к живым тканям организма и, в обратном направлении, диоксида углерода (CO₂). Эритроциты участвуют в регулировке кислотно–щелочного баланса, выполняют функцию адсорбентов, которые переносят аминокислоты и липиды к живым тканям [34].

В кровотоке они живут от 60 до 120 суток. Продолжительность жизни у мужчин на 10–20 дней больше, чем у женщин [35]. Эритроциты, непригодные для жизни, попадают в селезенку, где происходит их разрушение и выделение гемоглобина во внешнюю среду (органа). Такой процесс называется гемолиз. Помимо селезенки, эритроциты могут разрушаться в красном костном мозге и печени. При различных заболеваниях количество эритроцитов может уменьшаться или увеличиваться [36]. Эритроциты являются безъядерными элементами, но имеют такую же характерную особенность, присущую ядерным клеткам – они подвержены апоптозу – процессу, несущему запрограммированную гибель клеток [37, 38].

1.1.10 Строение эритроцита

Количественный состав эритроцитов в крови здорового и взрослого человека составляет около $25 \times 10^{12}/л$. Форменные элементы крови имеют от общего объема крови около 40%, на плазму приходятся оставшиеся 60%.

Эритроцит человека в норме имеет двояковогнутую, дискоидную форму. Структура у эритроцитарной мембраны сходна со структурой ядерных клеток, а

цитоскелет эритроцита, в данном случае, является отличительным признаком. Этот цитоскелет называют скелетом мембраны. Единство липидного слоя, гибкость и внутренняя подвижность достигается благодаря прочности эритроцитарной мембраны и особенности ее расположения [39].

1.1.11 Состояние эритроцитов при патологии

Кровь – это подвижная соединительная ткань, она удобна для исследований, которые касаются людей и животных. Для изучения функциональных сдвигов, которые происходят в крови, используют эритроциты и их мембранные стенки. Эритроциты, в отличие от других клеток, находятся в изотоническом растворе и именно поэтому они очень чувствительны к шоку, что помогает исследователям распознать на первых стадиях отклонения от нормы.

Кровь имеет явное разделение по морфологическим и биохимическим специализациям и является в некоторой мере однородной тканью. Именно кровь можно брать для анализов в многократных повторностях, не нанося серьезный ущерб организму. Она является чувствительным показателем стресса и используется лаборантами и исследователями для изучения процессов адаптации, резистентности и сохранения гомеостаза в организме [40].

Если в организме патологические состояния не имеются, то продолжительность жизни эритроцитов в системном кровотоке составляет около 100–120 дней. При стрессе их продолжительность жизни заметно снижается [39].

1.2 Данные научных статей о влиянии стресс–гормонов на мембрану эритроцитов и применении метода кислотных эритрограмм

1.2.1 Основы наноструктурных переходов в мембранах эритроцитов и их разрушения при взаимодействии с гормонами стресса

В работе «Основы многоуровневой мезомеханики наноструктурных переходов в мембранах эритроцитов и их разрушения при взаимодействии с

гормонами стресса» от Л.Е. Панина, П.В. Мокрушникова, В.Г. Куницына [3], исследовали действие кортизола, адреналина, норадреналина на эритроцитарные мембраны.

Все материалы для исследования собирали согласно этическим нормам. Эритроциты были получены из свежевыделенной крови после обезглавливания крыс под нем-буталовым наркозом.

Основными методами исследования были:

- 1) Атомно-силовая микроскопия;
- 2) Инфракрасная спектроскопия теней эритроцитов;
- 3) Флюоресцентный анализ теней эритроцитов.

Для анализа с помощью атомно-силовой микроскопии:

- 1) Нормальные эритроциты крысы;
- 2) Поверхность эритроцита после взаимодействия с растворителем гормонов;
- 3) Поверхность эритроцита после адсорбции на ней кортизола, норадреналина и адреналина.

Результаты

Эритроциты здоровых животных, при использовании метода атомно-силовой микроскопии, имели вид нормальных здоровых эритроцитов – крупные двояковогнутые диски. При большем увеличении на поверхности эритроцитов была обнаружена мелкая шероховатость, которую исследователи обосновали присутствием мембраносвязанных белков. Шероховатость поверхности эритроцитов возрастала при добавлении растворителя гормонов. При добавлении кортизола в эритроцитарную взвесь, картина видоизменялась. На поверхности мембран в больших количествах были обнаружены мезополосы локального разрыхления мембранной структуры.

Норадреналин вызывал более серьезные изменения мембранных структур. На поверхности мембран появились выпуклые участки – домены, чередующиеся с ямами, которые имели вид углублений поверхности.

При добавлении адреналина наблюдали картину аналогичную норадреналину. Но основным отличием морфологических особенностей было то, что на границах рыхлого вещества, возникали еще и внутренние домены, но меньшего размера. Этот случай исследователи обосновали наличием избыточного содержания воды на поверхности мембран.

На основании проведенной работы, исследователи сделали вывод о том, что адаптивные гормоны повышают жесткость мембран эритроцитов, из-за чего подобные эритроциты могут вызывать гипоксию при протекании в капиллярном русле тканей.

1.2.2 Гормоны стресса и коронарный синдром X

«Гормоны стресса и коронарный синдром X» – работа Панина Л.Е., Мокрушникова П.В., Куницына В.Г. и др, посвящена экспериментальной проверке механизма в области развития коронарного синдрома X, который обусловлен повышенной микровязкостью эритроцитов, из-за которой они не способны нормально передвигаться по капиллярному руслу. Весь этот процесс может привести к нарушениям циркуляции крови по кровеносным сосудам миокарда и, в конечном итоге, к остановке сердца [41].

Изменения в структурах мембран эритроцитов при взаимодействии с гормонами стресса, влекущие за собой повышение микровязкости и нарушения в белок–липидных взаимодействиях, обусловлены образованием сложных доменов из-за взаимодействия активных групп гормонов с липидными и белковыми компонентами мембран.

Методы, применяемые в работе:

- 1) Атомно–силовая микроскопия эритроцитов;
- 2) Флюоресцентный анализ теней эритроцитов;
- 3) Измерение микровязкости мембран эритроцитов;
- 4) Перфузия изолированного сердца крысы.

Материалы

Все материалы для исследования собирали согласно этическим нормам.

Эритроциты были получены из крови самцов крыс линии Вистар после проведения обезглавливания под легким нембуталовым наркозом.

Для перфузии брали изолированное сердце самца крысы, аорта была канюлирована.

Результаты

При проведении атомно–силовой микроскопии, эритроциты здоровых крыс имели вид крупных двояковогнутых дисков, которые полностью соответствовали показателям нормы. На большем увеличении была замечена неоднородность, которая отражает наличие мембранно–связанных белков. При добавлении к эритроцитам диметилсульфоксида и этанола неоднородность поверхности увеличивалась. Исследователи связали это с возможной поверхностной денатурацией белков растворителя. Кортизол, в свою очередь, спровоцировал появление большого количества мезополос на эритроцитарной мембране.

Кортизол взаимодействует с белками только на поверхности самой эритроцитарной мембраны, что приводит к изменениям их вторичной структуры. Кривые тушения флюоресценции триптофана при проведении флюоресцентного анализа, указывают на структурные изменения и переходы, происходящие в мембранах эритроцитов при влиянии на них кортизола. Так же исследователями был сделан вывод о том, что влияние кортизола снижает энтропию структурных компонентов мембран, но увеличивает степень их упорядоченности. Аналогичные результаты были получены и для адреналина. Из–за высокой упорядоченности структуры мембранных белков, гипохромный эффект, в сравнении с кортизолом, выражен в большей степени.

Микровязкость эритроцитарных мембран возрастала при добавлении к ним кортизола и адреналина. Эффект воздействия кортизола на микровязкость мембран почти в два раза сильнее, чем воздействие адреналина (40% к 25 % соответственно). В белках степень структурных переходов в эритроцитарных мембранах при добавлении гормонов стресса выражен более ярко, чем в липидах.

При перфузии сердца посредством адреналина, показатель сердечной работоспособности превышал исходный показатель в два раза, было установлено увеличение частоты сердечных сокращений (ЧСС), что является характерной особенностью действия адреналина. Причиной остановки сердца послужила гипоксия миокарда в острой форме.

1.2.3 Изменение фазового портрета и электрофоретической подвижности эритроцитов при различных видах заболеваний

Исследование А.В. Дерюгиной и др., которое называется «Изменение фазового портрета и электрофоретической подвижности эритроцитов при различных видах заболеваний», основывается на изучении фазового портрета электрофоретической подвижности эритроцитов (ЭФПЭ) и клинико–лабораторных показателей крови у пациентов с различными заболеваниями [42].

Материалы и методы

Для данного исследования использовались клинико–лабораторные показатели крови с заболеваниями сердечнососудистой системы, гинекологическими, бронхолегочными и гастроэнтерологическими заболеваниями, а так же их ЭФПЭ и фазовые портреты.

Результаты

Проведенные эксперименты *invitro*, были связаны с анализом изменения ЭФПЭ и МОЭ при воздействии на эритроциты кортизола и адреналина. Этот эксперимент включил в себя две фазы стресс–реакции, которые показали следующее:

- 1) Первая фаза включила в себя увеличение концентрации гормонов в крови;
- 2) Вторая фаза была направлена на устранение стресса, так как кортизол находился в активной форме и имел высокую концентрацию.

Однонаправленное снижение ЭФПЭ было выявлено при действии адреналина, а показатели ЭФПЭ, из-за воздействия кортизола, были увеличены.

При определении фазовых портретов было выявлено, что под действием адреналина эритроциты приобретали сферичную форму, а при воздействии кортизола были обнаружены эхиноциты.

Результаты исследования показывают, что при наличии патологий, внутри организма возникает стрессовая реакция, которая вызывает морфологические изменения, а так же изменения ЭФПЭ. В зависимости от скорости развития патологических процессов, можно определить уровень стресса. От степени развития болезни и ее течения, будет зависеть рост патологических видоизмененных эритроцитов, а так же уровень ЭФПЭ.

Адреналин, при взаимодействии с эритроцитарными рецепторами, активизирует фосфолипазы и увеличивает проницаемость мембран. Из-за перекисного окисления липидов и потери эритроцитарных гормон-рецепторных комплексов, он ведет за собой повреждение или разрушение эритроцитарных мембран.

Снижение стрессовых реакций при патологических процессах и включения адаптивного режима организма достигается путем лечения по терапевтическим назначениям.

1.2.4 Исследование структурно-функциональных свойств эритроцитов крови

Черепно-мозговые травмы, от легких до тяжелых, влияют на функции и структуры эритроцитарных мембран. Такие изменения можно увидеть при работе с использованием метода сканирующей электронной микроскопии и метода химических (кислотных) эритрограмм. Оценка таких нарушений при травмировании мозга, требует проведения большого количества работы с использованием сложных методик, которая затрачивает много времени.

Целью работы Артюхова В. Г., которая называется «Исследование структурно–функциональных свойств эритроцитов крови больных с легкой черепно–мозговой травмой», было исследовать структурно–функциональные изменения в эритроцитарных мембранах у больных с травмами ГМ. В работе применялись два метода, которые помогли определить эритроцитарную стойкость при гемолизе и получить информацию об архитектурных изменениях эритроцитарных мембран [43].

Материалы и методы

Материалом данной работы являлись суспензии эритроцитов цельную кровь доноров и больных. Полученную суспензию эритроцитов, после разведения ФР, центрифугировали и отмывали.

Основными методами работы являлись – автоматический метод регистрации осмотических и кислотных эритрограмм и метод сканирующей электронной микроскопии.

Результаты

Изучив структурно–функциональные свойства эритроцитов больных с легкой формой ЧМТ, было установлено:

Величина осмотической резистентности эритроцитов, у больных с легкой ЧМТ, резко снижена. Барьер проницаемости мембран эритроцитов для ионов водорода так же понижен. Устойчивость мембран эритроцитов для кислоты понижена, а количество эритроцитов, одновременно вступающих в фазу гемолиза, увеличено.

Проводя анализ с помощью метода сканирующей электронной микроскопии, морфологический анализ архитектоники показал морфологическую схожесть эритроцитов доноров и больных. Устойчивость эритроцитов была обоснована наличием двояковогнутых дискоцитов. При проведении работы, с помощью метода кислотных эритрограмм, было выявлено, что эритроциты имели скрытые структурные нарушения, именно из–за этого уровень гемолитической активности был увеличен.

Результаты этой работы показали, что при ЧМТ в легкой форме развиваются процессы, влекущие за собой морфологические и функциональные изменения свойств эритроцитарных мембран. В дальнейшем такие нарушения ведут за собой гипоксию, изменения гемодинамики и транспортных свойств крови.

1.2.5 Способ оценки степени тяжести заболевания по данным кислотных и осмотических эритрограмм

В 2009 году был оформлен патент «Способ оценки степени тяжести состояния доношенных новорожденных детей по данным кислотных и осмотических эритрограмм» [44]. Целью данной работы является разработка способа оценки состояния новорожденных при нарушении адаптации с использованием неинвазивного метода, при котором будут учитываться данные кислотной и осмотической эритрограмм.

Оценку степени тяжести проводят при работе с данными, полученные в ходе работы с методом кислотных и осмотических эритрограмм, при этом параллельно определяя степень патологии (легкая, умеренная или тяжелая форма).

Материалы и методы

Забор крови производится из вены головы новорожденного. Кровь помещали в пробирку со стабилизатором, разводили ФР, центрифугировали и отмывали.

Для проведения работы было обследовано 25 новорожденных детей на первой недели жизни, которые находились в общем и реанимационном отделении, а так же в отделении интенсивной терапии родильных домов в г. Воронеж.

Обработка эритроцитов производилась на установке, которая включает в себя фотоэлектрический колориметр ФЭК – 56М, цифровой вольтметр В7–20 и регистрационный блок ЛКД 4–003.

Исследования осмотической резистентности эритроцитов крови новорожденных были проведены с помощью метода регистрации во времени кинетики осмотического гемолиза эритроцитов.

Результаты

Расчет средних значений изученных показателей для выделенных клинических групп, обозначенных как легкая, умеренная или тяжелая степень нарушения функционального состояния организма новорожденного показал следующее:

Степень тяжести клинического состояния	Gmax, %	Kmax, отн. ед.	Плат, с	G120, %
Средние значения и их ошибка				
легкая	92,6±1,36	0,92±0,1	193,4±41,14	1±0
умеренная	80,25±4,71	0,8±0,08	175,125±16,0	2,12±0,12
тяжелая	75,43±3,99	0,58±0,1	153±46,97	9,14±3,95
Достоверность различий между группами по коэффициенту Стьюдента				
легкая - умеренная	0,035422492	0,400679	0,69542	0,00000427
легкая - тяжелая	0,000009145	0,22978	0,315345	0,083028
средняя - тяжелая	0,000001713	0,046615	0,663962	0,0108254

Рисунок 1 – Сравнительная характеристика показателей кислотного и гипоосмотического гемолиза эритроцитов новорожденных в зависимости от степени тяжести

Все представленные расчеты в данной работе позволили исследователям сделать вывод о том, что все эти показатели следует учитывать при оценке степени нарушений адаптации, которые проявляются у новорожденных. Окончательные выводы могут считаться достоверно обоснованными, если учитывается показатель Gmax и G120. Тяжелая степень нарушений, требует от врачей повышенное внимание и проведение необходимых лечебных манипуляций.

Именно комплексная оценка структурно–функциональных свойств эритроцитов сможет помочь врачам оценить тяжесть состояния новорожденных и по ходу лечения контролировать терапевтический эффект, а так же позволит корректировать схемы лечения, что сможет в дальнейшем создать благоприятную динамику самого лечения и конечного выздоровления.

Благодаря совокупности данных методов, можно внести должный вклад в развитие доказательной медицины.

2 Материалы и методы

2.1 Материалы исследования

Материалами исследования послужили образцы сыворотки и цельной крови контрольной группы (здоровых людей), а так же группы больных с диагнозом диффузно–токсический зоб (ДТЗ). Кровь забиралась утром натощак из локтевой вены.

Количество исследованных проб:

- 1) 40 образцов сыворотки и цельной крови контрольной группы (здоровых людей);
- 2) 49 образцов сыворотки и цельной крови больных диффузно–токсическим зобом.

2.2 Методы исследования

В данной работе использовалось три метода – метод химических (кислотных) эритрограмм, метод иммуноферментного анализа и метод определения гематокрита.

Проведение статистической обработки результатов осуществлялось на базе программ Microsoft Excel XP и пакета программ для статистического анализа Statistica 10.

2.2.1 Определение кортизола методом иммуноферментного анализа

Принцип метода

Метод основан на твердофазном конкурентном иммуноферментном анализе с применением моноклональных антител. В лунках планшета, при добавлении исследуемого образца и конъюгата кортизол–пероксидаза, во время инкубации происходит конкурентное связывание сывороточного кортизола и кортизола, конъюгированного с пероксидазой, с моноклональными антителами к кортизолу, иммобилизованными на внутренней поверхности лунок планшета.

При удалении содержимого из лунок происходит разделение свободного и связанного антителами конъюгата кортизол–пероксидаза, причем количество связанного антителами конъюгата обратно пропорционально количеству концентрации кортизола в анализируемом образце сыворотки крови.

Во время инкубации с ТМБ–Субстратным раствором происходит окрашивание раствора в лунках. Степень окраски прямо пропорционально количеству связанного антителами конъюгата кортизол–пероксидаза. После измерения оптической плотности раствора в лунках на основании калибровочного графика рассчитывается концентрация кортизола в исследуемых образцах. Для анализа использовался набор для количественного определения кортизола методом иммуноферментного анализа (ДС–ИФА–Стероид–Кортизол), являющийся продукцией ООО Научно–Производственного Объединения «Диагностические системы».

Состав набора

- 1) Иммуносорбент – полистероловый 96–луночный разборный планшет с иммобилизованными на внутренней поверхности лунок моноклональными антителами к кортизолу – 1 шт;
- 2) Конъюгат – кортизол, меченный пероксидазой хрена, прозрачная опалесцирующая жидкость розового цвета – 1 фл. (12мл);
- 3) 6 калибровочных проб на основе сыворотки крови человека, содержащие известные количества кортизола, прозрачные или опалесцирующие жидкости светло–желтого цвета;
- 4) Контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием кортизола, прозрачная или опалесцирующая жидкость светло–желтого цвета – 1 фл. (0,5 мл);
- 5) Промывочный раствор, 25–кратный концентрат, прозрачная слегка опалесцирующая, бесцветная или светло–жёлтого цвета жидкость (допустимо образование осадка), полностью растворяющегося при температуре от 35 до 39 °С и встряхивании – фл. (50 мл);

- 6) ТМБ–Субстратный раствор; прозрачная бесцветная жидкость – 1 фл. (12 мл.);
- 7) Стоп–реагент (0,2 М серная кислота), прозрачная бесцветная жидкость –1 фл. (15 мл.);
- 8) Инструкция по применению – 1 шт.

Ход работы

1) Стандартные калибровочные пробы и контрольную сыворотку вносят по 25 мкл в двух повторах. Рекомендуется оставить 2 лунки для измерения ОП ТМБ – Субстратного раствора. В остальные лунки вносят по 25 мкл исследуемых образцов сыворотки крови в двух повторностях.

2) Во все лунки планшета, кроме лунок с контролем ТБ–Субстратного раствора, вносят по 100 мкл конъюгата, а планшет закрывается крышкой или защитной пленкой.

3) Возможны две процедуры инкубации планшета:

Процедура 1 (термостатируемый шейкер, $(37,0 \pm 0,5)^\circ\text{C}$):

Планшет инкубируют в течение 30 минут на термостатируемом шейкере при встряхивании со скоростью от 500 до 800 об/мин и температуре $(37,0 \pm 0,5)^\circ\text{C}$.

Процедура 2 (комнатная температура):

После внесения в лунки планшета образцов и конъюгата, содержимое перемешивают аккуратным постукиванием по краям планшета в течение 30 секунд, все это закрывается крышкой или защитной пленкой. Далее инкубируют в течение 60 минут при комнатной температуре $(20 - 25^\circ\text{C})$.

4) По окончании инкубации содержимое лунок удаляется с помощью промывочного устройства в емкость для сбора инфицированного материала;

5) Планшет промывается 5 раз рабочим ПР, добавляя во все лунки планшета не менее 300 мкл рабочего ПР и удаляя рабочий ПР с

- помощью промывочного устройства в емкость для сбора инфицированного материала;
- 6) После последнего промывания удаляются остатки жидкости из лунок простым постукиванием рамки со стрипами в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.
 - 7) Далее немедленно во все лунки планшета вносится по 100 мкл ТБ-Субстратного раствора и выдерживается при комнатной температуре в темноте (процедура №1 и №2 проводится 20 – 30 минут);
 - 8) Реакцию останавливают добавлением во все лунки планшета по 150 мкл стоп – реагента, стрипы встряхиваются на шейкере в течение 5 – 10 секунд. Время между остановкой реакции и измерением ОП не должно превышать 20 мин.

Спектрофотометрический контроль внесения сывороток и реагентов при постановке тест – системы «ДС-ИФА-Стероид-Кортизол» производится на автоматических ИФА-анализаторах.

Контроль внесения конъюгата рекомендуется проводить при длинах волн 540 (550) нм, критерий ОП > 0,500.

2.2.2 Определение эстрадиола методом иммуноферментного анализа

Определение концентрации эстрадиола в сыворотке крови было произведено с помощью набора «ЭСТРАДИОЛ-ИФА» производства ООО «ХЕМА». Набор реагентов «ЭСТРАДИОЛ-ИФА» предназначен для количественного определения концентрации эстрадиола в сыворотке (плазме) крови методом твердофазного иммуноферментного анализа.

Принцип метода

Определение эстрадиола основано на использовании конкурентного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы кроличьи поликлональные антитела к эстрадиолу. Эстрадиол из образца конкурирует с конъюгированным эстрадиолом за связывание

с антителами на поверхности лунки. В результате образуется связанный с пластиком «сэндвич», содержащий пероксидазу. Во время инкубации с раствором субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) происходит окрашивание растворов в лунках. Интенсивность окраски обратно пропорциональна концентрации эстрадиола в исследуемом образце. Концентрацию эстрадиола в исследуемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания эстрадиола в калибровочных пробах.

Оборудование и материалы

- 1) Фотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность содержимого лунок планшета при длине волны 450 нм;
- 2) Термостат, поддерживающий температуру $+37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,1\text{ }^{\circ}\text{C}$ (или термоста–тируемый шейкер);
- 3) Дозаторы со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы в диапазоне 25–250 мкл;
- 4) Цилиндр мерный вместимостью 500 мл;
- 5) Вода дистиллированная;
- 6) Перчатки резиновые или пластиковые;
- 7) Фильтровальная бумага.

Подготовка реагентов для анализа

Перед проведением анализа все компоненты набора и исследуемые образцы сыворотки крови следует выдержать при комнатной температуре ($+18\dots+25\text{ }^{\circ}\text{C}$) не менее 30 мин.

Приготовление планшета

- 1) Вскрыть пакет с планшетом и установить на рамку необходимое количество стрипов;

- 2) Оставшиеся неиспользованными стрипы тщательно заклеить бумагой или пленкой, чтобы предотвратить воздействие на них влаги;
- 3) Хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности набора.

Приготовление отмывочного раствора

Содержимое флакона с концентратом отмывочного раствора (22 мл), переносят в мерный цилиндр вместимостью 500 мл, добавляется 440 мл дистиллированной воды и тщательно перемешивается.

Проведение анализа

- 1) Поместить в рамку необходимое количество стрипов – исследуемые образцы в 2 повторах и 14 лунок для калибровочных проб и контрольной сыворотки;
- 2) Внести в соответствующие лунки в дубликатах по 25 мкл калибровочной пробы и контрольной сыворотки. В остальные лунки внести в дубликатах по 25 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови. Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов произвести в течение 5–10 минут;
- 3) Внести во все лунки по 100 мкл конъюгата;
- 4) Заклеить планшет бумагой для заклеивания планшета и инкубировать его в течение 120 минут при температуре +37°С. Допускается инкубация в течение 60 минут при +37°С и постоянном встряхивании (600 об/мин);
- 5) По окончании инкубации удалить содержимое лунок и отмыть лунки 5 раз. При каждой отмывке добавить во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора, встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно

удалять остатки жидкости из лунок постукиванием планшета в перевернутом положении по фильтровальной бумаге;

- 6) Внести во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина. Внесение раствора субстрата тетраметилбензидина в лунки произвести в течение 2–3 мин. Инкубировать планшет в темноте при комнатной температуре (+18...+25°C) в течение 10–20 минут в зависимости от степени развития синего окрашивания;
- 7) Внести во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, по 100 мкл стоп–реагента, при этом содержимое лунок окрашивается в ярко– желтый цвет;
- 8) Измерить величину оптической плотности содержимого лунок планшета на фотометре при длине волны 450 нм. Измерение ОП содержимого лунок планшета произвести в течение 15 мин после внесения стоп–реагента. Бланк фотометра выставить по воздуху;
- 9) Построить в полулогарифмических координатах калибровочный график: ось абсцисс (x) – десятичный логарифм концентрации эстрадиола в калибровочных пробах (нмоль/л), ось ординат (y) – оптическая плотность калибровочных проб (ОП 450 нм). Для алгоритма обсчета калибровочного графика использовать интервальный метод. Приравнять концентрацию калибровочной пробы 0 нмоль/л к несущественно малой величине, например, 0.001 нмоль/л;

Определить по калибровочному графику содержание эстрадиола в исследуемых образцах.

2.2.3 Метод химических (кислотных) эритрограмм

Принцип метода

В стандартных условиях реакции через равные промежутки времени регистрируют убыль эритроцитов в результате их последовательного гемолиза. Время является мерой кислотной резистентности клеток.

Ход работы

- 1) Готовится раствор – 0,9% NaCl 12мл, и 50мкл HCl 0,1 малярности;
- 2) Включается прибор ФЭК, температура воды поддерживается строго $24 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$;
- 3) В кювету добавляется 4мл физраствора (NaCl) и зануляем (0 D) по шкале оптической плотности;
- 4) Берется кровь и добавляется в кювету до тех пор, пока стрелка не опустится до показателя 0,7 D по шкале оптической плотности;
- 5) Из кюветы забирается 2мл в пробирку;
- 6) Остатки убираются из кюветы в слив, кювету промывается;
- 7) Из пробирки 2мл раствора снова погружаются в кювету для проверки. Стрелка ФЭКа должна быть на 0,7 D;
- 8) С момента введения кислоты сразу же производится отсчет времени (по 30 сек.) и запись показаний;
- 9) Все содержимое из кюветы убирается в слив, ФЭК аппарат выключается;
- 10) Все данные вносятся в таблицу для подсчета, далее строится график эритрограммы согласно инструкции (см. ниже).

В стабильных условиях начинается распад эритроцитов, измеряемый по падению светорассеяния взвеси. Падение светорассеяния нарушает равенство световых потоков в плечах прибора, вызывая отклонения стрелки гальванометра. Выравнивание освещенности осуществляется поворотом

барабана, связанного с диафрагмой. Угол поворота, необходимый для восстановления нулевого положения стрелки гальванометра, отсчитывается по шкале оптической плотности и является мерой степени гемолиза. Падение оптической плотности в этих условиях линейно связано с числом распадающихся эритроцитов.

В результате опыта получается ряд значений оптической плотности, которые соответствуют распределению по стойкости эритроцитов, причем число групп эритроцитов, которые удается выделить, определяется числом сделанных отсчетов.

Отсчет времени ведется до получения 2–3 совпадений по минимальным показаниям, которые обозначают окончание гемолиза.

Фотометрическая кривая, которая отражает процесс гемолиза, соответствует распределению эритроцитов по стойкости. Изменение экстинции от момента истинного начала гемолиза до полного его завершения пропорционально числу всех эритроцитов, участвующих в процессе.

В первой и второй графах таблицы указаны время гемолиза (в минутах) и полученные в отсчетах соответствующие значения экстинции. В третьей графе даны разности экстинции (ΔE) между соседними отсчетами, которые количественно выражают особую группу эритроцитов, стойкость которой определяется временем, прошедшим от начала гемолиза до этого отсчета.

Разница между экстинцией по окончании гемолиза принимается за 100 и в четвертой графе таблицы вычисляется процент ΔE , отражающий процент эритроцитов данной стойкости (%Э). Этим достигается независимость результатов от индивидуальных колебаний числа эритроцитов и количества гемоглобина.

Процентное распределение эритроцитов по стойкости удобно изображать графической кривой зависимости %Э от времени гемолиза, эта кривая называется эритрограммой.

На рисунке 4 показаны значения средней эритрограммы крови здоровых людей и пределы отклонений.

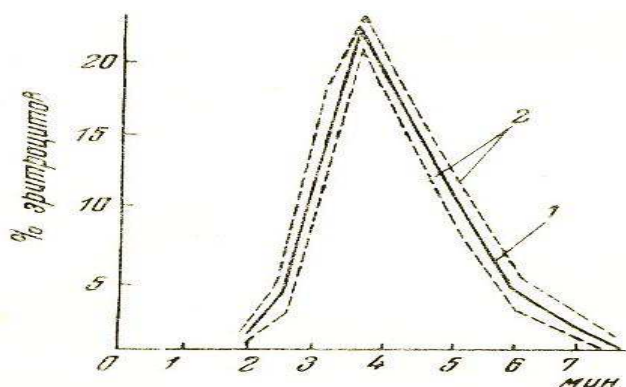


Рисунок 2 – Средняя эритрограмма крови:

1 – здорового человека; 2 – пределы отклонений от нормы.

2.3.4. Определение гематокрита

Гематокрит – это показатель, характеризующий соотношение форменных элементов и плазмы крови.

Принцип метода: гематокрит определяется с помощью центрифугирования цельной крови в капилляре в специальной центрифуге.

Ход работы:

- 1) Кровь помещаем в специальный капилляр для определения гематокрита. Капилляр обрабатываем антикоагулянтом – гепарином или раствором цитрата натрия. Капилляр заполняем кровью на $\frac{7}{8}$ его длины (при заполнении капилляра в него не должны попадать пузырьки воздуха);
- 2) Помещаем капилляры с кровью в ротор центрифуги таким образом, чтобы закупоренные концы были направлены кнаружи от оси вращения и упирались в резиновую прокладку;
- 3) Центрифугируем в течение 5 минуты до выключения аппарата;
- 4) Определяем гематокрит по специальной шкале;
- 5) Все результаты вносим в таблицу.

Измерив высоту столбика эритроцитов ($V_э$) и высоту столбика плазмы ($V_п$), рассчитаем гематокрит (как процент форменных элементов от всего

объема крови) по формуле: $\Gamma = V_{\text{э}} \frac{V_{\text{э}}}{V_{\text{э}} + V_{\text{п}}} * 100$. Результаты вносим в последний столбец.

3 Результаты и обсуждение

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

Заключение

1. В ходе проведения работы выявлено увеличение уровня гормонов кортизола и эстрадиола у больных диффузно–токсическим зобом, что свидетельствует об активации гипоталамо–гипофизарной системы и увеличении стрессового воздействия на организм. Повышенное содержание эстрадиола также может быть результатом увеличения чувствительности гипофиза к стероидным гормонам.
2. На основании анализа литературных данных можно сделать вывод о способности стресс–гормонов, в частности кортизола, вызывать структурные изменения в мембране эритроцитов.
3. Изучение литературных источников выявило целесообразность применения метода химических (кислотных) эритрограмм для экспресс–оценки функционального состояния эритроцитов крови, в том числе в условиях патологии.
4. Проведение метода кислотных эритрограмм у больных ДТЗ, показало смещение пика гемолиза вправо, что свидетельствует о повышенном содержании молодых форм эритроцитов. Стимуляция эритропоэза может быть следствием влияния высоких доз гормонов кортизола и эстрадиола. Укорочение времени гемолиза указывает на понижение кислотной резистентности эритроцитов крови, что может быть вызвано повреждающим действием кортизола на состояние эритроцитарной мембраны.
5. Увеличение вязкости крови происходит при повышенном содержании форменных элементов и может являться результатом влияния гормонов гипоталамо–гипофизарной системы.

Список сокращений

АГ – аденогипофиз;

АКТГ – адренокортикотропный гормон;

ГГА – гипоталамо–гипофизарная активность;

ГГН – гипоталамус–гипофиз–надпочечники;

ГГС – гипоталамо–гипофизарная система;

ГИ – геморрагический инсульт;

ГМ – головной мозг;

ГР – гормон роста;

ДМС – диметилсульфоксид;

ДТЗ – диффузно–токсический зоб;

ЖКТ – желудочно–кишечный тракт;

ЛГ – лютеинизирующий гормон;

МОЭ – морфологического образа эритроцитов;

СТГ – соматотропный гормон;

ТТГ – тиреотропный гормон;

TRAb – анти–ТТГ–рецепторные антитела;

ФР – физиологический раствор;

ФСГ – фолликулостимулирующий гормон;

ЧМТ – черепно–мозговые травмы;

ЧСС – частота сердечных сокращений;

ЩЖ – щитовидная железа;

ЭФПЭ – электрофоретическая подвижность эритроцитов.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

- [1] Ингерлейб, М. Б. Анализы. Полный справочник / М. Б. Ингерлейб // Москва: Астрель. – 2011.
- [2] Шагун, О.В. Синдром гиперкортицизма. Классификация, этиология, патогенез, клиника, диагностика, дифференциальная диагностика, лечение / О.В. Шагун, Л.Ю. Хамнуева, Л.С.Андреева // ЦКМС Иркутского государственного медицинского университета. – 2009. – 31 с.
- [3] Панин, Л. Е. Основы многоуровневой мезомеханики наноструктурных переходов в мембранах эритроцитов и их разрушения при взаимодействии с гормонами стресса/ Л. Е. Панин, П. В. Мокрушников [и др.]. // Издательство Сибирского отделения РАН. – 2011. – Т. 14, №1. – С. 5–13
- [4] Фурдуй, Ф. И. Стресс, эволюция человека, здоровье и санокреатология / Ф. И. Фурдуй // Материалы пленарного доклада на 2 съезде физиологов СНГ. – 2008. – С. 4 – 13.
- [5] Жигулина, В.В. Биохимический ответ на стресс / В.В. Жигулина // Верхневолжский медицинский журнал. – 2014. – Т. 12.
- [6] Агаджанян, Н.А. Здоровье студентов: стресс, адаптация, спорт / Н.А. Агаджанян, Т.Е. Батоцыренова, Л.Т. Сушкова // Владимирский государственный университет. – 2004.
- [7] Новицкий, В.В. Патологическая физиология. Общие реакции организма на повреждение / В.В. Новицкий, Е.Д. Гольдберг, О.И. Уразова // ГЭОТАР–Медиа. – 2009. – Т. 4.
- [8] Овсянников, В.Г. Патологическая физиология, типовые патологические процессы / Овсянников В.Г. // Изд. Ростовского университета. –1987. – 192 с.
- [9] Панин, Л. Е. Гормоны стресса и коронарный синдром X / Л. Е. Панин, П. В. Мокрушников [и др.] // Издательство Сибирского отделения РАН. – 2012. – Т. 8, №2. – С. 5–13
- [10] Goudochnikov, V. Congresso de Stress da ISMA–BR / V. Goudochnikov // Porto Alegre. – 2011.
- [11] Гончаров, Н.П. Кортикостероиды: метаболизм, механизм действия и клиническое проявление / Н.П. Гончаров // Адаманть. – 2002.
- [12] Теппермен, Д. Физиология обмена веществ и эндокринная система / Д. Теппермен // Мир. – 1989. — 656 с.
- [13] Alexander, B.T. Fetal programming of hypertension / B.T. Alexander // Regulatory Integrative Comp. Physiol. – 2006. – Vol. 290, №1. – P. 1–10.

- [14] Hubert, R. D. The Stress Hormone Cortisol Blocks Perceptual Learning in Humans / R. D. Hubert, J. C. Kattenstroth et al. // *Psychoneuroendocrinology*. – 2017.
- [15] Кубасов, Р. В. Состояние гипофизарно–тиреоидной системы регуляции у военнослужащих при различных уровнях профессиональной напряженности / Р. В. Кубасов, Ю. Ю. Юрьев, Ю. Е. Барачевский // *Мир науки, культуры, образования*. – 2011. – № 5. – С. 439–445.
- [16] Порядин, Г. В. Стресс и патология: методическое пособие / Г. В. Порядин, Л. И. Зеличенко / Российский государственный медицинский университет. – 2009. – 24 с.
- [17] Hamer, M. Cortisol Responses to Mental Stress and the Progression of Coronary Artery Calcification in Healthy Men and Women / M. Hamer, R. Endrighi et al. // *PLoS One*. – 2012.
- [18] Ткаченко, Б. И. Физиология человека: учебное пособие / Б. И. Ткаченко и др. // Москва: ГЭОТАР–Медиа, 2010. – 496 С.
- [19] Митюшев, М.И. Физиология эндокринной системы / М.И. Митюшев, Г.С. Степанов, Д.Я. Шурыгин [и др.], под ред. В. Г. Баранова // Ленинград: Наука. – 1979. – 341с.
- [20] Карева Е.Н. Эстрогены и головной мозг / Е.Н. Карева, О.М. Олейникова, В.О. Панов [и др.]. // *Вестник Российской академии медицинских наук*. – 2012.
- [21] Петров, Р. В. Возрастные изменения концентрации активных половых стероидов, их предшественников, метаболитов, и регуляторов в крови мужчин / Р. В. Петров, И. Н. Кузина, В. В. Киликовский [и др.] // *Онтогенез*. – 2009. – Т. 40, № 6. – 456–465 с.
- [22] Fahraeus, L. The Effects of Estradiol on Blood Lipids and Lipoproteins in Postmenopausal Women / L. Fahraeus // *Obstet Gynecol*. – 1988.
- [23] Гайворонский, И. В. Анатомия и физиология человека: учебник / И. В. Гайворонский, Г. И. Ничипорук, А. И. Гайворонский // Москва: Академия. – 2011. – 498 с.
- [24] Hellhammer, J. A Soy–Based Phosphatidylserine. Phosphatidic Acid Complex (PAS) Normalizes the Stress Reactivity of Hypothalamus–Pituitary–Adrenal–Axis in Chronically Stressed Male Subjects / J. Hellhammer, D. Vogt, N. Franz, U. Freitas // *Lipids Health Dis*. – 2014.
- [25] Silverthorn, D. U. Human physiology: an integrated approach : manual / D. U. Silverthorn // Pearson Benjamin Cummings. – 2010. – 991 p.

- [26] Shier, D. Hole's essentials of human anatomy and physiology: manual / D. Shier, J. Butler, R. Lewis // New York: Connect learn succeed. – 2012. – 641 p.
- [27] Орлов, Р. С. Нормальная физиология: учебник / Р. С. Орлов // ГЭОТАР–Медиа. – 2010. – 832 с.
- [28] Павлов, А. Д. Регуляция эритропоэза: физиологические и клинические аспекты / А. Д. Павлов // М. Медицина. – 1987.
- [29] Bartalena, L. Diagnosis and management of Graves disease: a global overview/ L. Bartalena // Nat Rev Endocrinol. – 2013. – Vol. 9 (12). – P. 726.
- [30] Elaine, N. Human anatomy and physiology: manual / N. Elaine, K. Hoehn // Boston: Pearson College Div. – 2012. – 1270 p.
- [31] Morshed, S.A. Delineating the autoimmune mechanisms in Graves' disease / S.A. Morshed, R. Latif, T.F. Davies // Immunol. – 2012. – Vol. 54 (1–3). – PP. 191–203.
- [32] Менкони, Ф. Диагностика и классификация болезни Грейвса / Ф. Менкони, К. Маркоччи, М. Марино // Эндокринология: новости, мнения, обучение. – 2014. – С. 41–48.
- [34] Flügel, A. K. Hemorrhagic strokes / Flügel A. K., Steiner T. et al. // International Neurology. – 2016.
- [35] Вестхайде, В. Зоология беспозвоночных / Вестхайде В. Ригер Р. // КМК– Москва. – 2008. – Т.1.
- [36] Балаболкин, М. И. Эндокринология : учебник / М. И. Балаболкин // Москва: Универсум паблишинг. – 1998. – 300 С.
- [37] Ашкинази, И. Я. Разрушение эритроцитов / И. Я. Ашкинази // Физиология эритропоэза – 1979.
- [38] Lang, F. Mechanisms and significance of eryptosis, the suicidal death of erythrocytes / F. Lang, S.M. Qadri // Blood. – 2012.
- [39] Lang, K.S. Mechanisms of suicidal erythrocyte death / K.S. Lang, P.A. Lang, C. Bauer et al. // Cell. Physiol. Biochem. – 2005. – Vol. 15 (5). – PP. 195–202.
- [40] Катюхин, Л. Н. Функционально–биохимические изменения эритроцитов крыс при стрессе / Л. Н. Катюхин // Академия наук СССР. – 1984.
- [41] Панин, Л.Е. Гормоны стресса и коронарный синдром Х (экспериментальные исследования) / Л.Е. Панин, П.В. Мокрушников, В.Г. Куницын [и др.] // Издательство Сибирского отделения РАН. – 2012. – Т. 8, №2. – С. 5–13.

- [42] Пальцев, М.А., Белушкина Н.Н. Трансляционная медицина — новый этап развития молекулярной медицины / М.А. Пальцев, Н.Н. Белушкина // Молекулярная медицина. – 2012.
- [43] Артюхов В. Г. Исследование структурно–функциональных свойств эритроцитов крови больных с легкой черепно–мозговой травмой / В. Г. Артюхов, С. Г. Резван, Н. В. Саушкина и др. // Вестник воронежского государственного университета. – 2016. – №4. – 73–79 С.
- [44] Манылова, Н. А. Способ оценки степени тяжести состояния доношенных новорожденных детей по данным кислотных и осмотических эритрограмм / Н. А. Манылова, С. Г. Резван, И. И. Логвинова // ГОУ ВПО "Воронежская государственная медицинская академия им. Н.Н. Бурденко Росздрава". – 2009.

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Институт Фундаментальной Биологии и Биотехнологии
институт
Кафедра Медицинской биологии
кафедра

УТВЕРЖДАЮ
Заведующий кафедрой



подпись

Е. И. Шишацкая
инициалы, фамилия

« 6 » июля 2020 г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

06.03.01 – Биология
код – наименование направления

Исследование активности гипоталамо-гипофизарной системы
в условиях патологии
тема

Руководитель



подпись, дата

доцент, к.б.н.
должность, ученая степень

Ф.А. Гершкорон
инициалы, фамилия

Выпускник



подпись, дата

Ю.М. Меркулова
инициалы, фамилия

Красноярск 2020