


Федеральное государственное автономное  
образовательное учреждение  
высшего профессионального образования  
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
Институт фундаментальной биологии и биотехнологии  
Кафедра медицинской биологии

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой

 Е. И. Шишацкая  
инициалы, фамилия

«22» июня 2016 г.

## БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

06.03.01 – Биология

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СТРЕСС-РЕАКЦИИ В ОРГАНИЗМЕ ПРИ  
РАЗНЫХ ВИДАХ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ

Научный руководитель



подпись, дата

доцент, к.б.н. Ф. А. Гершкорон

Выпускник



подпись, дата

В. М. Диденко

Красноярск 2016

## СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ.....	7
1 Обзор литературы .....	7
1.1 Понятие стресса.....	7
1.1.1 Общий адаптационный синдром.....	8
1.1.2 Развитие общего адаптационного синдрома.....	11
1.2 Гипоталамо-гипофизарная системы.....	14
1.2.1 Гипоталамус .....	14
1.2.2 Гипофиз.....	14
1.3 Надпочечники.....	16
1.3.1 Кортизол .....	17
1.3.1.1 Эффекты кортизола .....	19
1.3.1.2 Роль кортизола при стрессе .....	22
1.4 Щитовидная железа .....	23
1.4.1 Тироксин .....	24
1.4.1.1 Эффекты тироксина.....	27
1.4.1.2 Роль тироксина при стрессе.....	28
1.5 Перитонит .....	29
1.6 Рак почки.....	29
1.7 Эритроциты .....	30
1.7.1 Эритроциты при перитоните .....	34
1.7.2 Эритроциты при раке почки .....	36
2 Материалы и методы .....	37
2.1 Материалы и объекты исследований .....	37
2.2 Методы исследований .....	37
2.2.1 Метод кислотных эритрограмм.....	37
2.2.2 Определение кортизола методом иммуноферментного анализа .....	41
2.2.2.1 Состав набора.....	42
2.2.2.2 Проведение анализа.....	43
2.2.3 Определение тироксина методом иммуноферментного анализа .....	44
2.2.3.1 Состав набора.....	44

2.2.3.2 Проведение анализа.....	45
3 Результаты и их обсуждение.....	48
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	49
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ .....	50

## ВВЕДЕНИЕ

На данный момент известно множество приобретенных заболеваний, развивающихся благодаря влиянию факторов как физиологической, так и эмоциональной природы, которые вызывают стресс–реакции в организме, что может стать патогенетической основой различных заболеваний. Пагубный эффект стрессора зависит от его силы, длительности или повторяемости, а также от реактивности самого организма, который подвергся избыточному стрессу. Поэтому один и тот же стрессор у разных людей может вызывать различные последствия и проявления[6].

С одной стороны, стресс–реакция может быть рассмотрена как способ достижения резистентности организма при действии чрезмерных факторов и являться приспособительной, с последующей перестройкой защитных механизмов организма. С другой стороны, стресс может являться детерминантом, оказывающим повреждающее действие на органы и их системы, что в конечном итоге приводит к развитию патологий. Постоянные стрессовые воздействия на организм вызывают изменения массы органов-маркеров стресса, изменения концентрации гормонов стресс–реакции и общее изменения физического состояния человека в неблагоприятную сторону[8].

Эндокринная система, обладая широким диапазоном гормональных влияний на различные органы и системы, играет ключевую роль в ответе организма на воздействия факторов внешней среды и процессах адаптации его к изменяющимся внешним условиям. [49].

Известно, что кровь является единственной подвижной тканью организма, которая предопределяет ее значительное участие в обмене веществ через плазму и форменные элементы и во многом отражает системный характер патофизиологических изменений в организме [34].

Определение кислотной резистентности эритроцитов методом химических (кислотных) эритрограмм Терскова–Гительзона позволяет точно определить возрастной состав красных клеток крови, который

может свидетельствовать не только о степени повреждения самих эритроцитов, но и выраженности патологических сдвигов в органах и системах органов.

В начале 21 столетия перитонит по-прежнему остается одной из самых актуальных проблем современной медицины в силу неуклонной тенденции к росту заболеваемости и стабильно высокой летальности. Данное заболевание является хирургической, общеклинической и общепатологической проблемой, актуальность которой не снижается, несмотря на несомненные успехи клинической медицины, вооруженной новыми перспективными технологиями. Средние показатели летальности при распространенном перитоните удерживаются на уровне 20–30% и не имеют существенной тенденции к снижению на протяжении последних десятилетий.

Среди всех злокачественных новообразований в структуре онкологической заболеваемости рак почки занимает 10 место по распространенности и составляет 2%. Среди данной патологии наиболее часто встречается почечно-клеточный рак (40%). Рак почки, симптомы которого чаще всего отмечаются у мужчин в возрасте 55-75 лет, также диагностируется у женщин, причем в период рассмотрения статистики последних лет наблюдается рост заболеваемости по жителям развитых стран. Рак почки в плане процессов, актуальных для него, заключается в появлении в почке бесконтрольно делящихся опухолевых злокачественных клеток, за счет чего на их основе образуется опухоль.

Целью работы было исследование кислотной резистентности эритроцитов крови и уровня гормонов стресс-реакции у людей с перитонитом и раком почки.

В соответствии с целью были поставлены следующие задачи:

- оценить кислотную резистентность эритроцитов крови у людей с перитонитом и раком почки методом кислотных эритрограмм;
- определить концентрацию гормонов стресс-реакции – кортизола и тироксина – у людей с перитонитом и раком почки методом иммуноферментного анализа;

– определить зависимость между кислотной резистентностью эритроцитов и гормонами стресс–реакции у больных перитонитом и раком почки.

# ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

## 1 Обзор литературы

### 1.1 Понятие стресса

Стресс – это неспецифическая реакция организма, возникающая при действии различных экстремальных факторов, угрожающих нарушением гомеостаза, и характеризующаяся стереотипными изменениями функции нервной и эндокринной системы.

Разобрав вопросы о роли стресса в поддержании здоровья и развитии различных патологий в эволюции человека, можно сделать следующие выводы: первый – стресс является общебиологической реакцией, характерной как для животного, так и растительного мира и сама жизнь невозможна без стресса, и второй – стресс может иметь двойное влияние на здоровье организма: чрезмерный - может стать патогенетической основой различных дисфункций и заболеваний, а кратковременный щадящий – фактором мобилизации защитных сил организма и адаптации к условиям внешней среды[35].

В 1936 г. впервые данное понятие было введено Г. Селье, которое подразумевало стресс, как реакцию организма, а понятие «стрессор» было определено как действующий раздражитель. Спустя некоторое время он сформулировал теорию стресса как общий адаптационный синдром (ОАС), сопровождающийся увеличением и повышением активности коркового слоя надпочечников, уменьшением тимико-лимфатического аппарата, точечными кровоизлияниями и кровотокащими язвочками в слизистой оболочке желудка и кишечника.[33].

Стресс возник в процессе эволюции человека как физиологическая реакция мобилизации организма в целях защиты или нападения, или адаптации к агрессивным или неблагоприятным факторам среды и сыграл значительную

роль в его выживании. В процессе исторического развития человека стресс в значительной степени был одним из движущих факторов эволюции, а в онтогенезе, особенно при действии на организм чрезвычайных факторов внешней среды, стресс становился патогенетической основой нарушения здоровья, в основе которой лежит стандартная неспецифическая генерализованная приспособительная реакция целостного организма на воздействие сверхсильного раздражителя или его угрозу, представляющая собой результат интегрального взаимодействия комплекса реципрокных психонейроэндокринноиммунных и клеточнотканевых факторов и механизмов, образующих стресс–реализующую и стресс–лимитирующую системы, представленные многоуровневой и многокомпонентной упорядоченной совокупностью структур, функционирующих относительно антагонистически в направлении мобилизации и перераспределения энергетических и пластических ресурсов с целью восстановления нарушенного гомеостаза и повышения локальных и общих адаптационных возможностей организма [29, 35].

### **1.1.1 Общий адаптационный синдром**

Совокупность характерных стереотипных общих ответных реакции организма на действие раздражителей самой различной природы, реакций, имеющих прежде всего защитное значение, была обозначена Гансом Селье как «общий адаптационный синдром».

ОАС развивается главным образом с участием симпатoadреналовой системы и гипоталамо–гипофизарно–надпочечниковой систем. Симпатoadреналовая система состоит из симпатической нервной системы и мозгового вещества надпочечников, выделяющего в кровь адреналин и норадреналин. В гипоталамо–гипофизарно-надпочечниковую систему входит гипоталамус, аденогипофиз и корковый слой надпочечников [16].



Еще в 1936 г. Селье описал общий адаптационный синдром как процесс, закономерно протекающий в трех стадиях, последовательно переходящих друг в друга.

Первая стадия – стадия тревоги. Она характеризуется мобилизацией защитных сил организма. В стадии тревоги выделяют подстадию шока, когда происходит снижение адаптационных возможностей и противошока – когда происходит увеличение адаптационных возможностей. Стадия тревоги возникает через несколько минут после воздействия стрессора и продолжается 6–48 часов. В ней участвуют такие гормоны, как адреналин, вазопрессин, окситоцин, кортиколиберин, кортизол. Наблюдается резкое снижение количества секреторных гранул в коре и мозговом веществе надпочечников, эрозии желудочно–кишечного тракта, инволюция тимико-лимфатического аппарата. Также следует отметить выделение соматотропного гормона, тиреоидных гормонов, паратгормонов и ренин–ангиотензиновой системы, активацией симпатoadреналовой системы, включение гипоталамо–гипофизарной–надпочечниковой системы. Основными факторами, вызывающими запуск стресс–реакции в перечисленных случаях, будут: повышение температуры в терморцепторах гипоталамуса и других органов; сигналы от интенсивно работающих мышц, повышение уровня  $CO_2$  в крови; различные цитокины и липидные медиаторы воспаления; ангиотензин II и некоторые другие гормоны [16, 33].

Цитокины – продуцируемые клетками белково–пептидные факторы, осуществляющие коротко–дистантную регуляцию межклеточных и межсистемных взаимодействий. Они играют важную роль в двунаправленной связи между иммунной, эндокринной и нервной системами. Их взаимодействие отличается большим разнообразием. Это гарантирует, что возникновение угрозы клеточному, тканевому или системному гомеостазу, будет надежно передано гипоталамусу.

Вторая стадия – стадия резистентности. Она состоит в частичном приспособлении, выявляется напряжение отдельных функциональных систем,

особенно нейрогуморальных. В ней участвуют кортизол, соматотропный гормон (СТГ). Наблюдается гипертрофия надпочечников, количество гранул в коре надпочечников значительно превышает исходное, нарушение полового цикла, задержка роста, лактации. Преобладает катаболизм, атрофия, некроз. После устранения угрозы организм возвращается к исходному или сбалансированному уровню гормонов и нейромедиаторов. Время, нужное на завершение вышеуказанных процессов восстановления, зависит от состояния стресслимитирующих систем и от силы и продолжительности действия стрессора[39].

Третья стадия – стадия адаптации или истощения. При истощении происходит общее снижение гормонов адаптации, накапливаются повреждения. Секреция глюкокортикоидов начинает снижаться и, наконец, падает. Постоянное поступление в кровь адреналина и кортикостероидов приводит к уменьшению количества гранул в коре надпочечников, в следствии чего наступает истощение коры, а впоследствии и мозгового слоя надпочечников. Состояние организма либо стабилизируется и наступает устойчивая адаптация, либо в результате истощения ресурсов организма возникает срыв адаптации. Конечный результат зависит от характера, силы, продолжительности действия стрессоров, индивидуальных возможностей и функциональных резервов организма[25].

Совокупность этих явлений приводит к повреждению и стойкому нарушению функций органов, в том числе отвечающих за интегративные процессы регуляции: органов центральной нервной системы и эндокринных желез. Организм перестает быть целостным структурно–функциональным комплексом, его внутренние обменные процессы нарушаются, что неизбежно сказывается на функциональных механизмах адаптации и снижает ее эффективность [43].

### 1.1.2 Развитие общего адаптационного синдрома

Любой внешний стимул, вызывающий стрессовую реакцию, сначала должен быть воспринят сенсорными рецепторами нервной системы. Восприняв это раздражение, сенсорные рецепторы посылают по сенсорным путям периферической нервной системы импульсы к мозгу. В центральной нервной системе от главных путей, восходящих к неокортексу, ответвляются нервные коллатерали, которые направляются в ретикулярную формацию. Посредством этих коллатералей воспринимаемые события окружающей среды могут быть интегрированы с эмоциональными состояниями, кодируемыми в гипоталамусе и лимбической системе. Эти коллатерали отвечают за «эмоциональные реакции» внутренних органов, которые человек иногда испытывает в ответ не только на психосоциальные стимулы, но и на телесные повреждения, вызывающие боль [33, 35].

Интерпретация сигналов, осуществляемая в неокортексе, затем переходит по каналам обратной связи в лимбическую систему. Если кортикально–лимбическая интерпретация стрессора приводит к восприятию его как угрозы, вызова или крайне чего–то неприятного, тогда вероятнее всего за этим последует эмоциональное возбуждение [45].

Для стресса характерна активация как симпатического, так и парасимпатического отдела вегетативной нервной системы. Участие вегетативной нервной системы в стресс–реакции может быть представлено в виде следующей цепочки: рецепторы нервной системы – проводники – неокортекс и лимбическая интеграция – гипоталамус. Принято считать, что симпатическая иннервация является результатом возбуждения задней доли гипоталамуса, а парасимпатическая – передней доли гипоталамуса. Далее от ядер гипоталамуса сигналы передаются на гипофиз, который продуцирует тропные гормоны, а именно, соматотропный гормон, отвечающий за регуляцию роста всего организма, тиреотропный гормон (ТТГ), отвечающий за стимуляцию секреции гормонов щитовидной железы,

адренокортикотропный гормон (АКТГ), стимулирующий секрецию кортизола корой надпочечников и гонадотропный гормон, который в свою очередь действует на половые железы [52]. На рисунке 1 представлена гипоталамо-гипофизарная система, где видно, каким образом стресс-стимулы воздействуют на организм.

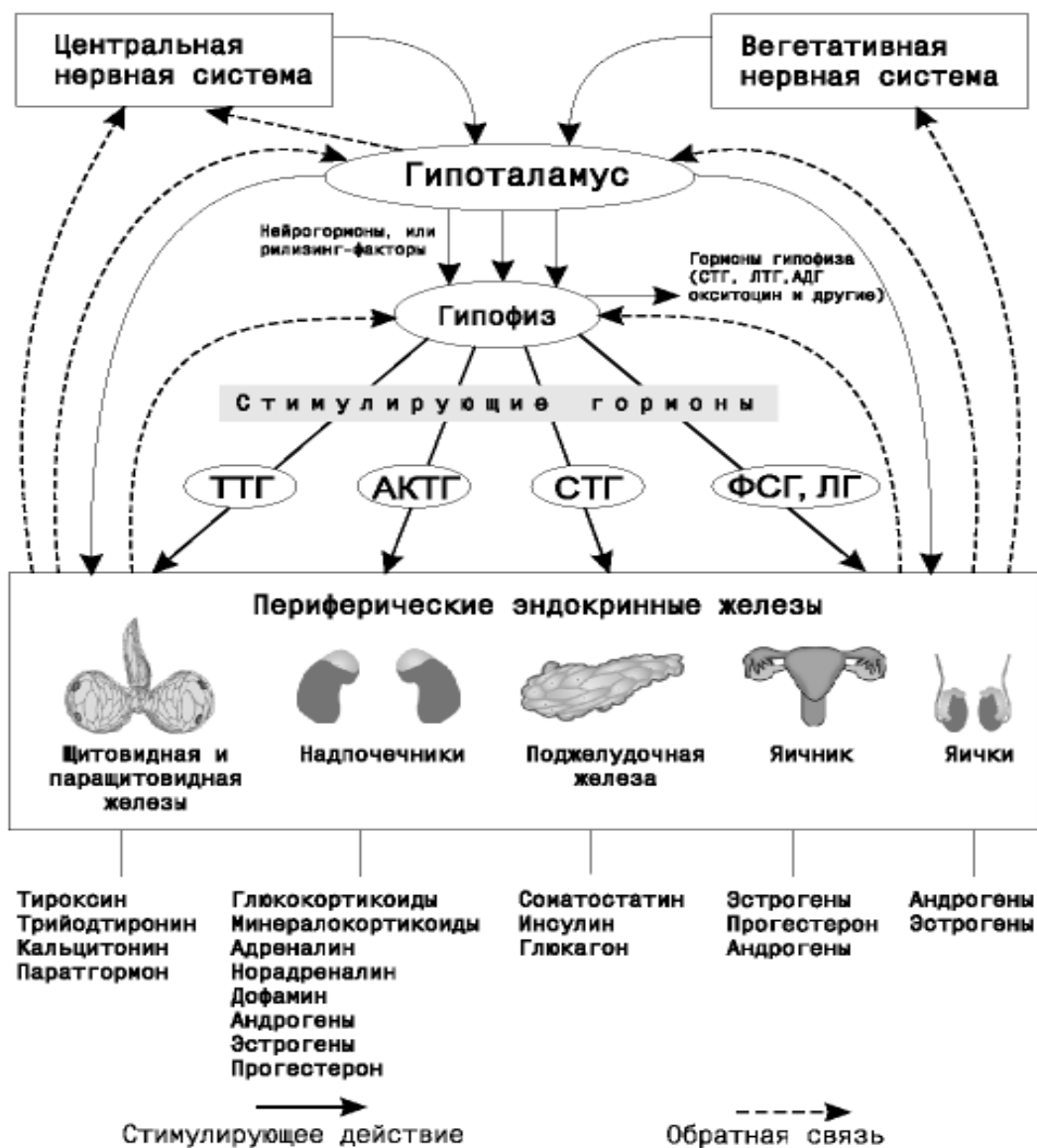


Рисунок 1 – Гипоталамо-гипофизарная система[52]

В свете вышеописанного, можно выделить три основных механизма развития стрессовой реакции: адренкортикальный, соматотропный и тиреоидный.

Высшим центром адренкортикального механизма является септально–гипоталамический комплекс. Из его центра по моноаминергическим волокнам нервные импульсы идут вниз к срединному возвышению гипоталамуса[54]. Нервно–секреторные клетки срединного возвышения под влиянием моноаминергических медиаторов выделяют кортикотропин–релизинг фактор (КРФ) в гипоталамо–гипофизарную воротную систему. КРФ проходит через область воронки к клеткам передней доли гипофиза. Хромофобные клетки аденогипофиза чувствительны к КРФ и реагируют на него выделением в кровотоки АКТГ, который в конечном счете, стимулирует секрецию глюкокортикоидов пучковой зоны коры надпочечников[57].

Принципиальный механизм выделения соматотропного гормона аденогипофизом мало отличается от механизма выделения АКТГ. Разница состоит лишь в том, что клетки гипофиза, продуцирующие СТГ, стимулируются соматотропин-релизинг фактором. СТГ усиливает секрецию минералокортикоидов клубочковой зоны коры надпочечников, повышает резистентность организма к инсулину, а также ускоряет мобилизацию накопленных в организме жиров. Результатом этого является возрастание концентрации свободных жирных кислот и глюкозы в крови[2].

Выброс тиреотропного гормона передней долей гипофиза стимулируется тиреотропин–релизинг фактором. Тиреоидная активность особенно увеличивается при действии на организм человека низких температур и под влиянием эмоциональных стимулов. Тиреоидные гормоны повышают общий уровень метаболизма, частоту и силу сердечных сокращений, увеличивает систолическое и пульсовое давление, а также повышают чувствительность некоторых тканей к катехоламинам[13].

Оценка гормонального статуса во время стресса приводит к мысли о том, что одновременная активация гормонов с явно катаболическим эффектом: АКТГ, ТТГ, глюкокортикоидов, глюкагона, тиреоидных гормонов, способствует мобилизации необходимых энергетических ресурсов. Одновременно снижается содержание гормонов с анаболическим эффектом – инсулина и половых гормонов. [18].

## **1.2 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 является основным регулятором функций желез внутренней секреции [9].

### **1.2.1 Гипоталамус**

Гипоталамус организует регуляцию и интеграцию обменных, трофических, эндокринных и других функций организма. В нем продуцируются гипофизотропные гормоны, которые регулируют секрецию гормонов гипофиза. Среди гормонов гипоталамуса можно выделить: либерины, активирующие секрецию гормонов гипофиза, и статины, которые действуют противоположно. К либеринам относят: кортиколиберин, соматолиберин, тиролиберин, гонадолиберин, пролактолиберин. К статинам в свою очередь можно отнести: соматостатин, меланостатин [56].

### **1.2.2 Гипофиз**

Гипофиз – основная железа внутренней секреции, продуцирующая ряд тропных гормонов, оказывающих непосредственное влияние на функцию периферических эндокринных желез. Он расположен в гипофизарной ямке турецкого седла клиновидной кости и через ножку связан с мозгом. Масса его составляет 0,5–0,6 г., которая варьирует в зависимости от возраста и пола. Гипофиз состоит из передней, средней и задней долей [55].

Передняя доля представляет собой скопление клеток, секретирующих гормоны. В эмбриогенезе передняя доля гипофиза образуется из выроста крыши первичной ротовой полости, называемого карманом Ратке. Состоит из дистальной, бугорной и промежуточной частей. Передняя доля гипофиза имеет характер железистого эпителия. Аденогипофиз не связан нервными путями с центральной нервной системой (ЦНС), и его функциональная активность полностью регулируется нейrogормонами. Он состоит из клеток трех типов: ацидофильные, базофильные и нейтрофильные клетки. Передняя и задняя доли гипофиза разделены тонким слоем клеток, образующих промежуточную долю, которая иннервируется нервами, идущими из гипоталамуса. Промежуточная доля имеет большое значение у низших позвоночных и значительно меньшее у млекопитающих. Передняя и средняя – образуют аденогипофиз, который составляет 75% массы гипофиза [19, 21].

В гипоталамусе имеются две группы очень крупных клеток, образующих супраоптическое и паравентрикулярное ядра. Аксоны образующих эти ядра нейронов проходят по ножке гипофиза в турецкое седло и образуют здесь заднюю долю гипофиза. В ней происходит накопление окситоцина (ОКС) и вазопрессина (антидиуретического гормона, АДГ), которые синтезируются нейросекреторными клетками супраоптического и паравентрикулярного ядер гипоталамуса. Эти гормоны по нервным волокнам гипоталамо–гипофизарного тракта транспортируются в заднюю долю гипофиза, депонируют и выделяются в кровь. Задняя доля, воронкоподобная доля и срединная возвышенность серого бугра составляет нейрогипофиз [19, 53].

В аденогипофизе секретируются АКТГ, ТТГ, гонадотропин (ГТГ), фолликулостимулирующий гормон (ФСГ), лютеинизирующий гормон (ЛГ), соматотропин и пролактин. В нейрогипофизе накапливается вазопрессин и окситоцин, продуцирующиеся в гипоталамусе[27].

### **1.3 Надпочечники**

Надпочечник – парная железа внутренней секреции, расположенная в забрюшинном пространстве над верхним полюсом почки, имеет богатое кровоснабжение [50]. Надпочечники состоят из двух морфофункционально самостоятельных эндокринных желез – мозгового и коркового веществ, имеющих различное эмбриональное происхождение. Корковое вещество дифференцируется из интерреналовой ткани, которая представляет собой часть мезодермы, расположенной между двумя первичными почками. Мозговое вещество имеет общее происхождение с нервной системой, развиваясь из симпатобластов, которые, выселяясь из симпатического ствола, внедряются в интерреналовое тело [55]. Гистологически в коре надпочечника, на долю которой приходится 80–90% ткани всего органа, выделяют три зоны. Непосредственно под капсулой располагается клубочковая зона, которая секретирует минералокортикоиды и не зависит от влияния АКТГ. К ней прилежит пучковая зона, основными продуктами которой являются глюкокортикоидные гормоны. Самая внутренняя зона – сетчатая, которая в основном секретирует андрогены. Пучковая и сетчатая зоны зависят от концентрации адренокортикотропного гормона, выделение которого регулируется кортикотропин–рилизинг–гормоном по принципу отрицательной обратной связи [9].

Основная функция минералокортикоидов – регулирование водно-солевого обмена в организме. Секреция альдостерона клубочковой зоны коры надпочечников регулируется системой ренин–ангиотензин–альдостерон, автономно от эффектов АКТГ аденогипофиза. АКТГ влияет только на начальные стадии биосинтеза минералокортикоидов. Глюкокортикоиды, в



первую очередь кортизол, играют важную роль в метаболизме глюкозы, белковом и липидном обмене, а также в адаптации к стрессу. Половые гормоны идентичны гормонам, синтезируемые гонадами [57].

Кроме того, известно, что надпочечники играют важную роль в адаптации организма ко многим видам «стрессов», таких, как травма, тяжелые инфекционные заболевания, интоксикации [53].

### **1.3.1 Кортизол**

Кортизол – основной глюкокортикоидный гормон стероидной природы, синтезируемый надпочечниками. На его долю приходится 80% всех глюкокортикоидов. Остальные 20% – кортизон, кортикостерон, 11-дезоксикортизол и 11-дезоксикортикостерон [2].

Секреция 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 адренотропного гормона из передней доли гипофиза. АКТГ, в свою очередь, действует на кору надпочечников, стимулируя синтез и высвобождение кортизола. Кортизол по принципу отрицательной обратной связи подавляет секрецию АКТГ и КРФ [18].

Работа гипоталамо–гипофизарно–надпочечниковой системы подвержена суточным колебаниям. Суточная динамика плазменной концентрации кортизола определяется циркадным ритмом секреции АКТГ. Концентрация АКТГ максимальна в 8 утра. После 8 утра происходит постепенное дневное снижение секреции АКТГ и кортизола соответственно.

Плазменный уровень кортизола в 8:00 составляет 200–700 нмоль/л, в 20:00 – 55–250 нмоль/л [22].

Холестерин является предшественником всех стероидных гормонов, выделяемых надпочечниками. Источником холестерина выступают липопротеины низкой плотности (ЛПНП), которые поглощаются рецепторами ЛПНП, расположенными на тканях надпочечников. Также холестерин может быть синтезирован *de novo* в коре изацетил-КоА [26].

Большая часть холестерина подвергается этерификации и накапливается в цитоплазме в виде эфиров. При синтезе гормонов происходит активация фермента холестерол эстеразы, и образующийся свободный холестерол транспортируется в митохондрии, где превращается в прегненолон. Прегненолон транспортируется в эндоплазматический ретикулум, и там через ряд промежуточных метаболитов превращается в стероидные гормоны [32].

Более 90% глюкокортикоидов циркулирует в крови, взаимодействуя с такими белками как альбумин и транскортин. Около 4% кортизола плазмы является свободной фракцией. Время циркуляции определяется прочностью связывания с транскортином, например, время полужизни кортизола составляет до 2 ч [1].

Конъюгирование липофильного кортизола для дальнейшей экскреции осуществляется преимущественно в печени, где формируются конъюгаты с глюкуронидом и сульфатом. Модифицированные глюкокортикоиды – водорастворимые соединения, способные к экскреции.

Конъюгированные формы глюкокортикоидов выделяются с желчью в желудочно–кишечный тракт (ЖКТ), 20% из них теряется с калом, 80% всасывается в кишечнике. Из крови 70% глюкокортикоидов экскретируется с мочой [46].

Кортизол, как и другие стероидные гормоны, оказывает свое воздействие взаимодействуя с внутриклеточными рецепторами в клетках–мишенях. Поскольку кортизол липофильное соединение, он может легко проникать через клеточную мембрану. Оказавшись внутри клетки, кортизол связывается с

цитоплазматическим рецептором, образуя лиганд–рецепторный комплекс, что обеспечивает транспорт молекулы гормона в ядро, там кортизол связывается с ядерным рецептором, активируя регуляторные последовательности ДНК, и индуцирует или подавляет транскрипцию генов [3].

Глюкокортикоиды увеличивают или уменьшают транскрипции многих генов, изменяя синтез мРНКбелков, которые опосредуют их многочисленные физиологические эффекты. Большинство метаболических эффектов кортизола требуют от 45 до 60 минут для синтеза белков, и до нескольких часов или дней, чтобы полностью развить клеточный ответ. Также глюкокортикоиды могут иметь некоторые быстрые негеномные воздействия на клеточные мембраны ионного транспорта, что может способствовать развитию их терапевтических эффектов [26].

### **1.3.1.1 Эффекты кортизола**

Процесс образования углеводов из неуглеводных соединений, называемый глюконеогенезом, начинается между приемами пищи, во время голодания и стресса, когда нет новых питательных веществ для образования энергии и запасы минимальны [43].

Основной метаболический эффект кортизола и других глюкокортикоидов – это способность стимулировать глюконеогенез в печени [46]. Данный эффект осуществляется двумя различными путями. В первом случае кортизол увеличивает количество ферментов, необходимых для преобразования аминокислот в глюкозу в клетках печени. Это осуществляется путем активации транскрипции ДНК в ядрах клеток печени, с образованием матричных РНК [42]. Во втором случае кортизол вызывает мобилизацию аминокислот, главным образом, из мышц. Вследствие чего аминокислоты становятся доступными для глюконеогенеза в печени, и тем самым способствует образованию глюкозы.

Кортизол также тормозит потребление глюкозы периферическими тканями.

Не менее важным эффектом кортизола на метаболические системы организма является снижение уровня белков практически во всех клетках организма, за исключением печени. Это вызвано уменьшением синтеза белков и увеличением их катаболизма в клетках. Оба этих эффекта могут быть вызваны из-за снижения транспорта аминокислот во внепеченочные ткани, либо угнетением образования РНК и последующего синтеза белка во многих внепеченочных тканях, особенно в мышечной и лимфоидной ткани [45].

В присутствии высокой концентрации кортизола, мышцы становятся более слабыми, также снижается иммунная функция лимфоидной ткани, что оказывает негативный эффект на общее состояние человека.

Под влиянием кортизола происходит повышение концентрации в плазме крови аминокислот и усиленный транспорт аминокислот в клетки печени, данные эффекты кортизола связаны с увеличением скорости дезаминирования аминокислот и синтеза белков в печени и усилением преобразования аминокислот в глюкозу.

Положительным эффектом воздействия кортизола на белковый обмен является увеличение концентрации аминокислот, необходимых для глюконеогенеза и синтеза новых белков в печени для поврежденных клеточных структур и тканей [47].

Кортизол способствует мобилизации жирных кислот из жировой ткани, что повышает концентрацию свободных жирных кислот в плазме и усиливает их использование для получения энергии. 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. Тем не менее, повышенное использование жирных кислот для образования энергии является важным фактором для долгосрочного сохранения глюкозы и гликогена [32].



### 1.3.1.2 Роль кортизола при стрессе

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 [29].

При стрессах глюкокортикоиды вызывают быструю мобилизацию аминокислот и жиров, что делает их доступными как для получения энергии и для синтеза других соединений, в том числе глюкозы, необходимой в различных тканях организма.

Противовоспалительный эффект кортизола заключается в: стабилизации мембран лизосом; снижении образования простагландинов и лейкотриенов, которые способствуют вазодилатации и повышению проницаемости капилляров; подавлении иммунной системы, значительно снижая образование лейкоцитов; снижении жара, главным образом подавляя высвобождение интерлейкина–1, который является одним из главных активатором гипоталамического центра терморегуляции [39]. Даже после того, как произошло развитие воспаления, кортизол может уменьшить данный процесс в течение нескольких часов, блокируя большинство факторов, формирующих воспаление. Данный эффект связан с несколькими факторами: мобилизацией аминокислот и использование их для восстановления поврежденных тканей; увеличение уровня глюконеогенеза, с образованием высоких концентраций глюкозы; повышение количества жирных кислот, доступных для клеточной энергии; инактивация или устранение продуктов воспалительной реакции. Кортизол, также, блокирует воспалительные реакции аллергического характера [54].

Кортизол влияет на иммунитет и инфекционные заболевания путем уменьшения количества эозинофилов и лимфоцитов в крови. Кроме того, введение больших доз кортизола вызывает значительную атрофию лимфоидной

ткани во всем организме, что в свою очередь снижает выход Т–клеток и антител из лимфоидной ткани [1].

#### **1.4 Щитовидная железа**

Щитовидная железа (ЩЖ) является самой крупной эндокринной железой человеческого организма, имеющей только внутрисекреторную функцию. Ее масса у взрослого человека составляет около 15 – 20 г. ЩЖ состоит из двух долей и перешейка, располагающихся на передней поверхности трахеи и по ее бокам, а также имеет богатое кровоснабжение [58].

Основной структурно-функциональной единицей щитовидной железы является фолликул. Он представляет собой округлую полость, стенка которой образована одним рядом клеток кубического эпителия. Фолликулы заполнены коллоидом и содержат гормоны тироксин и трийодтиронин, которые связаны с белком тиреоглобулином. В межфолликулярном пространстве проходят капилляры, обеспечивающие их обильную васкуляризацию. В ЩЖ объемная скорость кровотока выше, чем в других органах и тканях. В межфолликулярном пространстве находятся также парафолликулярные клетки, в которых вырабатывается гормон тиреокальцитонин.

Биосинтез тироксина и трийодтиронина осуществляется за счет йодирования аминокислоты тирозина, поэтому в щитовидной железе активно поглощается йод. Содержание йода в фолликулах в 30 раз превышает его концентрацию в крови.

Действие гормонов щитовидной железы проявляется резким усилением клеточного метаболизма. При этом ускоряются все виды обмена веществ, что приводит к увеличению энергообразования и повышению основного обмена. В результате активации всех видов обмена веществ под влиянием гормонов щитовидной железы изменяется деятельность практически всех органов. Усиливается теплопродукция, ускоряется работа сердца, стимулируется деятельность пищеварительного тракта [56].

### 1.4.1 Тироксин

Тироксин синтезируется в щитовидной железе по принципу отрицательной обратной связи. Пептидергические нейроны в преоптической области гипоталамуса синтезируют и выделяют в воротную систему гипофиза тиреотропин–рилизинг гормон (ТРГ). Определение уровня тиреотропного гормона в крови в течение суточных циклов сон–бодрствование показывает, что ТРГ, подобно другим рилизинг-факторам, эпизодически секретируется как днем, так и ночью, но пик содержания ТТГ приходится на часы, непосредственно предшествующие сну. Затем в течение ночи его уровень снижается, свидетельствуя о появлении во время сна ингибиторных влияний на секрецию ТРГ. Система ТРГ–ТТГ принимает также участие в реакциях на стресс и в процессах адаптации к низкой температуре [44].

Основное ингибирующее действие на секрецию ТТГ оказывает повышенная концентрация тиреоидных гормонов в крови. Механизм этого действия состоит в том, что спустя определенный лаг–период, в течение которого может происходить синтез белка, гипофизарные тиреотрофы приобретают резистентность к стимулирующему действию ТРГ. В настоящее время считают, что тормозящее действие тиреоидных гормонов по принципу обратной связи осуществляется в основном на гипофизарном уровне [48].

Механизм действия ТРГ на тиреотрофы включает связывание его со специфическими рецепторами и стимуляцию секреции ТТГ путем увеличения концентрации  $Ca^{2+}$  в цитозоле. Вероятно, в качестве вторых посредников в этом процессе участвуют продукты превращения полифосфатидилинозитола.

Тиреотропин представляет собой гликопротеин с молекулярной массой около 29 000. ТТГ может влиять на развитие тиреоидных фолликулярных клеток, предшествующее образованию самих фолликулов в щитовидной железе. Для нормального функционирования фолликулярной клетки необходима постоянная стимуляция со стороны ТТГ. В отсутствие ТТГ тиреоидные клетки сохраняют определенную способность концентрировать



йодид, но синтез и секреция тиреоидных гормонов оказываются резко заторможенными[27]. Тиреотропная стимуляция клетки осуществляется в два этапа: вначале инициируются процессы, не требующие синтеза РНК, на втором этапе происходит клеточный рост, появляется митотическая активность, и клетка делится. ТТГ, а также различные ТТГ–подобные глобулины, обладающие свойствами антител, способны вызывать гиперстимуляцию клеток щитовидной железы. Чтобы вызвать полный биологический ответ, молекула тиреотропного гормона должна вступить в контакт с обоими доменами рецептора ТТГ[57]. ТТГ–рецепторный комплекс, образующийся в результате связывания ТТГ, вызывает ответные биологические реакции с помощью не менее четырех внутриклеточных посредников: цАМФ, инозитолтрифосфата, диацилглицерола и комплекса  $Ca^{2+}$ -кальмодулин. Комплекс  $Ca^{2+}$ -кальмодулин служит медиатором и (или) модулятором внутриклеточных процессов, инициируемых ТТГ[3].

Необходимым структурным компонентом тиреоидных гормонов является йод. Этот микроэлемент практически полностью всасывается в кишечнике, откуда в ионизированной форме поступает в плазму крови. Механизм концентрирования иодида иногда называют иодидным насосом. Кровоток через щитовидную железу настолько велик, а способность тиреоидных клеток к захвату I настолько сильна, что железа, несмотря на свой относительно небольшой размер, способна извлекать 20–40% иодида, присутствующего в крови. Иодидный насос обладает всеми свойствами системы активного транспорта [44].

Тиреоглобулин синтезируется в шероховатом эндоплазматическом ретикулуме, откуда поступает в комплекс Гольджи; здесь происходит посттрансляционная модификация белка, заключающаяся главным образом в присоединении сложных углеводных боковых цепей. Он содержит 115 остатков тирозина, составляющих 3% массы всей молекулы белка. Лишь около 10% остатков тирозина подвергаются иодированию[60].

Когда клетка щитовидной железы получает секреторный стимул, ворсинки апикальной мембраны окружают и поглощают небольшие капельки коллоида, который таким образом транспортируется через апикальную мембрану. Первыми подвергаются эндоцитозу, а затем и последующей секреции, те молекулы тиреоглобулина, которые последними подверглись иодированию. Лизосомные протеазы гидролизуют содержащийся в каплях коллоида тиреоглобулин до аминокислот и углеводов. Два продукта этого гидролиза –  $T_4$  и  $T_3$  – секретируются в кровь, а моноиодтирозин и диiodтирозин быстро деиодируются[42].  $T_4$  и  $T_3$  выходят из клетки и попадают в кровоток, где избирательно связываются с белками–переносчиками. Основное количество присутствующего в крови тиреоидного гормона представлено  $T_4$ . Период полужизни в крови для тироксина равен 7–9 дням, для трийодтиронина – 2 дням.

Свободные йодтиронины относительно легко проникают сквозь мембрану клеток[51]. Внутриклеточные эффекты тиреоидных гормонов тесно связаны с процессами их метаболизма. Самым важным из таких превращений является конверсия тироксина в более активный трийодтиронин. Поскольку с рецепторами тиреоидных гормонов взаимодействует преимущественно трийодтиронин, а не тироксин, последний принято рассматривать как прогормон, а трийодтиронин – как истинный гормон.

Лишь 5–10% циркулирующего в крови трийодтиронина синтезируется непосредственно ЩЖ; его большая часть образуется в результате дейодирования тироксина в периферических тканях. Превращение тироксина в трийодтиронин катализируется различными дейодиназами, обладающими тканевой специфичностью[40].

Тиреоидные гормоны циркулируют в крови как в связанном, так и в свободном виде. Белки плазмы, связывающие тиреоидные гормоны – это альбумин, транстиретин и глобулин, известный как тироксин–связывающий глобулин. Из данных белков, альбумин имеет самый большой потенциал для связывания тироксина, а глобулин – самый низкий. Однако сродство белков к

тироксину таково, что большинство циркулирующего тироксина привязано к глобулину.

Как правило, около 99,98% тироксина в плазме находится в связанном виде. Трийодтиронин не имеет такой высокой связи с белками.

#### **1.4.1.1 Эфффекты тироксина**

Эфффекты тиреоидных гормонов многообразны. Они обеспечивают поддержание основного обмена в большинстве клеток, регулируя метаболическую активность, а также процессы пролиферации и апоптоза. Нормальный уровень тиреоидных гормонов необходим для функционирования всех без исключения систем организма, а при нарушениях функции ЩЖ патологические изменения носят многосторонний характер [47].

Общий путь реализации эфффектов гормонов ЩЖ – это активация ядерной транскрипции большого числа генов, также тиреоидные гормоны имеют и негеномные эфффекты.

Тиреоидные гормоны повышают метаболическую деятельность почти во всех тканях организма.

Тиреоидные гормоны увеличивают количество и активность митохондрий, что в свою очередь увеличивает скорость образования АТФ для активизации клеточных функций, увеличивают скорость активного транспорта ионов через клеточные мембраны [55].

Гормоны ЩЖ имеют как общее, так и специфические влияния на рост, которые проявляются главным образом у детей. Они стимулируют практически все аспекты углеводного обмена, в том числе быстрое усвоение глюкозы клетками, увеличение гликолиза и глюконеогенеза, повышение скорости усвоения углеводов из желудочно-кишечного тракта, увеличение секреции инсулина с его вторичным эфффектом на углеводный обмен. Все эти эфффекты, возникают в результате общего увеличения метаболических ферментов, вызванных гормонами ЩЖ [36].

Повышаются все аспекты жирового обмена под влиянием гормонов щитовидной железы. В частности, липиды быстро мобилизуются из жировых тканей. Также увеличивается концентрация свободных жирных кислот в плазме и значительно ускоряется их окисление в клетках.

Несмотря на увеличение концентрации свободных жирных кислот, тиреоидные гормоны снижают концентрации холестерина, фосфолипидов и триглицеридов в плазме путем увеличения скорости секреции холестерина в желчи и, как следствие, его потери с калом [32].

Усиление обменных процессов в тканях приводит к более быстрой утилизации кислорода и конечных продуктов метаболизма из тканей. Эти эффекты вызывают вазодилатацию в большинстве тканей организма, тем самым увеличивая приток крови. Также возрастает частота сердечных сокращений, это связано с тем, что гормон щитовидной железы имеет прямое действие на возбудимость сердца.

Тиреоидные гормоны увеличивают скорость секреции пищеварительных соков и перистальтику желудочно–кишечного тракта.

#### **1.4.1.2 Роль тироксина при стрессе**

Тиреоидные гормоны ограничивают стрессовую реакцию как на её начальном этапе – активации симпатической нервной системы за счет стимуляции тормозных медиаторов головного мозга, так и на последующем, представляя собой мобилизацию энергетических и пластических ресурсов для обеспечения ими адаптационных реакций организма, в связи с уже отмеченной способностью повышать эффективность их использования, а также с установлением под влиянием йодтиронинов новых гормональных соотношений при стрессе [11, 22].

На последующих этапах стресс–реакции происходит снижение концентрации тиреоидных гормонов и полное развитие других защитных компонентов при стрессе [12].

## **1.5 Перитонит**

Перитонит – воспаление париетального и висцерального листков брюшины, которое сопровождается отравлением организма и сопутствующим нарушением работы многих органов и систем. Как правило, перитонит является осложнением заболеваний и травм брюшной полости. Этиологией перитонита обычно служит бактериальный возбудитель, например, кишечная палочка и патогенные кокки. Во время перитонита происходит общая интоксикация организма[31].

В тяжёлой стадии перитонита на фоне интоксикации возможно развитие острой почечной недостаточности, в почечных канальцах скапливается нерастворимый белок, в моче появляются зернистые цилиндры [30].

## **1.6 Рак почки**

Почка – парный орган, имеющий бобовидную форму. У человека почки располагаются за пристеночным листком брюшины в поясничной области. В длину почка имеет размер, равный 10-12 см, в ширину достигает от 5 и до 6 см, толщина составляет около 4 см. Вес почки взрослого человека достигает 200 г.[58].

В организме человека почки являются основным органом выделения. Они выполняют множество функций: выделительная, или экскреторная – удаляют из организма избыток воды, неорганических и органических веществ, продукты азотистого обмена и чужеродные вещества; регуляция водного баланса и объема крови за счет изменения объема выводимой с мочой воды; регуляция постоянства осмотического давления жидкостей внутренней среды; регуляция ионного состава жидкостей внутренней среды и ионного баланса организма; регуляция кислотно-основного состояния; образование и выделение в кровоток физиологически активных веществ: ренина, эритропоэтина, простагландинов, брадикининов и урокиназы; регуляция уровня артериального давления;

регуляция эритропоэза, гемостаза; участие в обмене белков, липидов и углеводов [53].

Данное злокачественное опухолевое образование, которое развивается в одной или в обеих почках, преимущественным образом произрастает на основе эпителиального слоя (поверхностного слоя) поражаемого органа и склонно к метастазированию.

Почечно-клеточный рак (ПКР) обычно развивается в зоне коркового слоя почки, характеризуется экспансивным или инфильтративным ростом, вовлекает в процесс мозговой слой, капсулу, околопочечную клетчатку и прорастает в лоханку [41].

В большинстве случаев ПКР протекает бессимптомно и диагностируется случайно при появлении различных неспецифических симптомов, например, таких как гематурия, увеличение почки и боль в области пояснице [36, 50]. На момент диагностики более 30% пациентов имеют распространенную форму заболевания [37].

## 1.7 Эритроциты

Эритроциты, или красные кровяные тельца, у человека и млекопитающих представлены высокоспециализированными безъядерными клетками, составляют самую значительную часть форменных элементов. Их количество в норме в 1 литре крови у женщин составляет  $3,9 - 4,9 \cdot 10^{12}$  ( $3,9 - 4,9$  млн в  $1 \text{ мм}^3$ ), у мужчин  $4 - 5,2 \cdot 10^{12}$  ( $4 - 5,2$  млн в  $1 \text{ мм}^3$ ) [37].

Красные кровяные клетки содержат гемоглобин, в связи с этим основная функция эритроцитов – снабжение тканей кислородом и транспорт углекислоты. Кроме того, эритроциты участвуют в иммунных процессах, взаимодействуя с циркулирующими иммунными комплексами, транспорте аминокислот, липидов и токсинов, и являются компонентом антиоксидантной системы организма [24].

Гемоглобин – дыхательный пигмент, хромопротеид. У взрослого человека гемоглобин представлен двумя типами: HbA(98%) и HbF–фетальным гемоглобином (2%). Его небелковая часть, включающая железо, называется гемом, белковый компонент — глобином. Гемоглобин переносит кислород от легочных альвеол к тканям, транспортирует углекислый газ от тканей к легким и участвует в поддержании буферного кислотно-основного равновесия крови[7].

Для выполнения характерных функций, эритроциты должны иметь особое строение. У человека и млекопитающих во взвешенном состоянии они имеют форму двояковогнутого диска, такая конфигурация создаёт наибольшую площадь поверхности по отношению к объёму, увеличивая ее в 1,7 раз по сравнению с поверхностью шара такого же объёма, что обеспечивает максимальный газообмен [19]. Поверхность отдельного эритроцита приблизительно равна  $125 \text{ мкм}^2$ , а объем –  $90 \text{ мкм}^3$ , общая площадь поверхности циркулирующих в крови эритроцитов составляет около  $3500\text{--}3700 \text{ м}^2$ . 97% массы эритроцитов занимает железосодержащий белок–гемоглобин, его количество достигает до одного миллиона в одной клетке. Энергию для основных жизненных процессов данные клетки получают путем анаэробного гликолиза, окисления глюкозы в гексозомонофосфатном шунте и путем окислительного фосфорилирования в митохондриях[53].

Совокупность зрелых и незрелых эритроцитов в кровяном русле обозначается словом эритрон. Впервые понятие эритрона предложил в 1913 г. А. Воускотт, а также закрепил за красными кровяными клетками привычное всем название — эритроцит.

Зрелые эритроциты лишены ядра и клеточных органелл. Однако их предшественники, находящиеся в красном костном мозге, первоначально имеют ядро, но теряют его по мере созревания.

Для нормального образования и созревания эритроцитов необходимо достаточное поступление железа, витаминов B6, B9, B12. В костном мозге содержание клеток эритроидного ряда колеблется от 14 до 26%[37].

В норме популяция эритроцитов стабильна и при физиологических условиях 85–97 % эритроцитов человека имеют форму двояковогнутого диска с уплотнением по краям центральной впадиной, на которую приходится 35–55% его поверхности. Благодаря этому свойству они, имея размер 7–8 мкм, могут проникать в кровеносные капилляры диаметром менее 6 мкм [9, 59]. Поддержание дисковидной формы обусловлено отрицательным осмотическим давлением внутри клетки, состоянием мембраны, стромы эритроцита и работой  $\text{Na}^+$ -насоса.

Дискообразная форма характеризуется высоким отношением площади поверхности к объему. В таких условиях молекула гемоглобина находится близко к поверхности, что обеспечивает максимальную скорость газообмена [19].

Мембрана эритроцитов представляет собой пластичную молекулярную мозаику из белков, липопротеинов и гликопротеинов и, возможно, чисто липидных участков. Толщина мембраны клетки приблизительно равна 10 нм. Клеточную мембрану эритроцита условно разделяют на три слоя. Наружный слой образован гликопротеинами и содержит комплексы концевых отделов антигенов. Поверхность мембраны эритроцита представляет собой сложную многомерную структуру. Эта структура определяется неомогенностью мембраны, ее неоднородностью и широким спектром белкового состава. Средний слой клеточной мембраны эритроцита образует липидный бислой, внутренний слой мембраны состоит из белков, с которыми связаны молекулы гликолитических ферментов, гемоглобина и белков, формирующих цитоскелет. Мембрана эритроцита со временем становится менее эластичной, поэтому по мере старения эритроциты утрачивают способность к деформации и по истечении срока жизни, который составляет около 120 суток [4, 5, 34]. Эритропоэз, то есть образование эритроцитов, в эмбриональном периоде происходит в желточном мешке, печени и селезенке. С 7-ого месяца внутриутробного развития и после рождения эту функцию главным образом выполняет красный костный мозг.



летнего возраста красный костный мозг присутствует во всех крупных костях.

В дальнейшем он постепенно замещается жировой тканью,

сохраняясь лишь в плоских костях.

У взрослых основным депо красного костного мозга являются гребень подвздошной

кости и грудина

[19]. В среднем около

100

миллиардов новых клеток в сутки образуется в костном мозге.

Интенсивность процессов эритропоэза, регулируется с помощью отрицательной обратной связи при участии гормона эритропоэтина. Эта система саморегулируется таким образом, чтобы в нормальном, здоровом состоянии организма скорость производства костным мозгом новых эритроцитов приблизительно соответствовала скорости разрушения старых, то есть чтобы уровень гемоглобина и эритроцитов в крови оставался приблизительно постоянным [57].

Эритропоэтин – гормон почек, являющийся ростовым фактором клеток эритроидного ростка.

Данный гормон постоянно секретируется в небольших количествах и контролирует скорость образования красных клеток через отрицательно обратную связь.

Под действием данного гормона скорость продукции эритроцитов возрастает, вследствие чего они раньше времени могут покинуть костный мозг и в крови появляются незрелые эритроциты [56].

Ретикулоциты, последний этап формирования незрелых эритроцитов в зрелые, превращаются в эритроциты через

1–3

суток. При этом происходит полная деградация рибосом,

частично нарушение клеточной мембраны и избирательный распад ключевых ферментов, находящихся в органеллах цитоплазмы. Эта «деградация», безусловно, направлена на более успешное выполнение эритроцитом своей основной функции – транспорта газов к месту газообмена. В норме количество ретикулоцитов составляет 0,5–1,5 %.

### 1.7.1 Эритроциты при перитоните

Сегодня можно с убедительностью утверждать о том, что эритроциты вовлекаются в патологический процесс не только при гематологических заболеваниях, но и претерпевают серьезные изменения структуры и функции при болезнях разного генеза. Структурно–функциональные свойства эритроцитов входят в цепь приспособительных механизмов, поддерживающих постоянство внутренней среды, как в норме, так и в условиях патологии. Развивающийся «окислительный взрыв» приводит к повышению процессов перекисного окисления липидов, как внутри клетки, так и в ее мембране [20].

У больных данным заболеванием происходит общая интоксикация организма, вследствие чего эритроциты утрачивают свою двояковогнутую форму и приобретают патологическую, которая склонна к гемолизу.

У больных с легкой формой перитонита снижается количество  $\beta$ -спектрина и подфракции анкирина и повышается содержание белка полосы 4.1, 4.2, дематина и тропомиозина, повышается общая сорбционная способность эритроцитов и концентрация малонового диальдегида [30].

У больных с тяжелой формой перитонита дополнительно снижается количество  $\alpha$ -спектрина, анионтранспортного белка, белка полосы 4.5, глицеральдегид–3–фосфатдегидрогеназы (ГЗФД) и повышается количество актина, кроме это снижается общая сорбционная способность эритроцитов и достоверно больше возрастает внутриклеточная концентрация малонового диальдегида.

Обобщив структурно–функциональные изменения, можно сделать вывод обувеличении процессов перекисного окисления мембранных липидов, уменьшении прочности и деформируемости эритроцитарной мембраны, повышении общей сорбционной способности эритроцитов, их гликокаликса и снижении их метаболической активности, что в конечном итоге ускоряет процессы старения красных клеток крови [14].



### **1.7.2 Эритроциты при раке почки**

Прогрессирование ряда заболеваний сопровождается морфо-функциональными изменениями форменных элементов крови, одними из первых реагируют эритроциты.

Почки участвуют в эритропоэзе. Эритропоэз стимулируется уменьшением доставки кислорода к тканям, которое детектируется почками. Почки в ответ на тканевую гипоксию или ишемию выделяют гормон эритропоэтин, который стимулирует эритропоэз. Этот гормон стимулирует пролиферацию и дифференциацию клеток-предшественников красного кровяного ростка, приводя тем самым к ускоренному эритропоэзу в кроветворных тканях и к увеличению выхода эритроцитов в кровь [57]. В связи с патологическими процессами в почке нарушается синтез основного регулятора эритропоэза, что в конечном итоге приводит к старению красных клеток системы крови и уменьшению их устойчивости [17].

## **2 Материалы и методы**

### **2.1 Материалы и объекты исследований**

Материалом исследования послужили 20 образца сыворотки крови и 20 образца цельной крови, взятой натощак в утреннее время суток из локтевой вены у пациентов сперитонитом и раком почки. В качестве контроля использовали 12 проб цельной крови здоровых людей.

### **2.2 Методы исследований**

Кислотную резистентность эритроцитов определяли с помощью метода кислотных эритрограмм Терскова–Гительсона.

Для определения концентрации кортизола и тироксина проводили иммуноферментный анализ (ИФА) с использованием моноклональных антител.

#### **2.2.1 Метод кислотных эритрограмм**

Принцип метода кислотных эритрограмм заключается в определении убыли эритроцитов в результате гемолиза через определенные промежутки времени до полного окончания убыли. Время является мерой кислотной резистентности клеток [10].

Заблаговременно делаем раствор хлорида натрия 0,9%. Стандартный раствор гемолитика изготавливали из фиксанала соляной кислоты и хлорида натрия.

Измерение кинетики гемолиза производили на установке, основой которой является фотоэлектрический колориметр. Для этого в левую кювету наливали изотонический раствор и устанавливали прибор в нулевое положение; готовили стандартную взвесь эритроцитов. Для этого левый барабан прибора

выводили на показание 0,700 по шкале оптической плотности, что соответствует разведению крови 1 на 1000, вследствие этого равенство световых потоков нарушается, и стрелка гальванометра отклоняется от нулевого положения. В кювету, содержащую физиологический раствор, вводили пипеткой взвесь эритроцитов до тех пор, пока они своим рассеянием не уравнили световые потоки, и стрелка гальванометра не вернулась к нулю.

Из кюветы, содержащей теперь стандартную концентрацию эритроцитов, специальной пипеткой отбирали 2 мл взвеси, излишек удаляли водоструйным насосом, 2 мл возвращали в кювету.

Отдельной пипеткой отмеряют 2 мл стандартного гемолитика и при помешивании быстро вводят в кювету. Таким образом, в кювете создается определенная концентрация эритроцитов и гемолитика (0,002N HCL) Температура строго поддерживается  $24^{\circ} \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ .

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

Мерой стойкости в этом методе служило время, прошедшее от введения кислоты до распада характеризуемой группы эритроцитов. Отсчет показаний прибора производили через каждые 30 секунд. Счет времени начинался с момента введения кислоты.

В результате опыта получился ряд значений оптической плотности, соответствующих распределению эритроцитов по стойкости, причем число групп эритроцитов, которые удалось выделить, определяются числом сделанных отсчетов. Отсчеты велись до тех пор, пока не получилось 2–3

совпадающих показания, что служило признаком конца гемолиза. Все эритрограммы подвергались единообразному первичному расчету, где в первой и второй графах таблицы 1 указаны время гемолиза (в минутах) и полученные в отсчетах соответствующие значения экстинции. В третьей графе даны разности экстинции ( $\Delta E$ ) между соседними отсчетами, то есть количественно выражается особая группа эритроцитов, стойкость которой определяется временем, прошедшим от начала гемолиза до этого отсчета. Разница между экстинцией по окончании гемолиза принималась за 100% и в четвертой графе таблицы вычислялся процент  $\Delta E$ , отражающий процент эритроцитов данной стойкости ( $\Theta$ ).

Таблица 1 – Данные опытов с кровью здорового человека

Время гемолиза, Т	Экстинция, E	Разность экстинции, $\Delta E$	Распад эритроцитов, %
0,5	0,5	0	0
1	0,5	0,01	2,08
1,5	0,49	0	0
2	0,49	0,01	2,08
2,5	0,48	0,02	4,16
3	0,46	0,07	12
3,5	0,39	0,09	25
4	0,3	0,07	19
4,5	0,23	0,1	15
5	0,13	0,055	11,44
5,5	0,075	0,03	6,24
6	0,45	0,015	3,12
6,5	0,3	0,01	2,08
7	0,2	0	0
7,5	0,2		

Гемолиз нормальной крови человека длится в этих условиях 6,5 – 7,5 минуты. Процентное распределение эритроцитов по стойкости удобно изображать графической кривой зависимости процентов стойкости эритроцитов

от времени гемолиза, называемой эритрограммой. На рисунке 2 приводится эритрограмма распределения эритроцитов по стойкости здорового человека. В таблице 2 представлены результаты эритрограмм здоровых людей.

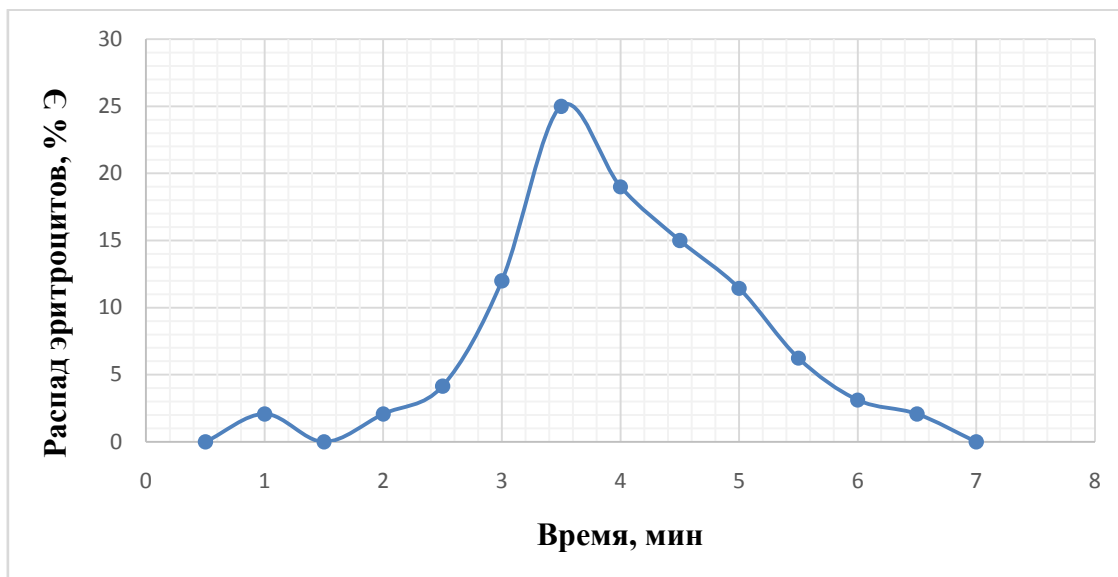


Рисунок 2 – Кривая распределения эритроцитов по стойкости

Таблица 2 – Результаты эритрограмм здоровых людей

№	Начало гемолиза, мин	Пик гемолиза, мин	Окончание гемолиза, мин	№	Начало гемолиза, мин	Пик гемолиза, мин	Окончание гемолиза, мин
1	1,5	3	7	7	1,5	3,5	7
2	1,5	3,5	7,5	8	1,5	3,5	7,5
3	1,5	3	7,5	9	2	3	7
4	1,5	3,5	7,5	10	1,5	3	7
5	1,5	3,5	6,5	11	2	3,5	7,5
6	2	3,5	6,5	12	2	3,5	7

Кривая распределения эритроцитов по стойкости позволяет определить состояние эритроцитов при данном анамнезе человека. Максимум при соблюдении указанных выше условий гемолиза приходится на 3-3,5 мин,



начало гемолиза на 1,5-2 мин, конец гемолиза – на 6,5-7,5 мин. Кривая распределения ассиметрична. При нарушениях равновесия в системе крови возникают отклонения от нормы и распределения эритроцитов по стойкости.

Эритрограммы обнаруживают зависимость между стойкостью эритроцитов и их состоянием и позволяют характеризовать динамику качественного состава красной крови при физиологических и патологических процессах.

### **2.2.2 Определение кортизола методом иммуноферментного анализа**

Метод определения основан на твердофазном конкурентном иммуноферментном анализе с применением монокланных 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 с антителами конъюгата кортизол–пероксидаза, причем количество связанного обратно пропорционально концентрации кортизола в анализируемом образце сыворотки крови.

Во время инкубации с ТМБ–Субстратным раствором происходит окрашивание раствора в лунках. Степень окраски прямо пропорциональна количеству связанного антителами конъюгата кортизол–пероксидаза. После измерения оптической плотности раствора в лунках на основании калибровочного графика рассчитывалась 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».

### **2.2.2.1 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.

### 2.2.2.2 Проведение анализа

Все реагенты перед проведением анализа должны быть тщательно перемешаны и доведены до комнатной температуры.

Вносили стандартные калибровочные пробы и контрольную сыворотку в лунки по 25 мкл, по 2 повтора.

В остальные лунки вносили по 25 мкл исследуемых образцов сывороток крови, 2 лунки оставляли пустыми.

Во все лунки планшета, кроме А–1 и А–2, внести по 100 мкл конъюгата, закрывали планшет крышкой и инкубировать на шейкере при встряхивании со скоростью от 500 до 800 об/мин в течение 30 минут при температуре  $(37 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$ . По окончании инкубации содержимое лунок удаляли с помощью промывочного устройства в ёмкость для сбора инфицированного материала, планшет промывали 5 раз рабочим промывочным раствором, добавляя во все лунки планшета по 300 мкл рабочего промывочного раствора и удаляя рабочий промывочный раствор с помощью промывочного устройства в ёмкость для сбора инфицированного материала. После последнего промывания тщательно удаляли остатки жидкости из лунок постукиванием рамки со стрипами в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.

Немедленно вносили во все лунки планшета по 100 мкл ТМБ–Субстратного раствора и инкубировали планшет в темноте при комнатной температуре  $(18–24^\circ\text{C})$  в течение 20–30 минут.

Далее добавляли во все по 150 мкл стоп–реагента для остановки ферментной реакции и встряхивали планшет на шейкере в течение 5–10 секунд.

Измеряли на фотометре вертикального сканирования оптическую плотность раствора в лунках планшета при длине волны 450 нм.

### **2.2.3 Определение тироксина методом иммуноферментного анализа**

Метод определения основан на твердофазном конкурентном иммуноферментном анализе с применением моноклональных антител. При добавлении раствора 8-анилинонафтил-1-сульфоуксусной кислоты-конъюгат тироксин-пероксидаза и исследуемого образца, во время инкубации эндогенный тироксин-общий сыворотки крови конкурирует с тироксином, входящим в состав конъюгата, за связывание с моноклональными антителами к тироксину, иммобилизованными на внутренней поверхности лунок.

При удалении содержимого из лунок происходит разделение свободного и связанного с антителами тироксина и конъюгата тироксин-пероксидазы, причем количество связанного антителами конъюгата обратно пропорционально количеству тироксину в образце сыворотки крови.

Во время инкубации с ТМБ–Субстратным раствором происходит окрашивание раствора в лунках. Степень окраски прямо пропорциональна количеству связанного антителами конъюгата тироксин-пероксидаза. После измерения оптической плотности раствора в лунках на основании калибровочного графика рассчитывается концентрация общего тироксина в исследуемых образцах.

Для анализа использовался набор для количественного определения кортизола методом иммуноферментного анализа (ДС–ИФА–Тироксин–Т4общий), являющийся продукцией ООО Научно–Производственного Объединения «Диагностические системы».

#### **2.2.3.1 Состав набора**

1) Иммуносорбент – планшет полистироловый разборный (12 стрипов по 8 лунок каждый, разборность до 1 лунки) с иммобилизованными на внутренней поверхности лунок моноклональными антителами к тироксину – 1 шт.;

2) Конъюгат–тироксин, меченный пероксидазой хрена – 1 флакон 12 мл.;

3) Калибратор 0, калибратор 1, калибратор 2, калибратор 3, калибратор 4, калибратор 5 – стандартные калибровочные пробы на основе сыворотки крови человека, содержащие известные количества общего тироксина (0, 9, 45, 86, 180, 360 нмоль/л). Прозрачные или слегка опалесцирующие бесцветные или светло-желтого цвета жидкости – 6 флаконов по 0,5 мл.;

4) Контрольная сыворотка – сыворотка с известным содержанием общего тироксина (60-116 нмоль/л). Прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная или светло-желтого цвета жидкость – 1 флакон 0,5 мл.;

5) Раствор 8-анилинонафтил-1-сульфокислоты – блокатор связывания тироксина с белками-переносчиками. Прозрачная зеленовато-коричневого цвета жидкость – 1 флакон 12 мл.;

6) Промывочный раствор (концентрат х 25). Прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость бесцветная или светло-желтая, допустимо образование осадка, полностью растворяющегося при температуре от 35 до 39 °С и встряхивании – 1 флакон 50 мл.;

7) ТМБ–Субстратный раствор – прозрачная бесцветная жидкость – 1 флакон 25 мл.;

8) Стоп–реагент/0,2М – серная кислота в концентрации 0,2 моль/л – 1 флакон 25 мл.;

9) Бланк для построения калибровочной кривой – 1 шт.;

10) Инструкция по применению – 1 шт.

### **2.2.3.2 Проведение анализа**

Перед использованием все реагенты набора выдерживали в течении 30 мин при температуре от 18 до 24 °С.

Содержимое флакона с концентратом (х 25) промывочного раствора тщательно перемешивали. Для приготовления рабочего промывочного раствора необходимое количество концентрата промывочного раствора разводили в 25

раз водой дистиллированной или деионизированной. Полученный раствор тщательно перемешивали.

Рабочий раствор конъюгата-8-анилинонафтил-1-сульфокислоты—готовили перед использованием, смешивали равные объемы растворов конъюгата и 8-анилинонафтил-1-сульфокислоты.

Стандартные калибровочные пробы и контрольную сыворотку вносить по 25 мкл в двух повторах.

В остальные лунки в двух повторах вносили по 25 мкл исследуемых образцов сывороток крови.

Во все лунки планшета, кроме лунок с контролем ТМБ-Субстратного раствора, вносили по 200 мкл смешанного реагента, стрипы планшета закрывали крышкой или защитной пленкой.

Планшет инкубировали в течении 30 минут на термостатируемом шейкере при встряхивании со скоростью от 500 до 800 об/мин и температуре  $37 \pm 0,5$  °С.

По истечении указанного времени содержимое лунок удаляли с помощью вошера в емкость для сбора инфицированного материала, иммуносорбент промывали 5 раз рабочим промывочным раствором, заливая его до краев лунок и удаляя промывочный раствор с помощью вошера в емкость для сбора инфицированного материала. По окончании промывки тщательно удаляли остатки жидкости из лунок постукиванием рамки со стрипами в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.

Во все лунки отмытого планшета вносили по 100 мкл ТМБ-Субстратного раствора и выдерживали 15-20 мин при комнатной температуре в темноте.

Реакцию останавливали добавлением во все лунки планшета по 150 мкл стоп-реагента, встряхивали стрипы на шейкере в течение 5-10 секунд.

Учет результатов проводили спектрофотометрически при длине волны 450 мн с настройкой прибора по «воздуху».

Далее прибор автоматически строил калибровочный график с помощью калибровочной кривой и определял концентрацию тироксина.

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием программ Microsoft Excel XP и пакета программ для статистического анализа Statistica 10.

### **3 Результаты и их обсуждение**

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



## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АДГ – Антидиуретический гормон  
АКТГ – Адrenокортикотропный гормон  
ГГС – Гипоталамо–гипофизарная система  
ГТГ – Гонадотропный гормон  
ЖКТ – Желудочно–кишечный тракт  
ИФА – Иммуноферментный анализ  
КРФ – Кортикотропин–рилизинг фактор  
ЛГ – Лютеинизирующий гормон  
ЛПНП – Липопротеины низкой плотности  
ОАС – Общий адаптационный синдром  
ОКС – Окситоцин  
ПКР – Почечно–клеточный рак  
СТГ – Соматотропный гормон  
ТРГ – Тиреотропин–рилизинг гормон  
ТТГ – Тиреотропный гормон  
ФСГ – Фолликулостимулирующий гормон  
ЦНС – Центральная нервная система  
ЩЖ – Щитовидная железа

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

- 1 Абдулкадыров, К. М. Гематология : справочник / К. М. Абдулкадыров. – Москва : ЭКСМО, 2004. – 928 с.
- 2 Балаболкин, М. И. Эндокринология : учебник / М. И. Балаболкин. – Москва : Универсум паблишинг, 1998. – 300 с.
- 3 Березов, Т. Т. Биологическая химия : учебник / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. – Москва : Медицина, 1998. – 704 с.
- 4 Боровская, М. К. Структурно-функциональная характеристика мембраны эритроцита и ее изменения при патологиях разного генезиса / Боровская М. К., Кузнецова Э. Э., Горохова В. Г. // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2010. – № 3. – С. 334–354.
- 5 Брызгалова, Н. Ю. Роль цитоплазматических структур эритроцита в изменении сродства гемоглобина к кислороду / Н. Ю. Брызгалова, Н. А. Браже, А. И. Юсипович // Биофизика. – 2009. – Т. 54, № 3. – С. 442–447.
- 6 Бузунов, А. Ф. Формирование соматических последствий адаптационного синдрома. Цена цивилизации / А. Ф. Бузунов. – Москва : Практическая медицина, 2010. – 352 с.
- 7 Волкова, С. А. Основы клинической гематологии / С. А. Волкова, Н. Н. Боровков. – Нижний Новгород : НижГМА, 2013. – 400 с.
- 8 Вычужанова, Е. А. Влияние хронического стресса на острую стресс-реакцию у крыс / Е. А. Вычужанова // Наука и образование: проблемы, идеи, инновации. – 2015. – № 1. – С. 9–11.
- 9 Гайворонский, И. В. Анатомия и физиология человека: учебник / И. В. Гайворонский, Г. И. Ничипорук, А. И. Гайворонский. – Москва : Академия, 2011. – 498 с.
- 10 Гительзон, И. И. Эритрограммы как метод клинического исследования крови : учебное пособие / И.И. Гительзон, И.А. Терсков. – Красноярск : Издательство Сибирского отделения Академии наук СССР, 1959. – 247 с.
- 11 Городецкая, И. В. Влияние тиреоидного статуса на систему протеиназы / ингибиторы в динамике стресс-реакции / И. В. Городецкая, Е. А. Гусакова // Вестник ВГМУ. – 2014. – Т. 13, №2. – С. 25–36.
- 12 Городецкая, И.В. Роль йодсодержащих тиреоидных гормонов в формировании ответной реакции организма при хроническом стрессовом воздействии / И. В. Городецкая // Вестник ВГМУ. – 2012. – Т. 11, №3. – С. 28–35.
- 13 Дедов, И. И. Эндокринология : учебник / И.И. Дедов, Г. А. Мельниченко, В. В. Фадеев. – Изд. 2-е, перераб. и доп. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 432 с.
- 14 Ерюхин, И. А. Хирургия гнойного перитонита / И. А. Ерюхин // Кафедра военно-полевой хирургии Военно-медицинской академии Министерства обороны РФ. – 2003. – № 6. – С. 7–25.
- 15 Киричук, В. Ф. Особенности физико-химических показателей и проницаемости мембран эритроцитов у практически здоровых людей

различных возрастных групп / В. Ф. Киричук, А. Ю. Костин // Современные наукоемкие технологии. – 2004. – №3. – С. 111–111.

16 Киселёва, Т. П. Общий адаптационный синдром / Т. П. Киселёва // Академический журнал западной сибиря. – 2013. – № 5(48). – С. 81–83.

17 Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство: в 2 т. – Т. I. / под ред. В.В. Долгова, В.В. Миньшикова. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 928 с.

18 Кубасов, Р. В. Состояние гипоталамико-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.

19 Кузнецов, С. Л. Лекции по гистологии, цитологии и эмбриологии : учебное пособие / С. Л. Кузнецов, М. К. Пугачев. – 3-е изд. – Москва : Медицинское информационно агентство, 2014. – 480 с.

20 Купреева, М. С. Оценка состояния красной крови при желчном перитоните / М. С. Купреева, Э. А. Петросян, А. А. Сухинин, О. А. Терещенко // Бюллетень Волгоградского научного центра РАМН. – 2008. – № 2. – С. 49–51.

21 Курепина, М. М. Анатомия человека: учебник / М. М. Курепина, А. П. Ожигова, А. А. Никитина. – Москва : Владос, 2010. – 384 с.

22 Литвицкий, П. Ф. Патология эндокринной системы: этиология и патогенез эндокринопатий. Расстройства гипоталамо-гипофизарной системы / П. Ф. Литвицкий // Вопросы современной педиатрии. – 2011. – № 4. – С. 47–61.

23 Михайлис, А. А. Концептуальная модель стресс – индуцированной динамики кислотно-гемалитической стойкости эритроцитов / А. А. Михайлис // Современные наукоемкие технологии. – 2010. – № 10. – С. 19–23

24 Мороз, В. В. Строение и функция эритроцита в норме и при критических состояниях / В. В. Мороз, А. М. Голубев, А. В. Афанасьев, А. Н. Кузовлев, В. А. Сергунова, О. Е. Гудкова, А. М. Черныш // Общая реаниматология. – 2012. – № 8. – С. 52–60.

25 Мулик, А. Б. Механизмы центральной организации уровня общей неспецифической реактивности организма / А. Б. Мулик // Вестник Волгоградского государственного университета. – 2001. – № 1. – С. 4–14.

26 Нельсон, Д. Основы биохимии Ленинджера : учебное издание / Д. Нельсон, М. Кохс ; под ред. Т. И. Почкорева, Т. Е. Толстикова. – Москва. – БИНОМ. Лаборатория знаний, 2014. – Т.2. – 636 с.

27 Орлов, Р. С. Нормальная физиология : учебник / Р. С. Орлов. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 832 с.

28 Панин, Л. Е. Основы многоуровневой мезомеханики наноструктурных переходов в мембранах эритроцитов и их разрушения при взаимодействии с гормонами стресса / Л. Е. Панин, Б. Н. Зайцев, В. Е. Панин, В. Г. Куницын, П. В. Мокрушников // Физическая мезомеханика. – 2011. – № 14. – С. 5–17.

29 Порядин, Г. В. Стресс и патология : методическое пособие / Г. В. Порядин, Л. И. Зеличенко. – Москва : Российский государственный медицинский университет, 2009. – 24 с.

- 30Савельев, В.С. Перитонит: практическое руководство / В.С. Савельев. – Москва : Литтерра, 2006. – 191 с.
- 31Садохина, Л. А. Перитонит : учебное пособие / Л. А. Садохина. – Иркутск : ИГМУ, 2011. – 36 с.
- 32Северин, Е. С. Биохимия : учебник / Е. С. Северин. – Москва : ГЭОТАР–Медиа, 2003. – 779 с.
- 33Селье, Г. Стресс без дистресса : учебное пособие / Г. Селье. – Москва : Прогресс, 1989. – 120 с.
- 34Сисла, Б. Руководство по лабораторной гематологии ; под общ. ред. А. И. Воробьева. – Москва. – Практическая медицина, 2011. – 352 с.
- 35Стресс, эволюция человека, здоровье и санокреатология : материалы пленарного доклада на 2 съезде физиологов СНГ, 29 – 31 октября 2008 г. / под ред. Ф. И. Фурдуй. – Кишинев, 2008. – 4 – 13 с.
- 36Татарчук, Т. Ф. Стресс и репродуктивная функция женщины / Т. Ф. Татарчук // Международный эндокринологический журнал. – 2006. – № 3 (5). – С. 32–51.
- 37Трошкина, Н. А. Эритроцит: строение и функции его мембраны / Н. А. Трошкина, В. И. Циркин, С. А. Дворянский // Вятский медицинский вестник. – 2007. – № 2–3. – С. 32–40.
- 38Успехи современного естествознания : материалы междунар. науч.-практ. конф., 21 – 24 мая 2013 г. / под ред. М. Ю. Ледванов. – Москва, 2013. – 51 – 53 с.
- 39Физиология человека : учебное пособие / Б. И. Ткаченко [и др.]. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 496 с.
- 40Чекушкин, А. А. Уровень гормонов коры надпочечников и щитовидной железы в ранние сроки ожогового шока / А. А. Чекушкин, С. А. Мозеров, А. Н. Митрошин, А. Н. Мялин // Вестник РУДН. – 2010. – № 2. – С. 89–92.
- 41Черенков, В.Г. Клиническая онкология : учебное пособие / В. Г. Черенков. – Москва : Медицинская книга, 2010. – 434 с.
- 42Чиркин, А. А. Биохимия : учебник / А.А. Чиркин, Е. О. Данченко. – Витебск : Медицинская литература, 2010. – 610 с.
- 43Швыряев, А. А. Анатомия и физиология человека с основами общей патологии : учебное пособие / А. А. Швыряев ; под.общ. ред. Р. Ф. Морозова. – Ростов-на-Дону : Феникс, 2012. – 411 с.
- 44Brix, K. Molecules important for thyroid hormone synthesis and action – known facts and future perspectives / K. Brix, D. Fuhrer, H. Biebertmann // Thyroid research. – 2011.–№ 4. – P. 12–25.
- 45Elaine, N. Human anatomy and physiology : manual / N. Elaine, K. Hoehn. – Boston :Pearson College Div, 2012. – 1270 p.
- 46Ganong's review of medical physiology : manual / K. E. Barrett [etc]. – California : The McGraw-Hill Companies , 2010. – 340 p.
- 47Hall, J. E. Guyton and Hall textbook of medical physiology : manual / J. E. Hall. – Philadelphia : Elsevier Saunders, 2010. – 1120 p.
- 48Jabbar, A. Thyroid disease and vascular risk / A. Jabbar, S. Razvi // Clinical

Medicine. – 2014. – Vol 14, № 6. – 29–32 P.

49Kavoussi, P. K. Clinical urologic endocrinology : manual / P. K. Kavoussi, R. A. Costabile, A. Salonia. –London : Springer, 2013. – 156 p.

50Martini, F. H. Human anatomy : manual / F. H. Martini, M. J. Timmos, R. B. Tallitsch. – Boston : Pearson College Div, 2012. – 905 p.

51Master, A. Untranslated regions of thyroid hormone receptor beta 1 mRNA are impaired in human clear cell renal cell carcinoma / A. Master, A. Wojcicka, A. Piekiełko-Witkowska, J. Bogusławska, P. Popławski, Z. Tanski, V. M. Darras, G. R. Williams, A. Nauman // Biochim Biophys Acta. – 2010. – C. 995–1005.

52Melmed, S. Williams textbook of endocrinology : manual / S. Melmed [etc]. – Philadelphia : Elsevier Saunders, 2011. – 1816 p.

53Rhoades, R. A. Medical Physiology : principles for clinical medicine : manual / R. A. Rhoades, D. J. Bell. – 4th ed. – Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins, 2013. – 612 p.

54Sherwood, L. Human physiology: from cells to systems : manual / L. Sherwood. – Canada, 2010. – 973 p.

55Shier, D. Hole's essentials of human anatomy and physiology : manual / D. Shier, J. Butler, R. Lewis. – New York : Connect learn succeed, 2012. – 641 p.

56Silverthorn, D. U. Human physiology: an integrated approach : manual / D. U. Silverthorn. – Edition 5. – San Francisco : Pearson Benjamin Cummings, 2010. – 991 p.

57Tepperman, J. Metabolic and endocrine physiology an introductory text : manual / J. Tepperman, H. M. Tepperman. – New York : Year Book Medical Publishers, 1989. – 656 p.

58Tortora, G. J. Principles of human anatomy : manual / G. J. Tortora, Nielsen M. T. – Canada : John Wiley and Sons, 2012. – 1054 p.

59Williams hematology : manual / K. Kaushansky [etc]. – California : Copyright, 2010. – 605 p.

60Young, W. F. The netter collection of medical illustration: endocrine system : manual / W. F. Young. – Philadelphia :Elsevier Saunders, 2011. – 256 p.