

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования

«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Фундаментальной биологии и биотехнологии

Институт

Медицинской биологии

Кафедра

УТВЕРЖДАЮ

Руководитель магистерской программы

_____ Е. И. Шишацкая

подпись

« _____ » _____ 2018 г.

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

Исследование показателей стресс-реакции у людей при развитии в организме патологических состояний

06.04.01 – Биология

06.04.01.05 – Реконструктивная биоинженерия

Научный руководитель

доцент, к.б.н.

Ф.А. Гершкорон

подпись, дата

должность, ученая степень

Выпускник

В. М. Диденко

подпись, дата

Рецензент

доцент, к.м.н.

Т.В. Толмачева

подпись, дата

должность, ученая степень

Красноярск 2018

АННОТАЦИЯ

Ключевые слова: СТРЕСС, ГИПОТАЛАМО-ГИПОФИЗАРНАЯ СИСТЕМА, КАЛЬЦИЙ, МАГНИЙ, ПЕРИТОНИТ, ДИФFUЗНЫЙ ТОКСИЧЕСКИЙ ЗОБ, КОРТИЗОЛ, ВОЗРАСТНОЙ СОСТАВ ЭРИТРОЦИТОВ КРОВИ, ЛЕЙКОГРАММА.

Возрастной состав эритроцитов крови определялся с помощью метода кислотных эритрограмм. Лейкоцитарная формула определялась микроскопированием окрашенных мазков крови. Содержание кортизола и кальция с магнием определялось методом иммуноферментного анализа и колориметрическим методом соответственно.

В результате исследования установлено изменение возрастного состава эритроцитов у больных перитонитом и диффузным токсическим зобом. В частности, содержание эритроцитов с пониженной стойкостью в 3 раза выше нормы при перитоните. Также наблюдается уменьшение в 7 раз популяции эритроцитов повышенной стойкости. При диффузном токсическом зобе увеличивается количество эритроцитов повышенной стойкости. У больных перитонитом и ДТЗ наблюдается смещение лейкоцитарной формулы влево. Также у данных больных отмечены повышенные концентрации кортизола. Наблюдалось уменьшение содержания кальция и магния в сыворотке крови больных ДТЗ. Выявлена корреляционная зависимость между возрастным составом эритроцитов и содержанием гормона кортизола при перитоните, а также ДТЗ. Также выявлена зависимость между кортизолом и содержанием кальция, магния у больных диффузным токсическим зобом.

АВТОРЕФЕРАТ

Магистерская диссертация по теме «Исследование показателей стресс-реакции у людей при развитии в организме патологических состояний» содержит 62 страницы текстового документа, 60 использованных источников, 4 таблицы, 12 рисунков.

Ключевые слова: СТРЕСС, ГИПОТАЛАМО-ГИПОФИЗАРНАЯ СИСТЕМА, КАЛЬЦИЙ, МАГНИЙ, ПЕРИТОНИТ, ДИФФУЗНЫЙ ТОКСИЧЕСКИЙ ЗОБ, КОРТИЗОЛ, ВОЗРАСТНОЙ СОСТАВ ЭРИТРОЦИТОВ КРОВИ, ЛЕЙКОГРАММА.

Цель диссертационной работы: исследовать показатели стресс-реакции у людей при развитии в организме патологических состояний.

Задачи исследования:

1. Оценить возрастной состав эритроцитов крови у людей с диффузно-токсическим зобом и перитонитом;
2. Определить лейкоцитарную формулу больных перитонитом и ДТЗ;
3. Определить концентрацию гормона стресс-реакции – кортизола – у пациентов с диффузно-токсическим зобом, а также перитонитом методом иммуноферментного анализа;
4. Определить концентрацию Саи Mg в крови у больных ДТЗ;
5. Оценить корреляционную зависимость между уровнем кортизола и концентрацией кальция (магния) больных ДТЗ;
6. Определить зависимость между возрастным составом эритроцитов и гормоном стресс-реакции у больных перитонитом и диффузно-токсическим зобом.

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. Пагубный эффект стрессора зависит от его силы, длительности или повторяемости, а также от реактивности самого организма, который подвергся избыточному стрессу. В стрессорной реакции принимают участие нервные, нейроэндокринные и эндокринные факторы, среди которых важнейшую роль играют симпатико-адреналовая и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая системы. Кортизол является важным элементом в развитии стресс-реакции и противостоит воспалению. Почти любой тип стресса, как физический, так и эмоциональный, вызывает значительное увеличение секреции кортизола надпочечниками. 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.

ABSTRACT

Master's thesis on the topic "Investigating the indicators of stress response in people with the development of pathological conditions in the body" contains 62 pages of a text document, 60 sources used, 4 tables, 12 figures.

Key words: STRESS, HYPOTHALAMO-HYPOPHYSICAL SYSTEM, CALCIUM, MAGNESIUM, PERITONITE, DIFFUSION TOXIC OBD, CORTTISOL, AGE GROWTH OF BLOOD ERYTHROCYTES, LEUKOGRAM.

The purpose of the dissertation: to study the indicators of stress reaction in people with the development of pathological conditions in the body.

Objectives of the study:

1. Evaluate the age composition of red blood cells of people with diffuse-toxic goiter and peritonitis;
2. Determine the leukocyte formula for patients with peritonitis and DTZ;
3. Determine the concentration of the hormone stress reaction - cortisol - of patients with diffuse-toxic goiter, as well as peritonitis by the method of enzyme immunoassay;
4. Determine the concentration of Ca and Mg in the blood of patients with DTZ;
5. To evaluate the correlation between the level of cortisol and the concentration of calcium (magnesium) in patients with DTZ;
6. Determine the relationship between the age composition of erythrocytes and the hormone stress response in patients with peritonitis and diffuse-toxic goiter.

Stress-reaction can be considered as a way to achieve a resistance of the organism under the influence of excessive factors and to be adaptive, with the subsequent restructuring of the protective mechanisms of the body. On the other hand, stress can be a determinant that has a damaging effect on organs and their systems, which ultimately leads to the development of pathologies. The harmful effect of a stressor depends on its strength, duration or repeatability, as well as on the reactivity of the organism itself, which has undergone excessive stress. Nerve, neuroendocrine and endocrine factors take part in the stress reaction, among which the sympatric-adrenal and hypothalamic-pituitary-adrenal systems play a crucial role. Cortisol is an important element in the development of stress response and resists inflammation. Almost any type of stress, both physical and emotional, causes a significant increase in the secretion of cortisol by the adrenal glands. It is known that blood is the only mobile tissue of the body, which predetermines its significant participation in the metabolism through the plasma and uniform elements and largely reflects the systemic nature of pathophysiological changes in the body.

СОДЕРЖАНИЕ

АННОТАЦИЯ.....	2
АВТОРЕФЕРАТ	3
ABSTRACT	4
ВВЕДЕНИЕ.....	7
ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ.....	10
1 Обзор литературы	10
1.1 Понятие стресса.....	10
1.1.1 Общий адаптационный синдром.....	11
1.1.2 Развитие общего адаптационного синдрома.....	13
1.2 Гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая системы	17
1.2.1 Гипоталамус	17
1.2.2 Гипофиз.....	17
1.2.3 Надпочечники.....	18
1.2.3.1 Кортизол	19
1.2.4 Последствия активации гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы	22
1.4 Щитовидная железа	24
1.5 Эритроциты	25
1.6 Лейкоцитарная формула.....	28
1.7 Магний	29
1.8 Кальций	31
1.9 Диффузный токсический зоб.....	32
1.9.1 Состояние системы крови при ДТЗ	33
1.10 Перитонит	34
1.10.1 Эритроциты при перитоните	34
2 Материалы и методы	36
2.1 Материалы и объекты исследований	36
2.2 Методы исследований	36
2.2.1 Метод кислотных эритрограмм.....	37
2.2.2 Микроскопирование окрашенных мазков.....	40
2.2.2.1 Приготовление мазков крови	41

2.2.2.2 Фиксация и окраска мазков крови	41
2.2.3 Определение кортизола методом иммуноферментного анализа	42
2.2.3.1 Состав набора.....	43
2.2.3.2 Проведение анализа.....	44
2.2.4 Определение концентрации Mg колориметрическим методом.....	45
2.2.4.1 Назначение набора.....	45
2.2.4.2 Принцип метода	45
2.2.4.3 Состав набора.....	45
2.2.4.4 Характеристика набора	45
2.2.4.5 Необходимое оборудование и материалы.....	46
2.2.4.6 Проведение анализа.....	46
2.2.5 Определение концентрации Са унифицированным колориметрическим методом	47
2.2.5.1 Назначение	47
2.2.5.2 Принцип метода	47
2.2.5.3 Состав набора.....	47
2.2.5.4 Характеристика набора	48
2.2.5.5 Необходимое оборудование и материалы.....	48
2.2.5.6 Проведение анализа.....	48
3 Результаты и их обсуждение.....	Ошибка! Закладка не определена.
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	Ошибка! Закладка не определена.
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	50
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	52

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]. Лейкоциты играют важнейшую роль в организме — они обеспечивают защиту от различных патогенных микроорганизмов, поглощая и обезвреживая чужеродные частицы.

Кальций – важнейший макроэлемент, входящий в состав организма. Основное депо кальция приходится на костную ткань. Этот элемент участвует в многочисленных внутриклеточных физиологических и биохимических процессах, а также выполняет скелетную функцию. Ионы кальция являются эссенциальными факторами, не заменимыми другими катионами для ряда жизненно важных физиологических процессов: мышечное сокращение, нервно-мышечное возбуждение, свертывание крови, проницаемость клеточных мембран, активность ряда ферментов и т.д.

В настоящее время сильно увеличился интерес к аспектам изучения биологической роли магния в организме. Данный элемент определяет функциональное состояние различных клеточных систем: например, входит в кофакторы более чем 350 ферментов, контролирующих энергетический обмен в клетке. Дефицит магния может возникать в результате физиологических и (или) патологических изменений в организме.

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.

На долю болезней щитовидной железы приходится 10 % общей патологии с укрепившейся тенденцией к росту, что, видимо, связано с глобальным ухудшением экологической обстановки, со старением человеческой популяции и, конечно, с улучшением диагностики. Среди заболеваний, протекающих с синдромом тиреотоксикоза, на долю диффузного токсического зоба (ДТЗ) приходится до 80%.

Целью работы было исследование показателей стресс-реакции людей с

диффузно-токсическим зобом и перитонитом.

В соответствии с целью были поставлены следующие задачи:

- оценить возрастной состав эритроцитов крови у людей с ДТЗ и перитонитом;
- определить лейкоцитарную формулу больных перитонитом и ДТЗ;
- определить концентрацию гормона стресс-реакции – кортизола – у пациентов с ДТЗ, а также перитонитом методом иммуноферментного анализа;
- определить концентрацию Са и Mg в крови у больных ДТЗ;
- определить зависимость между возрастным составом эритроцитов и гормоном стресс-реакции у больных перитонитом и ДТЗ;
- оценить корреляционную зависимость между уровнем кортизола и концентрацией кальция и магния больных ДТЗ.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

1 Обзор литературы

1.1 Понятие стресса

Стресс – это неспецифическая реакция организма, которая возникает в результате действия неблагоприятных 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. Г. Селье впервые ввел данное понятие, которое подразумевало стресс, как реакцию организма, а понятие «стрессор» - 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 кровоточащими 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 становится 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 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.

Стадия тревоги. Она характеризуется мобилизацией защитных сил организма. В стадии тревоги выделяют подстадию шока, когда происходит спад адаптационных возможностей и противошока – когда происходит

увеличение адаптационных возможностей. Стадия тревоги возникает через небольшой промежуток времени после воздействия стрессора и продолжается от 6 и до 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 CO₂ в крови; различные цитокины и липидные медиаторы воспаления; ангиотензин II и некоторые другие гормоны [16, 33].

Цитокины – белково–пептидные факторы, осуществляющие коротко–дистантную регуляцию межклеточных и межсистемных взаимодействий. Они играют важнейшую 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.

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].

Стадия адаптации или истощения. В этой стадии происходит общее снижение гормонов адаптации, накапливаются повреждения. Секретция глюкокортикоидов начинает снижаться и 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.

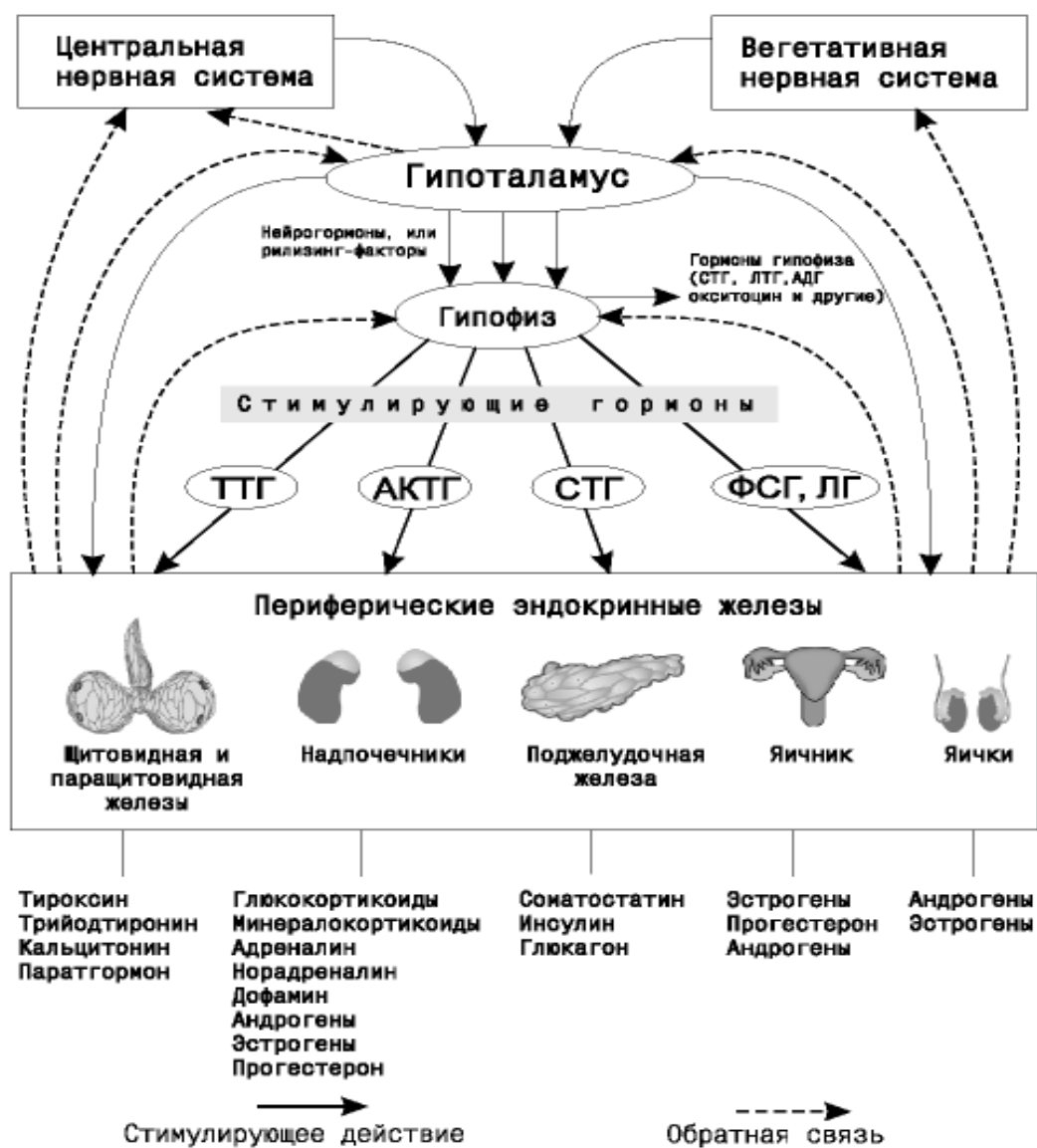


Рисунок 1 – Гипоталамо-гипофизарная система[52]

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

Высшим центром адренокортикального 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-рилизинг 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–рилизинг 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-гипофизарно-надпочечниковая 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].

1.2.3 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].

1.2.3.1 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 природа, что является пусковым моментом для развития адаптационного синдрома. Кортиколиберин стимулирует высвобождение адренокортикотропного 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 100–500 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 из ацетил–КоА [26].

Большая часть холестерина подвергается этерификации и накапливается в цитоплазме в виде эфиров. При синтезе гормонов происходит активация 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 изменяют транскрипции многих генов, изменяя синтез мРНК белков, 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].

1.2.4 Последствия активации гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы

В стрессорной реакции принимают участие нервные, нейроэндокринные и эндокринные факторы, среди которых важнейшую роль играют симпатико-адреналовая и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая системы.

В ответ на стрессор повышаются артериальное давление, частота сердцебиений и сердечный выброс, увеличивается поступление крови в мышцы за счет вазоконстрикции в мезентерии и почках и вазодилатации в мышцах [54].

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].

Выделившийся в кровь кортизол достигает клеток-мишеней (лимфоидная, эпителиальная (слизистые оболочки и кожа), жировая, костная и мышечная ткани, печень). Благодаря своей липофильной природе легко проникает через клеточную мембрану в цитоплазму и ядро, где связывается со специфическими рецепторами и активирует транскрипцию определённых участков ДНК [39].

Основной метаболический эффект кортизола и других глюкокортикоидов – это способность стимулировать глюконеогенез из кетокислот [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.

Гормон стресса увеличивает синтез гликогена в печени за счет активации фосфатаз и дефосфорилирования гликогенсинтазы. 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, 47].

В присутствии высокой концентрации кортизола происходит стимуляция липолиза в жировой ткани благодаря увеличению синтеза ТАГ-липазы, что усиливает эффект СТГ, глюкагона 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. Тем не менее, повышенное использование жирных кислот для образования энергии является важным фактором для долгосрочного сохранения глюкозы и гликогена [32].

Кортизол снижает количество эозинофилов и лимфоцитов в крови. Указание на эозинопению и лимфоцитопению может быть важным диагностическим признаком гиперпродукции кортизола адреналовыми железами. Более того, повышенные концентрации кортизола вызывают существенную атрофию лимфоидной ткани, что в итоге уменьшает выброс как Т-клеток, так и антител из лимфоидной ткани. [1].

Гормон коры надпочечников - кортизол способствует значительному повышению выделения кальция как с мочой, так и через кишечник, так как при этом тормозится всасывание кальция в кишечной стенке и реабсорбция его в канальцах почек. Также он понижает уровень магния в организме, тормозит

превращение остеокластов в остеобласты. В результате увеличивается количество остеокластов и как следствие - резорбция костной ткани и развитие остеопороза.

Вследствие повышенных концентраций данного гормона можно наблюдать:

- снижение толерантности к глюкозе – аномальная гипергликемия после сахарной нагрузки или после еды;
- гипергликемия из-за активации глюконеогенеза;
- увеличение объема лица и туловища;
- глюкозурия;
- повышение катаболизма белков и повышение азота крови;
- остеопороз и усиление потерь кальция, магния и фосфатов;
- снижение роста и деления клеток – лейкопения, иммунодефициты, истончение кожи, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки;
- нарушение синтеза коллагена и гликозамингликанов;
- гипертония благодаря активации ренин-ангиотензиновой системы.

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[42].

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].

1.5 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 мм^3), у мужчин $4 - 5,2 \cdot 10^{12}$ ($4 - 5,2$ млн в 1 мм^3)[37].

Красные кровяные клетки содержат гемоглобин, в связи с этим главная 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 мкм^2 , а объём -90 мкм^3 , общая площадь поверхности циркулирующих в крови эритроцитов составляет около $3500-3700 \text{ м}^2$. 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].

Эритроном называют совокупность зрелых и незрелых эритроцитов в кровяном русле. Впервые понятие эритрона предложил в 1913 г. А. Boycott, 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 В6, В9, В12. В костном мозге содержание клеток эритроидного ряда колеблется от 14 до 26% [37].

В норме популяция эритроцитов остается постоянной, и при физиологических условиях 85–97 % эритроцитов человека имеют форму двояковогнутого диска с уплотнениями по краям и 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 Na^+ -насоса. Дiskoобразная 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 состоит из мозаики белков, липопротеинов и гликопротеинов и, возможно, чисто липидных участков. Толщина мембраны клетки приблизительно равна 10 нм. Клеточную мембрану эритроцита условно можно разделить на три слоя. Наружный слой образован гликопротеинами и содержит комплексы концевых отделов антигенов. Поверхность мембраны представляет собой сложную многомерную структуру. Эта структура определяется негомогенностью мембраны, ее неоднородностью и широким спектром белков. Средний слой клеточной мембраны образует липидный бислой, внутренний слой мембраны состоит из белков, связанных с молекулами гликолитических ферментов, гемоглобина и белков, которые формируют цитоскелет. Мембрана эритроцита со временем становится менее эластичной, поэтому по мере старения эритроциты утрачивают способность к деформации по истечении срока жизни, который составляет около 120 суток [4, 5]. 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.

До 18-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 покидать 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, частичное 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 %.

1.6 Лейкоцитарная формула

Лейкоцитарная формула представляет собой процентное соотношение разных видов лейкоцитов, которое определяется методом подсчета их в мазке крови. Лейкограмма дает возможность выявлять и характеризовать многие патологические процессы в организме. Лейкограмма подсчитывается как в процентном соотношении, так и в абсолютных числах. Объектами наблюдения при данном подсчете являются: нейтрофилы, базофилы, эозинофилы, моноциты и лимфоциты [34].

Исследование нейтрофилов при данном анализе имеет важное диагностическое значение, так как можно судить о наличии или скорости развития патологического процесса.

При сдвиге лейкоцитарной формулы влево наблюдается увеличение палочкоядерных (незрелых)нейтрофилов. Данный сдвиг может указывать на воспалительные и некротические процессы, инфекционные заболевания и отравления.

Сдвиг лейкограммы вправо говорит о преобладании сегментоядерных (зрелых) нейтрофилов над (незрелыми) палочкоядерными. Данный сдвиг может свидетельствовать о лучевой болезни, недостатке витамина В12, болезнях печени и почек.

Увеличение числа нейтрофилов может быть признаком многих патологий. Его можно наблюдать при возникновении различных инфекционных заболеваниях, раковых опухолей, ревматизме, гипергликемии при сахарном диабете и т.д. После тяжелых эмоциональных, физических и болевых нагрузок также увеличивается количество нейтрофилов [47].

Нормальными считаются следующие значения: сегментоядерные нейтрофилы 47-72%, палочкоядерные нейтрофилы 1- 6%, лимфоциты 19-37%, моноциты 3-11%,эозинофилы0,5-5%,базофилы 0-1%.

1.7 Магний

Магний является одним из важнейших внутриклеточных элементов, выступает в качестве универсального регулятора биохимических и физиологических процессов, участвует в энергетическом, пластическом и электролитном обмене.

По содержанию в организме, магний занимает 4-ое место, после натрия, калия и кальция. От концентрации магния в клетке напрямую зависит ее метаболическая активность[27].

Ионы магния участвуют в окислении жирных кислот, выработке энергии, построении белков, а также метаболизме глюкозы. Можно добавить, что

данный элемент является кофактором различных ферментов, большая часть которых утилизирует АТФ.

Магний является физиологическим регулятором клеточного роста, поддерживает необходимый запас пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов для синтеза ДНК и РНК[3].

Данный ион чрезвычайно важен для нормального функционирования нервной системы, он участвует в многосторонних процессах регуляции деятельности всего организма.

Магний – природный и физиологический антагонист кальция. Ион магния образует более прочные связи, чем ион кальция, и является более активным катализатором ферментативных процессов, вследствие меньшего радиуса иона и большей энергии ионизации[1].

Оказывая антагонистическое действие на кальций, магний конкурирует с ним на всех уровнях клетки. Магний играет важную роль в действии противосвертывающей системы крови. При недостатке магния выявлено уменьшение времени свертывания крови, повышение агрегации тромбоцитов, активация процессов тромбообразования. Магний влияет на тонус сосудистой стенки, способствуя её дилатации. Низкая концентрация внеклеточного магния приводит к спазму сосудов. Недостаток магния влияет на жирнокислотный состав липидов: при дефиците магния в крови повышено содержание триглицеридов, хиломикрон, липопротеидов очень низкой плотности и низкой плотности, при этом снижен уровень липопротеидов высокой плотности. Также недостаток магния снижает антиоксидантную защиту организма; повышает чувствительность организма к вирусной и бактериальной инфекции. Дефицит магния сопровождается снижением общей иммунорезистентности организма, что приводит к формированию различных воспалительных заболеваний[19].

Общее количество магния в организме взрослого человека составляет 24–25 г. Наибольшая его часть – 60% – содержится в костях, формируя в содружестве с кальцием их структуру. Наибольшие количества магния

содержится в тканях с наиболее интенсивными обменными процессами. Концентрация магния в сыворотке крови составляет в норме 0,75–0,95 ммоль/л.

Особое значение ионы Mg имеют в поддержании трансмембранного потенциала. Он способен подавлять автоматизм, проводимость и возбудимость, увеличивать абсолютную и укорачивать относительную рефрактерность в тканях (миокард, миомерий).

1.8 Кальций

Кальций является внутриклеточным катионом, большая часть его входит в состав костной ткани. Са в организме находится в трех формах: связанный с белком, главным образом с альбумином; входит в комплекс с бикарбонатом, лактатом, фосфатом и цитратом; ионизированном виде (Ca^{++}). Именно ионизированная фракция обладает физиологической активностью[3].

Основное депо кальция - костная ткань. В эритроцитах обнаруживаются следы кальция, в то время как в плазме содержание его составляет 2,25–2,80 ммоль/л. Кальций принимает активное участие в процессах нервно-мышечной возбудимости (как антагонист ионов K^+), мышечного сокращения, свертывания крови, образует структурную основу костного скелета, влияет на проницаемость клеточных мембран и т.д.

Отчетливое повышение уровня кальция в плазме крови наблюдается при развитии опухолей в костях, гиперплазии или аденоме паращитовидных желез. В таких случаях кальций поступает в плазму из костей, которые становятся ломкими. Важное диагностическое значение имеет определение уровня кальция при гипокальциемии. Состояние гипокальциемии наблюдается при гипопаратиреозе. Нарушение функции паращитовидных желез приводит к резкому снижению содержания ионизированного кальция в крови, что может сопровождаться судорожными приступами[7].

1.9 Диффузный токсический зоб

В настоящее время ДТЗ рассматривается как органоспецифическое аутоиммунное генетически обусловленное заболевание, которое характеризуется появлением аутоантител к рецепторам плазматических мембран тиреоцитов, близким к рецепторам тиреотропина. Эти аутоантитела получили название тиреостимулирующих иммуноглобулинов[44].

Заболевание провоцируют острые и хронические инфекции, заболевания гипоталамо-гипофизарной системы, черепно-мозговая травма с последующим развитием энцефалита, поражение периферических нервов, перегревание организма (избыточная инсоляция и т. д.), беременность, прием больших доз йода. При тяжелой форме диффузного токсического зоба может быть угнетена функция костного мозга. В связи с этим развиваются анемия и лейкопения[13].

Наиболее часто встречается аутоиммунный тиреотоксикоз, который характеризуется избыточной секрецией тиреоидных гормонов, а также диффузным увеличением щитовидной железы.

Ключевая роль в развитии данного заболевания отводится нарушению во взаимодействии различных составляющих иммунной системы, что приводит к лимфоцитарной инфильтрации щитовидной железы. Инфильтрация лимфоцитами стимулируется пролиферацией тиреоцитов щитовидной железы через адгезию внутриклеточных адгезивных молекул-1, а также лимфатического функционального антигена-1. Это является главным фактором, приводящим к увеличению объема железы и развитию зоба при ДТЗ[11].

Гиперплазия щитовидной железы и повышенная продукция ее гормонов, связаны аутоиммунными механизмами при ДТЗ, но в патогенезе остаются не совсем изучено взаимодействие различных звеньев иммунной системы с тиреоидными антигенами, что приводит к различной степени увеличения щитовидной железы, сочетанию с офтальмопатией или претибиальной микседемой [51].

Существуют различные классификации ДТЗ, но наиболее популярной является классификация предложенная Николаевым О.В. в 1995 году, представленная в таблице 1.

Таблица 1- Классификация степени увеличения щитовидной железы (Николаев О.В., 1955)

Степень	Характеристики
0	ЩЖ не пальпируется
I	Пальпаторно определяется увеличение перешейка ЩЖ
II	Пальпаторно определяются увеличенные боковые доли
III	Визуально определяется увеличение ЩЖ ("толстая шея")
IV	Значительное увеличение ЩЖ (зоб ясно виден)
V	Зоб огромных размеров

1.9.1 Состояние системы крови при ДТЗ

Тиреотоксикоз сопровождается увеличением объема циркулирующей крови и эритроцитарной массы. Причиной увеличения эритроцитарной массы служит изменение уровня сывороточного эритропоэтина, т.к. изменяется сывороточный уровень тироксина, что приводит в конечном итоге к увеличению количества эритроцитов. Одновременно обнаруживают уменьшение содержания калия и рост натрия в эритроцитах, гипомагниемия, гиперкальциемия, гиперфосфатемия[48].

При диффузном токсическом зобе наблюдается выраженная гиперлипидемия: общий холестерин и триглицериды в сыворотке крови превышают показатели средних значений нормы.

Одним из последствий нарушения функции ЩЖ является повышение концентрации липидов сыворотки крови. Происходит нарушение нормальных

взаимоотношений компонентов жирового обмена и транспортных форм липидов. Высокая концентрация ХС, ТГ, ЛПНП и ЛПОНП позволяет судить о перераспределении компонентов липидного спектра, смена их структуры, развитие дислипидемии[12].

1.10 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].

1.10.1 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 β -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 α -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].

2 Материалы и методы

2.1 Материалы и объекты исследований

Материалом исследования возрастного состава эритроцитов послужили 7 образцов цельной крови пациентов с перитонитами и 27 образцов цельной крови людей с диффузным токсическим зобом, взятой натощак в утреннее время суток из локтевой вены.

Материалом исследования лейкоцитарной формулы послужили 13 образцов цельной крови больных перитонитом и 7 образцов цельной крови больных диффузным токсическим зобом;

Материалом исследования концентрации кортизола послужили 7 образцов сыворотки крови людей с перитонитом и 27 образцов сыворотки крови больных диффузным токсическим зобом.

Материалом исследования концентрации Са послужили 10 образцов сыворотки крови людей, больных диффузным токсическим зобом.

Материалом исследования концентрации Mg послужили 10 образцов сыворотки крови больных диффузным токсическим зобом.

2.2 Методы исследований

Для того, чтобы определить возрастной состав эритроцитов крови, были построены кривые кислотной резистентности эритроцитов, основанные на измерениях оптической плотности методом кислотных эритрограмм Терскова–Гительсона.

Лейкоцитарную формулу определяли с помощью микроскопирования окрашенных мазков крови.

Для определения концентрации кортизола у больных перитонитом и диффузным токсическим зобом использовался иммуноферментный анализ (ИФА) с использованием моноклональных антител. Определялась оптическая плотность кортизола в сыворотке крови и оптическая плотность калибратора 1,

2, 3, 4, 5 и 0. Оптическая плотность и концентрация определена прибором автоматически.

Для того, чтобы определить концентрацию Mg в сыворотке крови использовали колориметрический метод без депротеинизации.

Концентрацию Ca в сыворотке крови определяли унифицированным колориметрическим методом.

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 уравняли 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 2 указаны время гемолиза (в минутах) и полученные в отчетах соответствующие значения экстинции. В третьей графе даны разности экстинции (ΔE) между соседними отсчетами, то есть количественно выражается особая группа эритроцитов, стойкость которой определяется временем, прошедшим от начала гемолиза до этого отчета. Разница между экстинцией по окончании гемолиза принималась за 100% и в четвертой графе таблицы вычислялся процент ΔE , отражающий процент эритроцитов данной стойкости (Ξ).

Таблица 2 – Данные опытов с кровью здорового человека

Время гемолиза, Т,мин	Экстинция, Е	Разность экстинции, ΔЕ	Распад эритроцитов, % Э
0,5	0,48	0	0
1	0,48	0	0
1,5	0,48	0,002	0,49
2	0,478	0,003	0,74
2,5	0,475	0,015	3,70
3	0,46	0,06	14,81
3,5	0,4	0,095	23,45
4	0,305	0,08	19,75
4,5	0,225	0,065	16,04
5	0,16	0,05	12,34
5,5	0,11	0,03	7,40
6	0,08	0,005	1,23
6,5	0,075	0	0
7	0,075		

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.

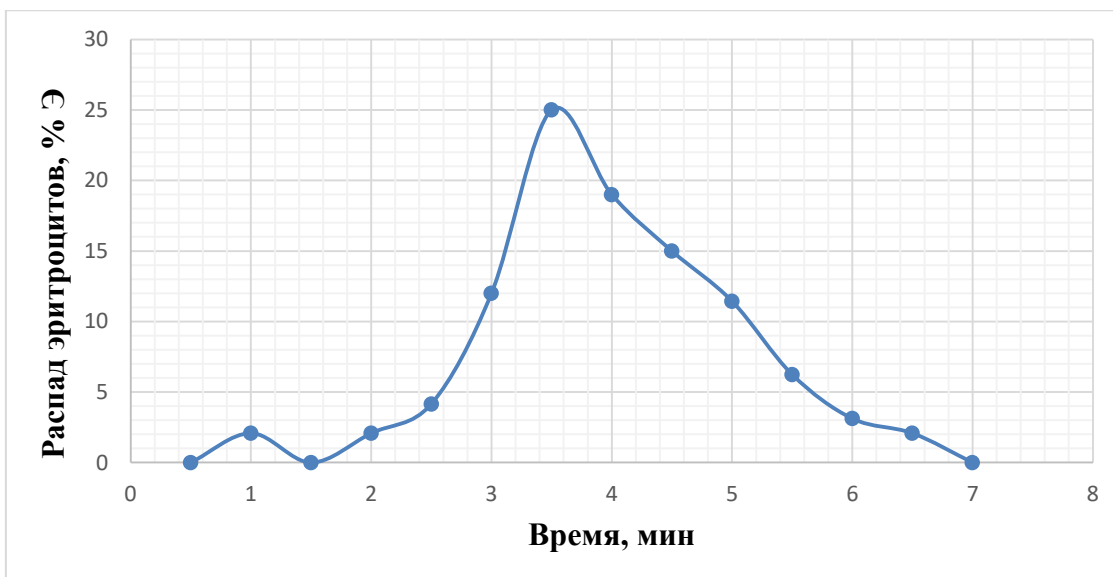


Рисунок 2 – Кривая распределения эритроцитов по стойкости

Кривая распределения эритроцитов по стойкости позволяет определить состояние эритроцитов при данном анамнезе человека. Эритрограмма здорового человека характеризуется началом гемолиза на 1,5-2 минуте, пиком на 3-3,5 минуте и окончанием гемолиза на 6,5-7,5 минуте. Количество эритроцитов с повышенной стойкостью у здоровых людей составляет 20-25%, возраст которых - 28-30 дней. 45-55% составляет популяция эритроцитов средней стойкости возрастом от 30 до 90 дней. На количество эритроцитов с низкой стойкостью приходится 20-25%, их возраст составляет больше 90 дней.

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 Микроскопирование окрашенных мазков

Морфологию лейкоцитов изучают с помощью микроскопирования мазков крови, окраска по Романовскому. Принцип метода состоит в избирательном поглощении веществами клетки – азур, метиленового синего и эозина. Азур имеет амфотерноосновную реакцию, метиленовая синька – щелочную, эозин – кислотную.

2.2.2.1 Приготовление мазков крови

Каплю крови поместить на край обезжиренного предметного стекла и сделайте мазок с помощью другого предметного стекла со шлифованным краем. С помощью второго предметного стекла прикоснитесь к капле крови и как только капля коснется подвижного стекла, разойдется по линии соприкосновения стекол, верхним стеклом под углом 45° , проведите по первому стеклу в направлении от капли, чтобы получился мазок. Мазок должен быть тонким, чтобы клетки крови располагались равномерно в один слой. В то же время следует избегать чрезмерного надавливания, для исключения деформации лейкоцитов. Приготовленные мазки высушивают, затем фиксируют и окрашивают с использованием нескольких способов.

2.2.2.2 Фиксация и окраска мазков крови

Свежеприготовленный, высушенный на воздухе мазок зафиксируйте метиловым или этиловым спиртом. Для этого мазок поместите горизонтально в ванночку на подставку и накапывайте спирт каплями, чтобы он полностью покрывал мазок крови. Подождите несколько минут до испарения спирта.

Окраску фиксированных мазков производите водным раствором краски Романовского-Гимза. На 1 мл воды добавьте 1 каплю краски. Для получения нужной окраски рН воды должно составлять от 6,8 до 6,9. Поэтому желательно использовать фосфатный буфер с рН 6,8-6,9. На один мазок потребуется 2-3 мл водного раствора краски.

Окрашивание производите нанесением водного раствора краски каплями на расположенный на подставках в ванночке мазок до полного покрытия мазка. Красить необходимо 15-20 мин, после чего смойте краску холодной водопроводной водой и высушите мазок на воздухе.

Окрашенный и высушенный мазок исследуйте под микроскопом с использованием иммерсионного масла. На мазок нанесите каплю иммерсионного масла, опустите объектив до соприкосновения с маслом, затем немного приподнимите его. При этом силы поверхностного натяжения удерживают масло в контакте с линзой. Затем настройте поле зрения, медленно

опуская объектив до появления контуров клеток. Для окончательной фокусировки используйте микровинт.

Двигайтесь по мазку и исследуйте лейкоциты в каждом поле зрения. При движении по мазку рекомендуется пересекать мазок по схеме, представленной на рис. 3.



Рисунок 3—Схема движения по мазку крови при исследовании морфологии лейкоцитов

Произведите исследование 100 лейкоцитов, идентифицируя каждый лейкоцит; подсчитайте количество лейкоцитов в каждом классе. Поскольку исследуется 100 клеток, результаты выражаются в % количестве лейкоцитов каждого типа среди всех лейкоцитов крови.

2.2.3 Определение кортизола методом иммуноферментного анализа

Метод определения 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 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».

2.2.3.1 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.

2.2.3.2 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.

2.2.4 Определение концентрации Mg колориметрическим методом

2.2.4.1 Назначение набора

Набор предназначен для количественного определения содержания магния в сыворотке (плазме) крови, моче и ликворе колориметрическим методом без депротеинизации. Использовать только для Invitродиагностики.

2.2.4.2 Принцип метода

Ионы магния образуют окрашенный комплекс с ксилидиловым синим в щелочной среде, интенсивность окраски которого при длине волны 520 (505-540) нм прямо пропорциональна концентрации магния в пробе.

2.2.4.3 Состав набора

Реагент №1. Монореагент	Концентрация
Карбонатный буфер, рН 11,1	200 ммоль/л
Ксилидиловый синий	0,1 ммоль/л
ГДТА	0,04 ммоль/л
Детергенты, стабилизаторы	
Калибратор	
Магний	0,82 ммоль/л

2.2.4.4 Характеристика набора

Линейность: отклонение не более 6% в диапазоне концентраций 0,2-2,0 ммоль/л (0,5-5,0 мг/дл).

Чувствительность: 0,2 ммоль/л (0,5 мг/дл)

Коэффициент вариации: не более 6%.

2.2.4.5 Необходимое оборудование и материалы

1. Фотометр, полуавтоматический или автоматический анализатор, длина волны 520 (505-540) нм.
2. Дозаторы со сменными одноразовыми наконечниками.
3. Вода деионизованная или бидистиллированная.
4. Контрольные материалы с известным содержанием магния, аттестованные данным методом.

2.2.4.6 Проведение анализа

Перед началом работы необходимо довести реагенты до выбранной температуры проведения анализа.

Количественный анализ:

Длина волны: 520 (505-540) нм.

Длина оптического пути: 1 см (5мм).

Температура инкубации: комнатная (18-25°C) или 37°C.

Фотометрирование: против холостой пробы.

Внести в пробирки:	Опытная проба	Калибровочная проба	Холостая проба
Образец	0,02 мл	-	-
Калибратор	-	0,02 мл	-
Бидистиллированная вода	-	-	0,02 мл
Монореагент	2,0 мл	2,0 мл	2,0 мл

Пробы закрыть и тщательно перемешать. Инкубировать 10 минут при 18-25°C или 5 минут при 37°C. Измерить оптическую плотность опытной и калибровочной проб. Оптическая плотность стабильна в течение часа при 18-25°C или не менее 30 минут при 37°C.

2.2.5 Определение концентрации Са унифицированным колориметрическим методом

2.2.5.1 Назначение

Набор предназначен для количественного определения содержания кальция в сыворотке (плазме) крови и моче колориметрическим методом с о-крезолфталейнкомплексом. Использовать только для invitroдиагностики.

2.2.5.2 Принцип метода

Кальций в щелочной среде образует окрашенный комплекс с о-крезолфталейнкомплексом. Интенсивность окраски при длине волны 570 (540-590) нм прямо пропорциональна концентрации кальция в пробе.

2.2.5.3 Состав набора

Реагент №1. Буферный раствор	Концентрация
Боратный буфер рН 10,7	80 ммоль/л
Глицин	20 ммоль/л
Реагент №2. Хромоген	
О-крезолфталейн комплексон	0,26 ммоль/л
8-гидроксихинолин	8,96 ммоль/л
Калибратор	
Кальций	2,5 ммоль/л

2.2.5.4 Характеристика набора

Линейность: отклонение не более 5% в диапазоне концентраций 0,25-3,75 ммоль/л (1-15 мг/дл).

Чувствительность: 0,15 ммоль/л.

Коэффициент вариации: не более 5%.

2.2.5.5 Необходимое оборудование и материалы

1. Фотометр, полуавтоматический или автоматический анализатор, длина волны 570 (540-590) нм.

2. Дозаторы со сменными одноразовыми наконечниками.

3. Вода деионизованная или бидистиллированная.

4. Контрольные материалы с известным содержанием кальция, аттестованные данным методом.

2.2.5.6 Проведение анализа

Перед началом работы необходимо довести реагенты до температуры проведения анализа.

Количественный анализ:

Длина волны: 570 (540-590) нм.

Длина оптического пути: 1 см (5 мм).

Температура инкубации: комнатная (18-25°C) или 37°C.

Фотометрирование: против холостой пробы.

Внести в пробирки:	Опытная проба	Калибровочная проба	Холостая проба
Образец	0,05 мл	-	-
Калибратор	-	0,05 мл	-
Деионизованная или бидистиллированная вода	-	-	0,05 мл

Реагент №1	1,0 мл	1,0 мл	1,0 мл
Реагент №2	1,0 мл	1,0 мл	1,0 мл

Пробы тщательно перемешать и инкубировать 5 минут при 18-25 (37)°С. Измерить оптическую плотность опытной и калибровочной проб против холостой пробы. Окраска стабильна не менее часа после окончания инкубации при предохранении от прямого солнечного света.

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

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Из текста магистерской диссертации изъятые 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
ЛПОНП – Липопротеины очень низкой плотности
ОАС – Общий адаптационный синдром
ОКС – Окситоцин
ПКР – Почечно–клеточный рак
СТГ – Соматотропный гормон
ТГ – Триглицериды
ТРГ – Тиреотропин–рилизинг гормон
ТТГ – Тиреотропный гормон
ФСГ – Фолликулостимулирующий гормон
ХС – Холестерин
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 гипоталамо-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.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования

«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Фундаментальной биологии и биотехнологии

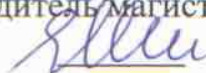
Институт

Медицинской биологии

Кафедра

УТВЕРЖДАЮ

Руководитель магистерской программы



Е. И. Шипацкая

подпись

« 18 » июня 2018 г.


МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

Исследование показателей стресс-реакции у людей при развитии в организме патологических состояний

06.04.01 – Биология

06.04.01.05 – Реконструктивная биоинженерия

Научный руководитель



подпись, дата

доцент, к.б.н.

должность, ученая степень

Ф. А. Гершкорон

Выпускник



подпись, дата

В. М. Диденко

Рецензент



подпись, дата

доцент, к.м.н.

должность, ученая степень

Т. В. Толмачева

Красноярск 2018