

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

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой

\_\_\_\_\_ Е. И. Шишацкая  
инициалы, фамилия

« \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2018г.

**БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА**

06.03.01 - Биология

Исследование показателей стресс-реакции у больных диффузным  
токсическим зобом

Научный руководитель \_\_\_\_\_

подпись, дата

доцент, к.б.н. Ф.А. Гершкорн

должность, ученая степень

инициалы, фамилия

Выпускник \_\_\_\_\_

подпись, дата

инициалы, фамилия

В.А. Беглякова

Красноярск 2018

## СОДЕРЖАНИЕ

|   |  |
|---|--|
| ВВЕДЕНИЕ .....  | 3                                      |
| 1 Обзор литературы .....  | 5                                      |
| 1.1 Стресс .....  | 5                                      |
| 1.2. Гипоталамо-гипофизарная система .....  | 6                                      |
| 1.3. Гормоны гипоталамо-гипофизарной системы.....   | 8                                      |
| 1.4. Эритроциты .....   | 9                                      |
| 1.5 Анализируемые показатели эритроцитов .....  | 11                                     |
| 1.6 Влияние гормонов на проницаемость клеточной мембраны .....  | 15                                     |
| 1.7 Диффузный токсический зоб (болезнь Базедова) .....  | 16                                     |
| 2 Материалы и методы .....  | 21                                     |
| 2.1 Объект исследования.....  | 21                                     |
| 2.2 Методы исследования .....   | 21                                     |
| 2.3 Определение содержания общего тироксина в образцах сыворотки<br>крови методом иммуноферментного анализа ..... | 21                                     |
| 2.4 Определение возрастного состава эритроцитов .....   | 22                                     |
| 2.5 Подсчет количества эритроцитов электрокалориметрическим<br>способом.....                                      | 26                                     |
| 2.6 Определение содержания гемоглобина .....  | 26                                     |
| 2.7 Расчёт среднего содержания гемоглобина в одном эритроците и<br>цветного показателя крови.....                 | 27                                     |
| 2.8 Определение гематокрита.....  | 27                                     |
| 3 Результаты и их обсуждения .....  | 29                                     |
| ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....   | <b>Ошибка! Закладка не определена.</b> |
| СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ .....   | 30                                     |
| СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ .....  | 31                                     |

## ВВЕДЕНИЕ

Стресс – это комплекс неспецифических ответов на факторы, угрожающих нормальной жизнедеятельности организма, его целостности и жизнеспособности, который реализуется при непосредственном участии нейроэндокринной системы. Система, обеспечивающая стрессорные реакции, включает в себя центральное звено (нейроны паравентрикулярного ядра гипоталамуса и катехоламинергические нейроны) и периферическую часть (гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая ось и щитовидная железа) [34].

Постоянный стресс – это один из факторов депрессии иммунной системы, искажающий её ответ на патогенное влияние окружающей среды. Его непрерывное влияние на организм приводит к истощению ресурсов организма, что приводит к неблагоприятным последствиям [25].

Красные кровяные тельца, эритроциты, являются превосходными маркерами физиологического состояния организма. Это обеспечивается за счёт того, что эритроциты взаимодействуют со всеми тканями и органами человеческого организма. Таким образом, патологические изменения в одном органе могут привести к изменению во всей системе крови: форма и количество эритроцитов, концентрация гемоглобина, изменение нормального соотношения в количественном составе форменных элементов крови. Подобные изменения приводят к нарушению функционального аспекта эритроцитов. Как следствие – состояние эритроцитов диагностирует степень изменения организма при патологических состояниях [49].

Точно определить возрастной состав красных клеток крови, который может свидетельствовать не только о степени повреждения самих эритроцитов, но выраженности патологических сдвигов в органах и системах органов, возможно с помощью метода химических эритрограмм.

Ключевой функциональной единицей в процессах адаптации и ответе на различные стрессоры является эндокринная система. Эта роль обеспечивается широким спектром возможных гормональных влияний на различные органы и системы. Одной из возможных сфер влияния эндокринной системы является эритропоэз. Доподлинно известно, что гормон щитовидной железы тироксин имеет прямую зависимость с этим физиологическим процессом [31].

Среди всех болезней эндокринной системы болезни щитовидной железы составляют 10%, при этом они имеют уверенную тенденцию к росту связанном с ухудшением экологической обстановки, демографическим сдвигом к старению человеческой популяции и с улучшением диагностики этих патологий. Наибольший процент среди болезней имеет диффузный токсический зоб (Базедова болезнь, болезнь Грейвса) [35].

Целью данной работы стало исследование показателей стресс-реакции у женщин больных диффузным токсическим зобом (ДТЗ) до и после менопаузы.

В соответствии с целью были поставлены следующие задачи:

- определить концентрацию общего тироксина методом иммуноферментного анализа женщин при ДТЗ до и после менопаузы;
- исследовать возрастной состав эритроцитов крови у женщин при ДТЗ до и после менопаузы;
- определить количество эритроцитов у женщин при ДТЗ до и после менопаузы
- определить концентрацию гемоглобина у женщин при ДТЗ до и после менопаузы;
- рассчитать цветной показатель крови у женщин при ДТЗ до и после менопаузы;
- оценить гематокритный показатель у женщин при ДТЗ до и после менопаузы;
- оценить корреляционную зависимость между исследуемыми показателями.

# 1 Обзор литературы

## 1.1 Стресс

Стресс – совокупность неспецифических адаптационных, то есть нормальных, реакций организма на воздействие различных неблагоприятных факторов-стрессоров как физических так и психологических, нарушающее его гомеостаз или равновесие в организме человека, а также соответствующее состояние нервной системы организма и организма в целом. В медицине, физиологии, психологии выделяют 2 формы стресса: положительную, или эустресс, и отрицательную, или дистресс. Эустресс – это и «стресс, вызванный положительными эмоциями» и «несильный стресс, мобилизующий организм». Дистресс известен как негативный тип стресса, с которым организм зачастую не в силах справиться. Он ухудшает здоровье человека и может привести к тяжелым заболеваниям. Имунная система также страдает от действия стресса на организм человека, что может подвергать организм различными инфекциями, так как продукция иммунных клеток заметно падает в период физического или психического стресса [58].

Стресс-реакция является адаптацией к чрезвычайным условиям существования организма. Ганс Селье выделил три основных положения в данной теории [46]:

1. Реакция организма на стресс не зависит ни от его природы, ни от вида живого организма, у которого она возникает. Синдром ответной реакции является многогранной моделью защитных реакций, нацеленных на защиту и сохранение целостности организма.

2. Общий адаптационный синдром – это три стадии, через которые проходит организм при непрекращающемся или повторяющемся действии стрессора.

3. Если защитная реакция будет сильной и долговременной, то она может перейти в «болезнь адаптации».

На данный момент известно 3 стадии стресс-реакции:

1. реакция тревоги;
2. стадия резистентности;
3. стадия истощения.

Первая стадия начинается спустя 6 часов и ее продолжительность достигает 24-48 часов. Она характеризуется уменьшением размеров тимуса, кровоизлияниями в слизистую ЖКТ, лейкоцитопенией и анэозинофилией крови человека. Изменения со стороны эндокринной системы характеризуются повышенной секрецией АКТГ гипофиза, который стимулирует выделение глюкокортикоидных гормонов коры надпочечников. Также имеет место угнетение секреции минералокортикоидов, функциональной активности щитовидной железы и половых желёз [14].

Спустя двое суток после воздействия экстремальных факторов развивается вторая стадия. Эта стадия характеризуется повышением резистентности организма, которую разделяют на 2 стадии:

1. перекрёстная резистентность – характеризуется повышением неспецифической устойчивостью, увеличением работоспособности, активизацией психических процессов;
2. перекрёстная сенсбилизация – повышение чувствительности организма к стрессору [29, 30].

В третью стадию происходит угнетение функциональности органов и их систем человека вследствие нарушения адаптационных механизмов организма.

Стресс вызывает в организме человека или животного целый каскад различных биохимических реакций, которые, в ответ на разнообразные формы стрессовой нагрузки на человеческий организм, вовлекают кортико-лимбико-гипоталамические системы. Ключевую роль играют афферентно-эфферентные связи между такими функциональными единицами организма как: гипоталамус, таламус, миндалевидный комплекс, гиппокамп и различные отделы коры больших полушарий мозга [22].

## **1.2. Гипоталамо-гипофизарная система**

Гипоталамо-гипофизарная система – это система, которая объединяет структуры гипофиза и гипоталамуса, выполняющие функции как нервной, так и эндокринной систем. Гипоталамо-гипофизарная система состоит из ножки гипофиза, начинающейся в вентромедиальной области гипоталамуса, и трёх долей гипофиза: аденогипофиз (передняя доля), нейрогипофиз (задняя доля) и вставочная доля гипофиза. Работа всех трёх долей управляется гипоталамусом с помощью нейросекреторных клеток. Эти клетки выделяют специальные гормоны так называемые рилизинг-гормоны. Рилизинг-гормоны попадают в гипофиз, а точнее в аденогипофиз через воротную вену гипофиза [56].

Гипофиз расположен внутри черепа в костной ямке турецкого седла, который защищает его от повреждения. Гипофиз – это сложный орган, состоящий из трех разных частей. Задняя доля гипофиза, или нейрогипофиз, образована окончаниями аксонов нервных клеток, тела которых находятся в гипоталамусе. Передняя доля гипофиза, или аденогипофиз, представляет скопление клеток, секретирующих гормоны. Передняя и задняя доли гипофиза разделены тонким слоем клеток, образующих промежуточную долю, которая иннервируется нервами, идущими из гипоталамуса. У низших позвоночных промежуточная доля имеет большее значение, чем у млекопитающих [45].

В гипоталамусе имеются две группы крупных клеток, образующих супраоптическое и паравентрикулярное ядра. Аксоны образующих супраоптическое и паравентрикулярное 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 или АДГ), которые синтезируются нейросекреторными клетками супраоптического и паравентрикулярного ядер гипоталамуса. Эти гормоны по нервным волокнам гипоталамо-гипофизарного тракта транспортируются в заднюю долю гипофиза, депонируются и выделяются в кровь [1].

Таблица 1 – Гормоны задней доли гипофиза

| Гормон               | Орган-мишень                                      | Действие   |
|----------------------|---|--|
| Вазопрессин, или АДГ | Почки   | Осморегуляция,<br>Стимулирует реабсорбцию воды из первичной мочи в почках<br>Одновременно повышает АД в крови. |
| Окситоцин            | Мышечный слой матки и миоэпителий молочной железы | Вызывает сокращения миоэпителиальных клеток, выстилающих молочную железу.<br>Вызывает сокращение матки         |

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 ЦНС, и его основные функции, а также активность регулируется нейrogормонами. Аденогипофиз состоит из трех типов клеток: ацидофильные клетки, базофильные клетки и нейтрофильные клетки. Функцией ацидофильных клеток является поглощение кислых красителей, базофильные клетки аденогипофиза являются основными красителями, а нейтрофильные клетки практически не прокрашиваются никакими красителями. Существуют гландотропные гормоны и эффекторные. К гландотропным относятся: Адrenокортикотропный гормон (АКТГ), Тиреотропный гормон (ТТГ), Фолликулостимулирующий гормон (ФСГ) и Лютеинизирующий гормон (ЛГ). Эндокринные железы являются органами-мишенями этих гормонов. Эти гормоны стимулируют активность желез. Эффекторные гормоны действуют не на отдельные железы, а на системы органов или даже на весь организм в целом. К ним относятся: гормон роста и пролактин [1, 40].

Таблица 2 – Гормоны аденогипофиза

| Гормон                              | Орган-мишень       | Действие  |
|-------------------------------------|--------------------|---|
| Адrenокортикотропный гормон (АКТГ)  | Кора надпочечников | Регуляция секреции гормонов коры надпочечников                        |
| Тиреотропный гормон (ТТГ)           | Щитовидная железа  | Активирует продукцию и секрецию тиреоидного гормона щитовидной железы |
| Фолликулостимулирующий гормон (ФСГ) | Гонады             | У женщин: стимуляция овогенеза, секреция эстрогенов                   |

|  |                         |  |
|--|-------------------------|--|
|  |                         | и овуляции.<br>У мужчин: стимуляция сперматогенеза, выделение половых гормонов.  |
| Лютеинизирующий гормон (ЛГ)                  | Гонады                  | У женщин: стимуляция овуляции, образование желтого тела, секреция половых гормонов.<br>У мужчин: стимулирует сперматогенез в семенниках. |
| Соматотропный гормон, или гормон роста (СТГ) | Все клетки тела         | Стимуляция роста костей.<br>Регуляция обменных процессов   |
| Пролактин                                    | Молочные железы, гонады | Стимуляция роста молочных желез и секреция молока  |

В нервных клетках гипоталамуса вырабатываются определенные вещества-носители химической информации, которые при активации клеток высвобождаются из терминалей аксонов. Терминали аксонов этих клеток находятся вблизи с воротной системой гипофиза, связывающей гипоталамус и гипофиз. По терминали осуществляется транспорт химических посредников в переднюю долю гипофиза. Различают релизинг-факторы (РФ) или релизинг-гормоны (РГ), главной функцией которых является вызывать высвобождение гипофизарного гормона, и ингибирующие факторы или ингибирующие гормоны (ИГ), которые угнетают секрецию гипофизарного гормона. По другой номенклатуре релизинг-гормоны называют либеринами, а ингибирующие фактор–статинами [1].

Таблица 3 – Либерины и статины

| Сокращенное название | Полное название                          | Действует на |
|----------------------|--|--------------|
| ТРГ                  | Тиреотропин-релизинг-гормон              | ТТГ          |
| ЛГ-РГ (ЛГ/ФСГ-РГ)    | Релизинг-гормон лютеинизирующего гормона | ЛГ и ФСГ     |
| КРГ                  | Кортикотропин-релизинг-гормон            | АКТГ         |
| ГР-РГ                | Релизинг-гормон гормона роста            | ГР           |
| ПРЛ-РГ               | Релизинг-гормон пролактина               | ПРЛ          |
| ГР-ИГ                | Ингибирующий гормон гормона роста        | ГР           |
| ПРЛ-ИГ (ПИФ)         | Ингибирующий гормон пролактина           | ПРЛ          |

### 1.3. Гормоны гипоталамо-гипофизарной системы

К гормонам гипоталамо-гипофизарной системы относятся тироксин, кортизол, эстрадиол и другие гормоны. Основными свойствами эстрадиола, или эстрогена являются модуляция чувствительности рецепторов к прогестинам и симпатической регуляции тонуса гладкой мускулатуры, стимуляция перехода внутрисосудистой жидкости в ткани, а также эстрадиол вызывает компенсаторную задержку Na и воды, которые при повышении концентрации не дают эндогенным катехоламинам деградировать. Многие органы (матка, влагалище, мочеиспускательный канал, молочные железы, печень, гипоталамус, гипофиз) являются мишенями для эстрогенов, которые



образуют комплекс со специфическими рецепторами в них. Комплекс рецептор-агонист контактирует с эстроген-эффекторными элементами генома и узконаправленными внутриклеточными белками, инициирующими синтез мРНК, белков и высвобождают цитокины и факторы роста. Эстрогены являются катализаторами для тироксина, железа и меди в крови. Также доподлинно известно, что эстрадиолы оказывают антиатеросклеротическое действие, повышают концентрацию ЛПВП, наоборот понижают концентрацию ЛПНП и холестерина, однако увеличивая при этом уровень триглицеридов. В качестве дополнительных функций эстрагенов стоит отметить ограничение или, при повышенных концентрациях, деградацию ими эндогенных катехоламинов, конкурируя при этом за активные рецепторы КОМТ [33].

Одним из известных показателей стресс-реакций является тироксин – который является основной формой тиреоидных гормонов щитовидной железы. Тироксин биологически малоактивен, в периферических тканях с помощью металлофермента селен-зависимой монодейдионазы преобразовывается в более активную форму трийодтиронин. При гипофункции тироксина щитовидной железы у взрослых людей развивается микседема. Недостаток тироксина, который возникает в раннем детстве или является врожденным, вызывает кретинизм, а при гиперфункции гормона тироксина развивается Базедова болезнь. Основными функциями тироксина являются:

1. влияние на обмен веществ,
2. контроль роста и развития организма человека;
3. активация окислительных процессов в клетках всего организма, в том числе и клетках мозга [68].

Кортизол, [(11 $\beta$ )-17,21-тригидроксипрегин-4-ен-3,20-дион], является гормоном коры надпочечников, а также относится к классу стероидов (производных холестерина), к группе эндогенных соединений, которые участвуют во многих биохимических процессах организма. Главными функциями гормона кортизола являются:

1. влияние на регуляцию обмена жиров, белков и углеводов;
2. препятствие развитию воспалительной реакции;
3. подавление синтеза антител;
4. торможение образования Т-лимфоцитов;
5. стимуляция эритропоэза.

Биологическим метаболитом кортизола является 6- $\beta$ -гидрокортизол, который образуется в печени под действием изоформы цитохрома P450 3A4 путем гидроксирования атома углерода в положении 6 [15].

#### **1.4. Эритроциты**

Эритроциты – это красные кровяные тельца в крови человека. Цитоплазма эритроцитов содержит большое количество гемоглобина –

пигментом красного цвета, который содержит атом железа, который, в свою очередь, способен связывать кислород и придает эритроцитам красный цвет. Эритроциты – это очень маленькие эластичные клетки дисковидной двояковогнутой формы. Размер и эластичность помогают им при движении по капиллярам, благодаря их форме повышается площадь поверхности, что облегчает газообмен. У эритроцитов отсутствует клеточное ядро и большинство оргanelл, что повышает содержание гемоглобина. Красные кровяные клетки циркулируют в крови около 100-120 дней и затем уничтожаются макрофагами. Приблизительно четверть всех клеток в теле человека занимают эритроциты. Интересно, что около 2,4 миллиона новых эритроцитов образуется в костном мозге человека каждую секунду. Главной функцией эритроцитов является перенос кислорода из лёгких к тканям тела и транспорт диоксида углерода ( $\text{CO}_2$ ) в обратном направлении. У млекопитающих зрелые эритроциты не имеют ядер, внутренних мембран и большинства оргanelл. В ходе эритропоэза ядра выбрасываются из клеток-предшественников. Обычно эритроциты млекопитающих имеют форму двояковогнутого диска и содержат в основном дыхательный пигмент гемоглобин. Однако у некоторых животных, например верблюдов, эритроциты имеют овальную форму [49].

Содержимое эритроцита представлено главным образом дыхательным пигментом гемоглобином, поэтому кровь имеет красный цвет. Однако на ранних стадиях количество гемоглобина в них мало, а на стадии эритробластов цвет клетки синий; потом клетка становится серой и, лишь полностью созревая, приобретает красную окраску [2].

При различных заболеваниях крови могут изменяться их главные параметры такие как изменение цвета эритроцитов, их размеров, количества, а также формы. Различают несколько форм эритроцитов: серповидную, овальную, сферическую или мишеневидную форму. Изменение формы эритроцитов называется пойкилоцитозом. Как известно сфероцитоз – это аномалия которая изменяет форму эритроцитов, при которой наблюдается некоторые формы наследственной анемии. Эллиптоциты, или эритроциты овальной формы, встречаются при мегалобластной и железодефицитной анемии, талассемиях и других заболеваниях. Акантоциты и эхиноциты (шпоровидные эритроциты) встречаются при поражениях печени, наследственных дефектах пируваткиназы. Мишеневидные эритроциты, или кодоциты – это клетки с бледной тонкой периферией и центральным утолщением, который содержит скопление гемоглобина. Эти виды эритроцитов встречаются при талассемиях и других гемоглобинопатиях, интоксикации свинцом и других патологиях. Эритроциты с серповидной формы – это признак такой патологии как серповидноклеточная анемия. В крови млекопитающих встречаются и другие формы эритроцитов. При изменении кислотно-щелочного баланса крови в сторону закисления (при pH от 7,43 до 7,33) происходит склеивание эритроцитов в виде монетных столбиков (агглютинация), либо их агрегация [21].

Резистентность – это свойство эритроцитов противостоять разрушительным воздействиям, например, осмотическим, механическим, тепловым, кислотным и другим воздействиям. В лабораторной практике наибольшее значение приобрело определение осмотической резистентности эритроцитов. Эритроциты в гипертонических солевых растворах сморщиваются, а в гипотонических наоборот набухают. При значительном набухании эритроцитов наступает гемолиз эритроцита [4].

В настоящее время известно большое количество электрофизиологических данных о различных формах вовлечения кортико-лимбико-гипоталамической системы в ответ на различные формы стрессовой нагрузки на организм человека. В литературе показано значение при стрессе афферентно-эфферентных связей гипоталамуса, таламуса, миндалевидного комплекса, гиппокампа и различных отделов коры больших полушарий головного мозга. В связи с этим интересный подход к раскрытию психофизиологических механизмов стресса был описан в работах [59]. Авторы рассматривают его с позиций активации одной, или более, из трех основных психосоматических "осей" стресса:

1. нервной – через прямую нейронную иннервацию концевых органов;
2. нейроэндокринной – через реакцию "битвы-бегства";
3. эндокринной (адренкортикальная, соматотропная и тиреоидная).

Активация нервной оси и воздействие ее через симпатический и парасимпатический отделы вегетативной нервной системы на главные органы при стрессе происходит моментально и при этом длится недолго. Что объясняется ограниченной способностью симпатических и парасимпатических нервных окончаний продолжать постоянный выброс медиаторов в условиях длительного сильного раздражения. Для поддержания стрессовой активации более длительное время используется вторая нейроэндокринная ось реакции "битвы-бегства". Центральным органом, участвующим в реакции "битвы-бегства", является мозговой слой надпочечников. Стимуляция этого главного органа в этой реакции приводит к выделению адреналина и норадреналина в систему кровообращения человека [59].

## **1.5 Анализируемые показатели эритроцитов**

### **Гемоглобин (Hb, hemoglobin)**

Гемоглобин – это пигмент крови, отвечающий за газообмен в организме (перенос кислорода и углекислоты), а также выполняющий буферные функции (поддержание pH). Содержится в красных кровяных тельцах (эритроцитах). Гемоглобин состоит из двух частей:

1. Белковая часть – белок глобин.
2. Железосодержащая часть – гем – белок, образованный четырьмя субъединицами и имеющий четвертичную структуру. Железо содержится в этом белке в двухвалентном состоянии.

### Физиологические формы гемоглобина:

1. оксигемоглобин – соединение гемоглобина с кислородом образуется, как правило, в артериальной крови и придает ей алый цвет (кислород связывается с атомом железа посредством координационной связи);

2. восстановленный гемоглобин (дезоксигемоглобин)– гемоглобин, отдавший кислород тканям;

3. карбоксигемоглобин – соединение гемоглобина с углекислым газом; образуется, как правило, в венозной крови, которая вследствие этого приобретает темно-вишневый цвет.

### Различают следующие патологические формы гемоглобина:

1. карбогемоглобин – образуется при отравлении угарным газом (СО), при этом гемоглобин теряет способность присоединять кислород;

2. метгемоглобин – образуется под действием нитритов, нитратов и некоторых лекарственных препаратов (происходит переход двухвалентного железа в трехвалентное с образованием метгемоглобина) [30].

Для определения всех форм гемоглобина без дифференцировки применяют цианметгемоглобиновый метод. Принцип этого метода заключается в том, что в процессе окисления двухвалентное железо в гемоглобине переходит в трёхвалентную форму метгемоглобина, а затем он переводится в стабильную форму цианметгемоглобина цианидом.

Концентрация гемоглобина у мужчин несколько превышает концентрацию у женщин. У новорождённых, в течение первого года, замечено физиологическое снижение концентрации гемоглобина. Анемия – снижение концентрации гемоглобина – может быть следствием особо крупных потерь крови при различных кровотечениях или при ненормальном гемолизе (разрушение эритроцитов). Также возможна нехватка железа, чьё наличие необходимо для синтеза гемоглобина, или витаминов, что принимают участие в синтезе эритроцитов (фолиевая кислота, В12); разнообразные нарушения процесса образования клеток крови при гематологических заболеваниях. Возможно вторичное развитие анемии при хронических соматических заболеваниях [56].

Таблица 4 – Референсные значения уровня гемоглобина

| Возраст            | Пол | Уровень гемоглобина, г/л |
|--------------------|-----|--------------------------|
| < 2 недель         |     | 134 - 198                |
| 2 - 4,3 недели     |     | 107 - 171                |
| 4,3 - 8,6 недель   |     | 94 - 130                 |
| 8,6 недель - 4 мес |     | 103 - 141                |
| 4 - 6 мес          |     | 111 - 141                |
| 6 - 9 мес          |     | 114 - 140                |
| 9 - 12 мес         |     | 113 - 141                |
| 1 - 5 лет          |     | 100 - 140                |
| 5 - 10 лет         |     | 115 - 145                |
| 10 - 12 лет        |     | 120 - 150                |

|             |         |           |
|-------------|---------|-----------|
| 12 - 15 лет | женщины | 115 - 150 |
|             | мужчины | 120 - 160 |
| 15 - 18 лет | женщины | 117 - 153 |
|             | мужчины | 117 - 166 |
| 18 - 45 лет | женщины | 117 - 155 |
|             | мужчины | 132 - 173 |
| 45 - 65 лет | женщины | 117 - 160 |
|             | мужчины | 131 - 172 |
| > 65 лет    | женщины | 117 - 161 |
|             | мужчины | 126 - 174 |

Возможны следующие причины повышение уровня гемоглобина:

- заболевания, сопровождающиеся увеличением количества эритроцитов (первичные и вторичные эритроцитозы);
- врожденные пороки сердца;
- легочно-сердечная недостаточность;
- физиологические причины (у жителей высокогорья, летчиков после высотных полетов, альпинистов, после повышенной физической нагрузки)
- сгущение крови.

Понижение уровня гемоглобина может быть следствием анемии различной этиологии (основной симптом)[16].

### **Гематокрит (Ht, hematocrit)**

Доля, которую составляют красные кровяные тельца (эритроциты) от общего объёма крови, называется гематокритом. Данный показатель отображает не общее число эритроцитов, а соотношение между ними и плазмой крови. Как пример можно привести то, что у пациентов вследствие определённых потерь крови общее число эритроцитов может значительно сокращаться, однако при шоковом состоянии гематокрит может оставаться в пределах нормы или даже повышаться. Из-за этого гематокрит противопоказано измерять для оценки степени анемии вскоре после гемотрансфузии или кровопотери. Также значения гематокритного показателя могут быть недостоверны, если взятие крови проводилось у лежащего пациента. Ложные результаты с повышенными значениями получается при длительном пережатии вены жгутом и после разведения крови (кровь бралась сразу же после внутривенных инъекций).

Таблица 5 – Референсные значения гематокритного показателя

| Возраст             | Пол | Показатель гематокрита, % |
|---------------------|-----|---------------------------|
| < 2 недель          |     | 41 - 65                   |
| 2 - 4,3 недели      |     | 33 - 55                   |
| 4,3 - 8,6 недель    |     | 28 - 42                   |
| 8, 6 недель - 4 мес |     | 32 - 44                   |

|             |         |         |
|-------------|---------|---------|
| 4 - 6 мес   |         | 31 - 41 |
| 6 - 9 мес   |         | 32 - 40 |
| 9 - 12 мес  |         | 33 - 41 |
| 1 - 3 года  |         | 32 - 40 |
| 3 - 6 лет   |         | 32 - 42 |
| 6 - 9 лет   |         | 33 - 41 |
| 9 - 12 лет  |         | 34 - 43 |
| 12 - 15 лет | женщины | 34 - 44 |
|             | мужчины | 35 - 45 |
| 15 - 18 лет | женщины | 34 - 44 |
|             | мужчины | 37 - 48 |
| 18 - 45 лет | женщины | 35 - 45 |
|             | мужчины | 39 - 49 |
| 45 - 65 лет | женщины | 35 - 47 |
|             | мужчины | 39 - 50 |
| > 65 лет    | женщины | 35 - 47 |
|             | мужчины | 37 - 51 |

Повышение гематокрита может быть связано с:

- эритремия;
- гемоконцентрация при ожоговой болезни, перитоните, дегидратации организма (при выраженной диарее, неукротимой рвоте, повышенной потливости, диабете)
- симптоматические эритроцитозы (врожденные пороки сердца, дыхательная недостаточность, гемоглобинопатии, новообразования почек, сопровождающиеся усиленным образованием эритропоэтина, поликистоз почек).

Причинами понижения гематокрита являются:

- вторая половина беременности;
- гипергидратация;
- анемия [25].

### **Цветной показатель крови (ЦП)**

Цветовой (цветной) показатель крови – параметр, отображающий по отношению к нормальному относительное содержание гемоглобина в эритроцитах. В норме этот параметр колеблется от 27 до 33,3 пикограмм (пг), а значение 33,0 пг условно принято за единицу и названа ЦП. Его нормальные значения включают в себя числа от 0,85 до 1,05 соответственно [11].

ЦП крови имеет ключевое значение при определении (дифференциальной диагностики) анемий различной этиологии. По данному показателю все анемии можно классифицировать по трём группам:

1. гипохромные – цветной показатель ниже 0,85;

2. нормохромные – цветной показатель находится в пределах нормы;
3. гиперхромные – значения цветного показателя выше 1,05.

Также существует показатель МСН (среднее содержание гемоглобина в эритроците), который принят во всём мире и которому прямо пропорционален ЦП.

Причинами повышения ЦП могут быть:

1. мегалобластные анемии – дефицит витамина В12 и фолиевой кислоты;
2. ложное повышение вследствие множественной миеломы или гиперлейкоцитоза;
3. заболевания печени;
4. полицитемия.

Факторами понижения ЦП могут служить:

1. талассемия;
2. анемии при беременности;
3. анемия при отравлении свинцом;
4. железодефицитная анемия [34].

## 1.6 Влияние гормонов на проницаемость клеточной мембраны

Имеется 3 пути воздействия гормонов на организм:

1. влияние на скорость синтеза ферментов и других белков;
2. регуляция скорости катализа ферментов;
3. изменение проницаемости клеточных мембран [10].

Проницаемость клеточной мембраны играет ключевую роль при исследованиях ростовых процессов и обмена, и который нельзя игнорировать [26].

У млекопитающих гормоны распространяются с током крови или по лимфатической системе. Одни гормоны влияют на проницаемость клеточных мембран и контролируют обмен веществ в организме, тогда как другие изменяют ферментативную кинетику или контролируют синтез белков [21].

Катехоламины (адреналин, норадреналин) повышают проницаемость клеточных мембран для ионов  $Ca^{2+}$ , способствуя, с одной стороны, усилению поступления их из межклеточного пространства в клетку, а с другой - мобилизации ионов  $Ca^{2+}$  из внутриклеточных депо. Под действием ацетилхолина, норадреналина, которые выделяются нервными окончаниями, в мышечных волокнах происходит перераспределение ионов калия, натрия и кальция в результате изменений поверхностных свойств и *проницаемости клеточных мембран*. Также известно, что адреналин, благодаря своему воздействию на гладкомышечные клетки, может раскрывать или закрывать находящиеся в них калиевые, натриевые или и те и другие каналы, влияя таким образом на мембранный потенциал клеток, что приводит к

закономерному результату – стимуляции расслабления или сокращения мышечных волокон [20, 24].

Инсулин оказывает многостороннее действие на обмен веществ: влияет на проницаемость клеточных мембран и утилизацию глюкозы в жировой и мышечной ткани, усиливает синтез жира и гликогена из глюкозы, замедляет окисление высших жирных кислот и тормозит глюконеогенез из аминокислот. Общим эффектом действия инсулина является понижение глюкозы в крови [3].

Более внимательно рассмотрим влияние инсулина на клеточную мембрану.

Под влиянием инсулина возрастает проницаемость клеточной мембраны и для аминокислот, из которых в клетках синтезируются белки. Инсулин стимулирует синтез иРНК и этим также способствует синтезу белков [27].

Усиление поглощения глюкозы клетками организма обуславливается тем, что благодаря связке гормона инсулина с рецепторами мембраны повышается её проницаемость для глюкозы.

Как известно, клеточная мембрана построена из белков и липидов, таким образом, можно предположить, что инсулин, который сам является белком, каким-то образом меняет расположение боковых групп аминокислот мембранных белков и открывает тем самым каналы для глюкозы, а возможно и для других веществ.

Предположим, что данная теория нас устраивает. Тогда можно развить эту мысль и допустить, что другие гормоны белковой природы – так как все они имеют свою характерную последовательность аминокислот, - также имеют возможность влиять на проницаемость клеточной мембраны. Аналогичным действием обладают и стероидные гормоны. Они имеют в своей основе липиды, что даёт им возможность влиять на липиды мембраны клетки открывая или закрывая путь для других веществ из или во внутрь клетки. Таким образом, их выборочность в обмене веществами между клеткой и внеклеточным пространством оказывает колоссальное влияние на внутриклеточные процессы. Контроль гормонами над всем метаболизмом, протекающим в клетке, возможен благодаря помощи одним веществам попасть в клетку, или наоборот препятствуя другим попасть в неё. Они могут поспособствовать появлению в клетке избытка субстрата для одного фермента и, наоборот, лишить материала для работы другой фермент. Имеет смысл предположить, что от одного единственного гормона может зависеть попадание или препятствие проникновению тех или иных веществ. Таким образом, можно сказать, что наличие или отсутствие этого гормона способно глубоко изменить ход метаболических процессов, протекающих в клетке, что, по сути, и происходит в случае инсулина [2].

### **1.7 Диффузный токсический зоб (болезнь Базедова)**



Диффузный токсический зоб (ДТЗ; болезнь Грейвса, Базедова болезнь, гипертиреоз, болезнь Перри, болезнь Флаяни) – одно из самых распространенных заболеваний щитовидной железы и наиболее клинически значимая тиреоидная патология, встречается у 0,5–1,5 % населения, чаще всего у женщин от 20 до 50 лет. Установлено, что в регионах йодного дефицита распространенность ДТЗ выше по сравнению с йодонасыщенными регионами. Следует отметить, что в настоящее время наблюдается рост заболеваемости и увеличение частоты встречаемости тяжелых форм патологии.

Данная патология имеет аутоиммунный характер и характеризуется избыточной секрецией тиреоидных гормонов (Т4 и Т3), диффузным увеличением щитовидной железы, что приводит к сбою функций разных органов и их систем.

В настоящее время различают 3 степени тяжести у данного заболевания:

1) легкая – нервная возбудимость, похудание на 10— 15% от первоначальной массы тела; тахикардия до 100 ударов в 1 мин, основной обмен увеличен (до +30%), снижена трудоспособность;

2) средняя – больше выражена нервная возбудимость, похудание более чем на 20%; тахикардия 100—120 ударов в 1 мин, основной обмен от +30 до +60%, значительно снижена трудоспособность;

3) тяжелая – резко выражена нервная возбудимость, похудание на 30— 50%, тахикардия больше 120 ударов в 1 мин, мерцательная аритмия, основной обмен больше +60%, токсическое поражение печени, недостаточность кровообращения, полная утрата трудоспособности.

В качестве катализатора развития этой болезни можно считать различные психические нарушения, респираторные инфекции, обострение хронического тонзиллита, ревматизм, перегревание на солнце и другие. Все эти воздействия могут активизировать деятельность щитовидной железы, что, как следствие, повышает риск развития диффузного токсического зоба. Соответствующую роль в возникновении болезни занимает изменение функциональной активности других желез внутренней секреции, например гипофиза.

Известно, что фундаментальным фактором развития болезни является наследственность, так как диффузный токсический зоб передается многофакторным (полигенным) путём.

Диффузный токсический зоб имеет тенденцию к развитию у нескольких членов одной семьи, преимущественно у женщин. Этому способствует то, что в наследственной информации имеется особый ген рецессивного характера, проявляющий себя чаще у женщин, чем у мужчин. Генетическим маркером являются носители антигенов системы HLA – В8, DR3, DR<sub>4</sub>, инсулинозависимый сахарный диабет, гипопаратиреоз и др.

Развитие ДТЗ происходит на фоне стрессовой ситуации, результатом которой служит нарушение функционального баланса между Т-

супрессорами Т-хелперами, а также фиксируется появление неправильных клонов Т-лимфоцитов, направленных против рецепторного антигена фолликулярного эпителия. Как результат – образуются тиреостимулирующие иммуноглобулины (аутоантитела), которые, в связи с рецепторами фолликулярного эпителия, активизируют биосинтез тиреоидных гормонов. Ненормальная чувствительность бета-адренорецепторов к катехоламинам при избыточной концентрации тиреоидных гормонов вместе с превышающими норму концентрациями трийодтиронина (Т3) и тироксина (Т4), поступающими в кровь, вызывают клиническую картину токсического зоба [28].

Есть основные признаки, по которым определяется данное заболевание:

- увеличение щитовидной железы – зоб;
- повышенная возбудимость;
- пучеглазие;
- раздражительность;
- тахикардия;
- плаксивость.

ДТЗ может развиваться как острым воспалительным процессом, так и с постепенным нарастанием симптомов.

Заболевание может возникнуть остро, или его симптомы нарастают постепенно. Обычно острая форма отмечается после тяжелых психических и физических травм, инфекций и др. Больные жалуются на мышечную слабость, быструю утомляемость, плаксивость, раздражительность, чувство сдавления в области шеи, увеличенную потливость, плохую переносимость тепла, дрожание конечностей, сердцебиение, которое усиливается при физической нагрузке или волнении, нарушение сна (бессонница, неглубокий прерывистый сон); субфебрильную температуру, значительное и быстрое похудание, снижение работоспособности, у женщин наблюдается нарушение менструального цикла.

Поражение глаз (офтальмопатия) встречается у 10-80% больных.

Как правило, имеет место диффузное увеличение щитовидной железы – как всей, так и только одной доли. Чрезмерное увеличение щитовидной железы давит на трахею, вызывая у больного стридорозное дыхание. Кожные покровы становятся влажными, мягкими, гиперемированными и эластичными. Слой подкожного жира истончен, а при тяжелой форме заболевания возможно его полное исчезновение сопровождающее резкое похудание.

Тахикардия выражает изменения со стороны сердечно-сосудистой системы. Она является постоянной (в течение дня не изменяется) и ЧСС колеблется в пределах 100-120 ударов в минуту. Если заболевание имеет затяжной характер и оказываемого лечения недостаточно, то имеет место быть сначала пароксизмальная, а затем и постоянная мерцательная аритмия.

Большая пульсовая амплитуда характеризует артериальное давление. Это приводит к видимой пульсации артерий в области шеи. Расширяются границы сердца, выслушивается хлопающий I тон и систолический шум в верхушке и в основании сердца в следствие увеличения скорости кровотока и слабого тонуса капилляров при аускультации. В тяжелых случаях заболевания может развиваться сердечная недостаточность: происходит увеличение печени, появляются отеки на ногах и других частях тела.

Чтобы охарактеризовать данные повреждения сердечно-сосудистой системы был введен термин «тимотоксическое сердце». Данный синдром появляется при отравляющем, токсическом воздействии тиреоидных гормонов на гладкие сердечные мышцы и метаболизм миокарда. Характеризуется постепенным развитием дистрофии, гипертрофии миокарда, кардиосклероза и недостаточности кровообращения.

Со стороны желудочно-кишечного тракта сбои проявляются учащением стула из-за чрезмерно активной перистальтики кишечника, а также рвотой, нарушением аппетита, тошнотой и поражениями печени при тяжелой форме заболевания. Одним из последствий может быть развитие жировой дистрофии печени как результат токсичного влияния тиреоидных гормонов.

После лабораторных исследований периферической крови могут быть выявлены следующие отклонения:

- гипохромная анемия;
- повышение СОЭ;
- лимфоцитоз;
- лейкопения.

После биохимического анализа:

- повышение сахара в крови (в некоторых случаях);
- гипоальбунемия;
- гипохолестеринемия[16].

Диагностика основана на следующих характерных клинических признаках: повышенная возбудимость, потоотделение, тревожность, повышенное похудание, несмотря на хороший аппетит, мышечная слабость, учащенное сердцебиение, повышение артериального давления, непереносимость жары, гиперплазия щитовидной железы, экзофтальм и другие симптомы со стороны глаз, дрожание век и всего тела.

Выявляется пониженный уровень холестерина и повышается поглощение радиоактивного йода – спустя сутки замечается рост до 80-100% (норма составляет 30-40%). Ключевое значение в диагностике патологии имеет исследование функции щитовидной железы с  $mI$ . Отмечается ускоренное и увеличенное поглощение его щитовидной железой, повышение содержания йода, связанного с белками крови. Радиодиагностика определяет высокие цифры поглощения  $I^{131}$ , которые, как правило, выше 40-30% через 24 ч (норма до 30%). Кроме того, о гормональной активности щитовидной железы свидетельствует уровень ее гормонов: Т3, Т4 и ТТГ.

При ДТЗ уровень следующих гормонов в сыворотке крови составляет:

- Т4 – больше 140 нмоль/л;
- Т3 – больше 2,0 нмоль/л;
- ТТГ – в норме или снижен.

Подтверждение ДТЗ происходит в исследовании пробы сыворотки на Т3. В норме суточная доза Т3 в размере 75-100 мкг в течение недели приводит к снижению содержания радиоактивного йода ЩЖ на 50 или более процентов. Биосинтез тиреоидных гормонов при диффузном токсическом зобе увеличивается из-за тиреоидостимулирующих антител, а не тиреотропного гормона.

Для диагностирования также используют пробу с тиролиберинем. При отсутствии патологии при введении 200 или 500 мкг через 15-30 мин ингибирование ТТГ возрастает в 2-5 раз по сравнению с начальными показателями.

После введения тиролиберина при ДТЗ концентрация ТТГ в сыворотке крови не имеет тенденции к повышению. Локализовать активность различных отделов щитовидной железы и её местоположение позволяет сканирование радиоактивным йодом. Также широко используется метод ультразвуковой диагностики для определения структуры и размеров ЩЖ. При использовании ультразвуковой и компьютерной томографии можно определить, в каком состоянии находятся мышцы орбиты, ретроорбитальные ткани и каков уровень компрессии зрительного нерва и сосудистого пучка [6].

## **2 Материалы и методы**

### **2.1 Объект исследования**

Было проведено исследование крови, взятой из локтевой вены натощак у пациентов. Объект исследования – цельная кровь с патологией диффузный токсический зоб и выделенная из неё сыворотка.

Была исследована 31 проба, полученная от женщин, больных диффузным токсическим зобом, в возрасте от 24 до 76 лет.

Для обработки результатов исследования, все пробы были разделены на две группы: до ( $n = 19$ , возраст от 24 до 48 лет) и после ( $n = 12$ , возраст от 49 до 76 лет) менопаузы. Возрастной границей служил возраст 49 лет – усреднённое значение, при котором у женщин начинается менопауза.

### **2.2 Методы исследования**

В ходе данной работы были использованы следующие методы:

- иммуноферментный анализ для определения концентрации общего тироксина в сыворотке крови;
- метод химических (кислотных) эритрограмм для определения возрастного состава эритроцитов;
- электрокалориметрический метод для подсчёта количества эритроцитов крови;
- гемоглобинцианидный метод для определения содержания уровня гемоглобина в крови;
- расчёт среднего содержания гемоглобина в одном эритроците и цветного показателя крови;
- определение гематокритного числа методом центриугирования.

### **2.3 Определение содержания общего тироксина в образцах сыворотки крови методом иммуноферментного анализа**

#### **Проведение анализа.**

1. Стандартные калибровочные пробы и контрольную сыворотку вносить по 25 мкл в двух повторах. В остальные лунки в двух повторах внести по 25 мкл исследуемых образцов сывороток крови.

2. Во все лунки планшета, кроме лунок с контролем ТМБ-Субстратного раствора, внести по 200 мкл смешанного реагента (конъюгат-8-АНС), стрипы планшета закрыть крышкой или защитной плёнкой.

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

4. По истечении указанного времени содержимое лунок удалить с помощью многоканальной пипетки в ёмкость для сбора инфицированного

материала, иммуносорбент промыть 5 раз рабочим ПР, заливая его до краёв лунок (не менее 300 мкл в лунку) и удаляя промывочный раствор с помощью многоканальной пипетки в ёмкость для сбора инфицированного материала. По окончании промывки тщательно удалить остатки жидкости из лунок постукиванием рамки со стрипами в перевёрнутом положении по фильтровальной бумаге. Не допускать остатка жидкости в лунках планшета.

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

6. Реакцию остановить добавлением во все лунки планшета по 150 мкл стоп-реагента, встряхнуть стрипы на шейкере в течении 5-10 секунд и провести учёт результатов. Время между остановкой реакции и измерением ОП не должно превышать 20 мин.

#### **Регистрация результатов:**

Регистрацию результатов проводить спектрофотометрически при длине волны 450 нм с настройкой прибора «по воздуху».

#### **Учёт результатов:**

Необходимо построить калибровочный график по средним величинам ОП «Калибратора 0», «Калибратора 1», «Калибратора 2», «Калибратора 3», «Калибратора 4», «Калибратора 5». На бланке построения калибровочной кривой: по оси абсцисс X откладывают соответствующие значения концентрации общего Т4, выраженной нмоль/л; по оси ординат Y откладывают средние значения ОП стандартных калибровочных проб. По полученным точкам строят плавную калибровочную кривую.

Контрольная сыворотка служит для проверки точности и достоверности результатов. Полученные величины концентраций общего Т4 в образцах считать достоверными, если вычисленное по калибровочному графику значение концентрации общего Т4 в контрольном образце попадает в пределы, указанные на этикетке флакона.

## **2.4 Определение возрастного состава эритроцитов**

Определение возрастного состава эритроцитов осуществлялось по методу Терскова-Гительсона [9].

Принцип метода кислотных эритрограмм заключается в определении убыли эритроцитов в результате гемолиза через определенные промежутки времени до полного окончания убыли.

Заранее готовят раствор хлорида натрия 0,85–0,9%. Стандартный раствор гемолитика изготавливают из фиксанала соляной кислоты хлорида натрия.

Измерение кинетики гемолиза производится на установке, основой которой является фотоэлектрический колориметр. Для этого в левую кювету наливают изотонический раствор и устанавливают прибор в нулевое положение; готовят стандартную взвесь эритроцитов. Для этого левый

барабан прибора выводят 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, вводят пипеткой взвесь эритроцитов до тех пор, пока они своим рассеянием не уравнивают световые потоки, и стрелка гальванометра не вернется к нулю.

Из кюветы, содержащей теперь стандартную концентрацию эритроцитов, специальной пипеткой отбирают 2 мл взвеси, излишек удаляют водоструйным насосом, 2 мл возвращают 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 (0,04N 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 осуществляется поворотом барабана, связанного с диафрагмой. Угол поворота, необходимый для восстановления нулевого положения стрелки гальванометра, отсчитывается по шкале оптической плотности и является мерой степени гемолиза. Падение оптической плотности в этих условиях линейно связано с числом распадающихся эритроцитов.

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

В результате опыта получается ряд значений оптической плотности, соответствующих распределению эритроцитов по стойкости, причем число групп эритроцитов, которые удастся выделить, определяется числом сделанных отсчетов. Отсчеты ведутся до тех пор, пока не будет получаться 2-3 совпадающих показания, что служит признаком конца гемолиза. [11]

Все эритрограммы подвергаются единообразному первичному расчету, где в первой и второй графах таблицы указаны время гемолиза (в минутах) и полученные в отсчетах соответствующие значения экстинции, в таблице 1 представлены данные эритрограмм с кровью здорового человека, в таблице 2 представлена разность экстинции. В третьей графе даны разности экстинции ( $\Delta E$ ) между соседними отсчетами, то есть количественно выражают особую группу эритроцитов, стойкость которой определяется временем, прошедшим от начала гемолиза до этого отсчета. Разница между экстинцией по окончании гемолиза принимается за 100 и в четвертой графе таблицы вычисляется процент  $\Delta E$ , отражающий процент эритроцитов данной стойкости (%Э). Этим достигается независимость результатов от индивидуальных колебаний числа эритроцитов и количества гемоглобина.

Таблица 6 – Результаты эритрограмм здоровых людей

| № | Начало<br>гемолиза, мин | Пик<br>гемолиза, мин | Окончан<br>ие гемолиза,<br>мин |
|---|-------------------------|----------------------|--------------------------------|
|   | 1,5                     | 3                    | 7                              |
|   | 1,5                     | 3,5                  | 7                              |
|   | 1,5                     | 3                    | 7,5                            |
|   | 1,5                     | 3,5                  | 7,5                            |

Таблица 7 – Данные опытов с кровью здорового человека

| Время гемолиза, Т | Экстинция, Е | Разность<br>экстинции, ΔЕ | Распад эритроцитов,<br>% |
|-------------------|--------------|---------------------------|--------------------------|
| 0,5               | 0,45         | 0                         | 0                        |
| 1                 | 0,45         | 0                         | 0                        |
| 1,5               | 0,45         | 0                         | 0                        |
| 2                 | 0,45         | 0,01                      | 2,98                     |
| 2,5               | 0,43         | 0,04                      | 9,96                     |
| 3                 | 0,39         | 0,08                      | 18,28                    |
| 3,5               | 0,31         | 0,08                      | 18,98                    |
| 4                 | 0,23         | 0,07                      | 15,58                    |
| 4,5               | 0,16         | 0,04                      | 10,7                     |
| 5                 | 0,12         | 0,03                      | 7,75                     |
| 5,5               | 0,08         | 0,02                      | 6,16                     |
| 6                 | 0,06         | 0,01                      | 3,8                      |
| 6,5               | 0,04         | 0,01                      | 3,07                     |
| 7                 | 0,03         | 0,006                     | 1,5                      |
| 7,5               | 0,02         | 0                         | 0                        |
| 8                 | 0,02         |                           |                          |

Гемолиз нормальной крови человека длится в этих условиях 6,5 – 7,5 минуты, что позволяет различать в ней 13 – 14 групп эритроцитов. Процентное распределение эритроцитов по стойкости удобно изображать графической кривой зависимости процентов стойкости эритроцитов от времени гемолиза, эта кривая называется эритрограммой. На рисунке 2 приводится эритрограмма распределения эритроцитов по стойкости здорового человека. В таблице 8 представлены группы стойкости эритроцитов.



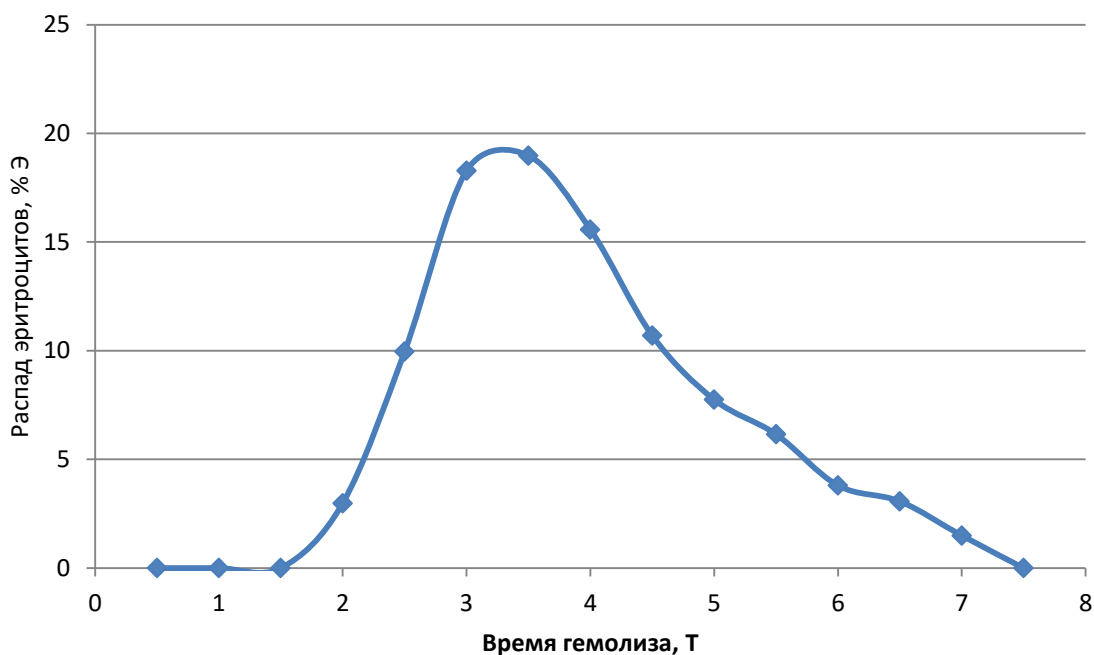


Рисунок 1 – Кривая распределения эритроцитов по стойкости

Таблица 8 – Группы стойкости эритроцитов у здоровых людей

| Группа           | Стойкость эритроцитов, мин | Возраст эритроцитов, дни | Количество эритроцитов, % |
|------------------|----------------------------|--------------------------|---------------------------|
| Повышенностойкие | 7-5                        | 28-30                    | 20-25                     |
| Среднестойкие    | 4,5-3,5                    | 30-90                    | 45-55                     |
| Пониженностойкие | 3-1,5                      | Более 90                 | 20-25                     |

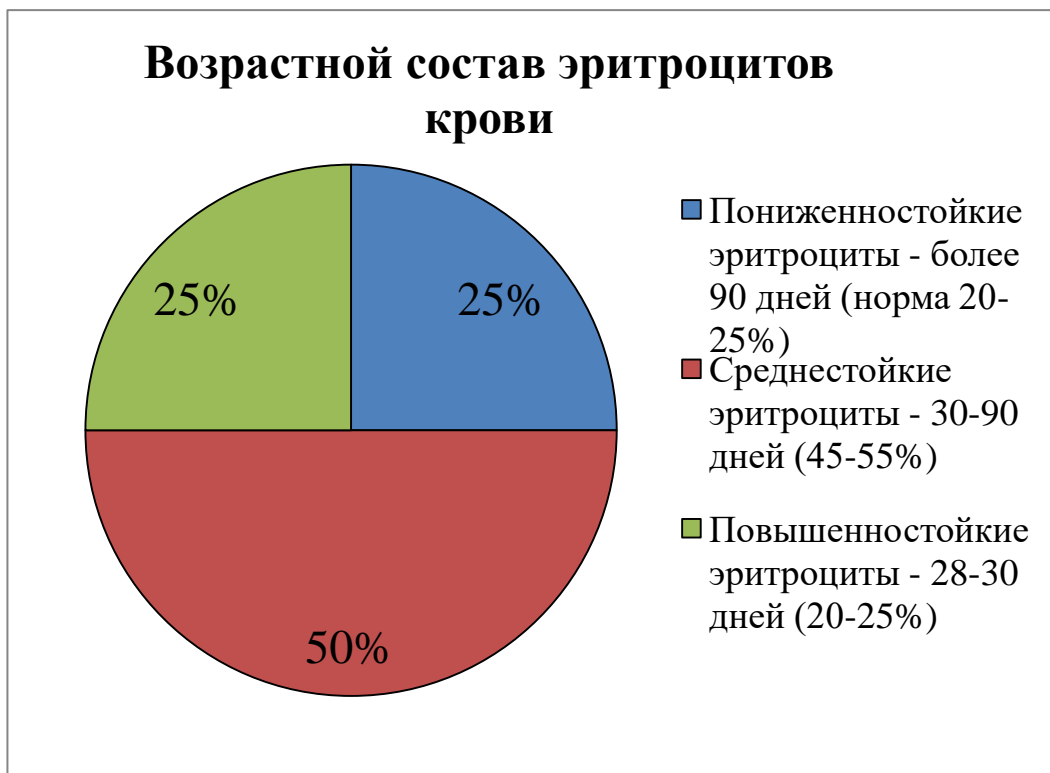


Рисунок 3 – Возрастной состав эритроцитов крови в норме у здорового человека.

Кривая распределения эритроцитов по стойкости позволяет определить состояние эритроцитов при данном анамнезе человека. Максимум при соблюдении указанных выше условий гемолиза приходится на 3,5 мин, начало гемолиза на 1,5-2 мин, конец гемолиза – на 7-7,5 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 [13].

При нарушениях равновесия в системе крови возникают отклонения от нормы и распределения эритроцитов по стойкости.

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием программ MicrosoftExcel и Statistica 8.

## **2.5 Подсчет количества эритроцитов электрокалориметрическим способом**

Пипеткой отмерьте 8 мл разводящего раствора (3,5% раствор NaCl), перенесите в сухую пробирку. Далее добавьте 1 капилляр Сали крови, что составляет 20 мкл.

Затем произведите измерение оптической плотности на ФЭКе при красном светофильтре в кювете толщиной 10мм. Предварительно нужно выставить ноль по разводящему раствору. Показания снимайте по левой красной шкале.

Полученный результат оптической плотности нужно умножить на  $10^7$ , в результате получается количество эритроцитов в 1 мкл ( $\text{мм}^3$ ) крови.

## **2.6 Определение содержания гемоглобина**

Для определения гемоглобина используется гемоглобинцианидный метод. Принцип метода состоит в том, что к крови добавляется специальный трансформирующий раствор, содержащий сильный окислитель (цианид), при взаимодействии с которым эритроциты разрушаются, гемоглобин выходит в раствор и образует окрашенное соединение гемоглобинцианид. Интенсивность окраски пропорциональна количеству гемоглобина и фиксируется на ФЭКе или спектрофотометре.

В пробирку пипеткой перенесите 5 мл трансформирующего раствора. Заберите из пальца кровь капилляром Сали до метки 0,02 и выпустите в трансформирующий раствор. Раствор крови в трансформирующем растворе аккуратно, но тщательно перемешайте и оставьте на 10-15 мин при комнатной для полного развития окраски (раствор остается стабильным в течение более 24 ч). Таким же образом подготовьте пробу со стандартным

раствором гемоглобина: 5 мл трансформирующего раствора и один капилляр стандартного раствора гемоглобина (120 г/л).

Далее производят измерение оптической плотности на ФЭЖе опытной и стандартной проб при длине волны 520-560нм (зеленый светофильтр) в кювете толщиной 10мм. Предварительно выставляется ноль по трансформирующему раствору.

При использовании спектрофотометра определение оптической плотности проводят при длине волны 540 нм в кювете толщиной 10мм. Содержание гемоглобина рассчитывают по формуле:

$$Hb \text{ (г/л)} = D \times 367,7$$

где: D – оптическая плотность раствора.

Нормальное содержание гемоглобина в крови (нормохромемия) человека - 120-140 г/л для женщин и 130-150 г/л для мужчин. Повышение содержания гемоглобина носит название - гиперхромемия, снижение - олигохромемия. Снижение содержания гемоглобина обычно наблюдается при эритропении, а повышение - при эритроцитозе. Содержание гемоглобина после рождения составляет 210 г/л (180 - 240 г/л). Дальнейшая динамика этого показателя соответствует количественному изменению эритроцитов.

## **2.7 Расчёт среднего содержания гемоглобина в одном эритроците и цветного показателя крови**

Расчётные показатели среднего содержания гемоглобина в одном эритроците и цветного показателя крови – индексы красной крови используются для выводов о насыщенности эритроцитов гемоглобином.

Расчёт среднего содержания гемоглобина в одном эритроците производится делением количества гемоглобина (г/л) на число эритроцитов (кл/л).

В норме содержание гемоглобина в одном эритроците колеблется между 27 и 33,3 пг (пг =  $10^{-12}$  г).

Число 33 пг в одном эритроците принято за цветной показатель равный 1. Расчёт цветного показателя (ЦП) крови производится из соотношения гемоглобина в норме и гемоглобина испытуемого и содержания эритроцитов в норме и эритроцитов испытуемого.

$$\frac{\text{Число эритроцитов в норме (кл/л)} / \text{Число эритроцитов испытуемого (кл/л)}}{\text{Содержание Hb в норме (г/л)} / \text{Содержание Hb испытуемого (г/л)}}$$

В норме ЦП колеблется от 0,86 до 1,1 (нормохромия). В случае если ЦП ниже 0,86, делается вывод о гипохромии, а если ЦП выше 1,1, то о гиперхромии.

## **2.8 Определение гематокрита**

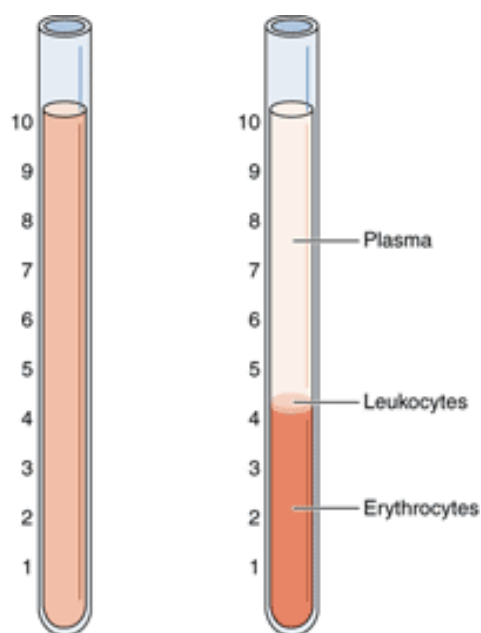


Рисунок 4 – Гематокритный капилляр

Для определения гематокрита произведите забор крови из пальца в специальный капилляр для гематокрита. Капилляр обязательно обработайте антикоагулянтом – гепарином или раствором цитрата натрия. Капилляр заполните на  $\frac{7}{8}$  его длины (при заполнении капилляра в него не должны попадать пузырьки воздуха), закупорьте специальной замазкой с того конца, где брали кровь. Поместите капилляр с кровью в ротор центрифуги таким образом, чтобы закупоренные концы были направлены кнаружи от оси вращения и упирались в резиновую прокладку, центрифугируйте в течении 5 минут. Определите гематокрит по специальной шкале или с помощью линейки. В последнем случае измерьте высоту столбика эритроцитов ( $V_э$ ) и высоту столбика плазмы ( $V_п$ ). Рассчитайте гематокрит (как процент форменных элементов от всего объёма крови) по формуле:

$$\Gamma = \frac{V_э}{V_э + V_п} * 100\%$$

Нормальные показатели для мужчин находятся в пределах 38-50%, для женщин – 35-47%. Такое состояние носит название нормоцитемии. Если относительный объём форменных элементов составляет меньше минимального значения, то это носит название олигоцитемии, а если выше верхней границы, то полицитемии.

Увеличение гематокрита наблюдается при эритроцитозе, уменьшение – при эритропении или микроцитозе (уменьшение размеров эритроцитов) на фоне неизменной концентрации эритроцитов. Теоретически гематокрит должен увеличиваться при макроцитозе (увеличение размеров эритроцитов), но последний наблюдается только на фоне выраженной эритропении.

Динамика этого показателя соответствует изменениям количества эритроцитов в периферической крови.

### **3 Результаты и их обсуждения**

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

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АД – артериальное давление  
АДГ – антидиуретический гормон  
АКТГ – адренкортикотропный гормон  
ДТЗ – диффузный токсический зоб  
ЖКТ – желудочно-кишечный тракт  
ИГ – ингибирующие гормоны  
КОМТ – катехол-0-метилтрансфераза  
ЛГ – лютеинизирующий гормон  
ЛПВП – липопротеины высокой плотности  
ЛПНЛ – липопротеины низкой плотности  
РГ – рилизинг гормон  
РФ – рилизинг фактор  
СОЭ – скорость оседания эритроцитов  
Т3 – трийодтиронин  
Т4 – тироксин  
ТТГ – тиреотропный гормон  
ФСГ – фолликулостимулирующий гормон  
ФЭК – фотоэлектрокалориметр  
ЦНС – центральная нервная система  
ЦП – цветной показатель  
ЩЖ – щитовидная железа

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Агаева, А. Клинико-функциональные признаки мерцательной аритмии при диффузно-токсическом зобе / А. Агаева, Р. Агаев, Л. Сафарова, С. Юсифов // Онкология XXI век: сб. науч. тр.– Светлогорск, 2015. – С. 25–30.
2. Алешин, Б.В. Гистофизиология гипоталамо-гипофизарной системы / Б.В. Алешин. – Москва, 1971. - С. 72-86.
3. Апчел, В. Я. Стресс и стрессоустойчивость человека / В. Я. Апчел, В. Н. Цыган. – СПб. : ВМА, 1999. – 86 с.
4. Афансьев, Ю.И. Шубикова, Е.А. Гистология, Цитология, и эмбриология / Ю.И Афанасьев, Е. А. Шубикова. – пятое переработанное и дополненное. – Москва: «Медицина», 2002. – 744 с.
5. Барабаш-Никифоров, И.И. Формозов, А.Н. Териология / И.И. Барабаш-Никифоров, А.Н. Формозов. – Москва: Высшая школа, 1963. – 396 с.
6. Батвитенко, Н.Н., Хама-Мудар, А.Л. Изменения биохимических показателей крови крыс линии Wistar и WKY при функциональной нагрузке (бег на тредмиле) / Н.Н. Батвитенко, А.Л. Хама - Мудар // III Всероссийская конференция с межд. участием «Механизмы функционирования висцеральных систем»: тез.докл. – Санкт – Петербург, 2003. – С. 31.
7. Бузуева, И.И. Влияние хронического стресса на структуру надпочечника крыс гипертензивной линии Нисаг после превентивного лечения теразолином / И.И. Бузуева, Е.Е. Филюшина, М.Д. Шмерлинг // Бюллетень СО РАМН: НИИ физиологии СО РАМН. – Новосибирск, 2010. – Т. 30, № 4. – С. 267 – 273.
8. Вестхайде, В., Ригер, Р. Зоология беспозвоночных от простейших до моллюсков и артропод / В. Вестхайде, Р. Ригер. – Москва: КМК, 2008. – Т. 1. – 512 с.

9. Вычужанова, Е. А. Влияние хронического стресса и острую стресс-реакцию у крыс / Е. А. Вычужанова // Наука и образование: проблемы, идеи, инновации. – 2015. – №1. – С. 9-11.
10. Гаркави, Л.Х., Антистрессорные реакции и активационная терапия (Реакция активации как путь к здоровью через процессы самоорганизации) / Л.Х.Гаркави, Е.Б. Квакина, Т.С. Кузьменко/ - Москва: Имедис, 1998. - 656 с.
11. Гемограмма // Большая медицинская энциклопедия, Т. 5. – 3-е изд. – М.: «Советская энциклопедия», 1977. — С. 160.
12. Гершкорон, Ф.А. Физиология человека и животных [Электронный ресурс] : учеб.-метод. пособие для самостоят. работы [для студентов спец. 020208.65 «Биохимия»] / Сиб. федерал. ун-т ; сост. Ф. А. Гершкорон [и др.]. - Красноярск : СФУ, 2012. - 66 с.
13. Гительзон И.И Терсков, И.А. Эритрограммы как метод клинического исследования крови / И.И. Гительзон, И.А. Терсков: Академия наук. - СССР, 1959. – 247 с.
14. Горизонтов, П.Д., Протасова Т.Н. Роль АКТГ и кортикостероидов в патологии (к проблеме стресса) / П.Д. Горизонтов, Т.Н. Протасова. – Москва: «Медицина», 1968. – 334 с.
15. Городецкая, И. В. Роль йодосодержащих тиреоидных гормонов в формировании ответной реакции организма при хроническом стрессовом воздействии / И. В. Городецкая // Вестник ВМГУ. – 2012. – Т. 11, №3. – С. 28-35.
16. Гуровец, Г.В. Возрастная анатомия и физиология. Основы профилактики и коррекции нарушений в развитии детей : Учебник для вузов / Под ред. В.И. Селиверстова. / Г.В. Гуровец – М. : Гуманитарный изд. центр ВЛАДОС. – 2013. – 431 с.
17. Емельянов, М.И. Количественное определение кортизола и его метаболита в моче крыс / М.И. Емельянов [и др.] // Вестник Московского.ун-та: химия, 2013. – Т. 54, № 1. – С. 12 - 17.



18. Журнист, А.Г., Утешев, А.Б., Макашев, Ж.А., Абылаев, Ж.А. Функциональное состояние симпатико-адреналовой системы в животном организме при воздействии ионизирующей радиации / А.Г. Журнист, А.Б. Утешев, Ж.А. Макашев, Ж.А. Абылаев // Международная конференция «Механизмы функционирования висцеральных систем»: тез.докл. – Санкт - петербург,1999. – С. 134 – 135.
19. Загребин, В.Л. Сравнительная микроморфология хромофильных клеток аденогипофиза в норме и при хроническом психоэмоциональном и смешанном стрессах в раннем постнатальном онтогенезе белых крыс / В.Л. Загребин, А.С. Бойко, Д.П. Иванова // Бюллетень Волгоградского научного центра РАМН и администрации Волгоградской области. – 2007. - № 2. – С. 25–26.
20. Залуцкий, И.В. Онкология / под ред. И.В. Залуцкого. – Минск: Высшэйшая школа, 2007. – 703 с.
21. Ингерлейб, М. Б. Анализы. Полный справочник / М. Б. Ингерлейб. – Москва: Астрель, 2011. – 298 с.
22. Камкин, А. Г. Физиология и молекулярная биология мембран клеток : учебное пособие для студ. высш. мед.учеб. заведений / А. Г. Камкин, И. С. Киселева. – М.: Академия, 2008. – 592 с.
23. Киричук, В. Ф. Физиология крови / В. Ф. Киричук – Саратовский медицинский университет, 1999. – 72 с.
24. Клиническая эндокринология. Руководство / Н. Т. Старкова.– издание 3-е переработанное и дополненное. – Санкт-Петербург: Питер, 2002. – 576 с. – (Серия «Спутник Врача»).
25. Козинец, Г.И., Сарычева, Т.Г., Луговская, С.А. Гематологический атлас. Настольное руководство врача-лаборанта. / Козинец Г.И., Сарычева Т.Г., Луговская С.А., Дягилева О.А., Погорелов В.М., Проценко Д.Д. – Практическая медицина. – 2014. – 120 с.

26. Козловская, Л.В. Учебное пособие по клиническим лабораторным методам исследования / Л.В. Козловская, А.Ю. Николаев. – Москва: Медицина, 1985. – 288 с.
27. Кокс Т. Стресс: перевод с англ. / Т. Кокс. - Москва: Медицина, 1981. - 216 с.
28. Кузин, М.И. Хирургические болезни: учебник: 3 - е издание, перераб. и доп / М.И. Кузин [и др.]. –Москва: Медицина, 2002. – 784 С.
29. Лакин, Г.Ф. Биометрия: учеб.пособие / Г.Ф. Лакин. – Москва: Высшая школа, 1990. – 350 с.
30. Луговская, С.А., Почтарь, М.Е. Гематологический атлас / С.А. Луговская, М.Е. Почтарь. – Тверь.: Триада. – 2011 г. – 368 с.
31. Мариотти, С. Нормальная физиология гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной системы и ее связь с другими эндокринными железами и нервной системой / С. Мариотти // Медицинский научный и учебно-методический журнал. – 2005. № 24. – С. 203 – 222.
32. Марищук, В.Л. Перераспределение функциональных резервов в организме спортсмена как показатель стресса / В.Л. Марищук // Стресс и тревога в спорте. - Москва, 1984. - С. 58-73.
33. Марищук В.Л. Эмоции в спортивном стрессе / В.Л. Марищук, Санкт - Петербург: ВИФК, 1995. - 38 с.
34. Мелентьева, Г.А. Фармацевтическая химия: Изд. 2-е, перераб. и доп / Г.А. Мелентьева.– Москва: Медицина, 1976. – С. 722–733.
35. Новицкий, В. В. Патофизиология: учебник / В. В. Новицкий, Е. Д. Гольдберг, О. И. Уразова. – Москва : ГЭОТАР-медиа, 2009. – Т.1. – 848 с.
36. Покровский, В.М. Физиология человека:перераб. и доп / под ред. Г.Ф. Коротько.. – Москва: 2-е изд., 2003. - 656 с.
37. Родионова, Т. И. Диффузный токсический зоб: учебно-методические рекомендации / Т. И. Родионова [и др.]. – Саратов, 2003. – 39 с.
38. Сапин, М.Р., Брыскина, З.Г. Анатомия человека / М.Р. Сапин, З.Г. Брыксина. - Москва: Академия, 2008. – 368 с.

39. Селье, Г. Очерки об адаптационном синдроме / Г. Селье. – Москва: Медгиз, 1960. – 255 с.
40. Селье, Г. Стресс без дистресса: учебное пособие / Г. Селье – Москва: Прогресс, 1989. – 120 с.
41. Серов, В.Н. Гинекологическая эндокринология: учебник / В.Н.Серов, В.Н.Прилепская, Т.В. Овсянникова, 2004 – Москва: МЕДпресс-информ. – 528 с.
42. Сисла, Б. Руководство по лабораторной гематологии: книга / под общ.ред. А.И. Воробьева. – Москва: Практическая медицина, 2011. – 351с.
43. Старкова, Н.Т. Клиническая эндокринология: издание 3-е пер. и доп. / Н.Т. Старкова, 2002.– Санкт - Петербург. – 576 с.
44. Томова, Т.А. Влияние иммобилизации на показатели стресс-реакции у крыс и собак / Т.А. Томова [и др.] // Вестник Томского государственного университета, 2014. – В. 25, № 1. – С. 183 – 198.
45. Тонких, А.В. Гипоталамо-гипофизарная область и регуляции физиологических функций организма / А.В. Тонких. - Москва, 1968. - С. 146-161.
46. Федюкович, Н. И. Внутренние болезни: учебник / Н. И. Федюкович. – Изд. 7-е. – Ростов н/Д : Феникс, 2011. – 573, [1] с.: ил.
47. Черенков, В.Г. Клиническая онкология. 3 - е изд / В.Г. Черенков. – Москва: Медицинская книга, 2010. – 434 с.
48. Чеснокова, Н. П. Эритропоэз и его регуляция, общие характеристики эритроцитов, их свойств и функций: цикл лекций / Н. П. Чеснокова, Е. В. Понукалина, М. Н. Бизенкова // Успехи современного естествознания. – 2015. – №1. – С. 325–328.
49. Щербатых, Ю.В. Психология стресса / Ю.В. Щербатых. – Москва: Эксмо, 2008. – 304 с.
50. Эверли, Д.С. Розенфельд, Р. Стресс: природа и лечение / Д.С. Эверли, Р. Розенфельд. - Москва: Медицина, 1985. - 224с.

51. Эндокринология и метаболизм / под ред. Ф. Фелига и др., пер. с англ., М., 1985. – Т. 1.
52. Ясенявская, А.Л. Изучение влияния иммобилизационного стресса и антиоксидантов на гормональную активность щитовидной железы белых крыс на разных этапах онтогенеза / А.Л. Ясенявская // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского, 2010. – В. 2, № 2. – С. 689–693.
53. Cohen, S. Chronic stress, glucocorticoid receptor resistance, inflammation, and disease risk / S. Cohen, D. Janicki-Deverts, W.J. Doyle // Proceedings of the national academy of sciences of the united state of America, 2012. – V. 109, № 16. – P. 5995–5999.
54. Cohen, S., Hamrick, N. Stable individual differences in physiological response to stressors: implications for stress-elicited changes in immune related health / S. Cohen, N. Hamrick // Brain, behavior, and immunity, 2003. - № 2. – P. 407–414.
55. Kavoussi, P. K. Clinical endocrinology: manual / P. K. Kavoussi, R. A. Costabile, A. Salonia. – London : Springer, 2013. – 156 p.
56. Lang, F. Physiology and Pathophysiology of Eryptosis / F. Lang, E. Lang, M. Foller // Transfusion Medicine Hemotherapy. – 2012. – V.39. – 308 p.
57. Nemeth, N. Gender differences of blood rheological parameters in laboratory animals / N. Nemeth [et al.] // Clinhemorheolmicrocirc, 2010. - V. 45, I. 2–4. - P. 263–272.
58. Rosette, E. Renal cell cancer: diagnosis and therapy / E. Rosette,[et al.]: Springer verlag. – London, 2008. – V. 27. – 584 p.
59. Sankaran S., Manyonda, I.T. Medical management of firoids. / Sankarn, I.T. Manyonda // Best practice & research clinical obstetrics and gynecology, 2008/ - V. 22, № 4. – P. 655 – 676
60. Walter, F. Boron, P. Medical physiology: a cellular and molecular approach / F. Walter, P. Boron: Elsevier/Saunders, 2003. - 1300 p.

61. Wickham L. L., Costa D. P., Elsner R. Blood rheology of captive and free-ranging northern elephant seals and sea otters // *Canadian Journal of Zoology*, 1990, 68 (2). — P. 375—380.

62. Windberger U., Bartholovitsch A., Plasenzotti R. , Korak K. J., Heinze G. Whole blood viscosity, plasma viscosity and erythrocyte aggregation in nine mammalian species: reference values and comparison of data // *Experimental Physiology*, 2003, 88 (3). — P. 431—440.

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

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой

Шли Е. И. Шишацкая  
инициалы, фамилия

«19» июня 2018г.

**БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА**

06.03.01 - Биология

Исследование показателей стресс-реакции у больных диффузным  
токсическим зобом

Научный руководитель

Ф.А. Гершков

подпись, дата

доцент, к.б.н.

должность, ученая степень

Ф.А. Гершков

инициалы, фамилия

Выпускник

В.А. Беглякова

подпись, дата

19.06.18

В.А. Беглякова

инициалы, фамилия

Красноярск 2018