

Федеральное агентство по образованию  
ГОУ ВПО «Белгородский государственный университет»

Е.А. Липунова, М.Ю.Скоркина

# ФИЗИОЛОГИЯ КРОВИ

Белгород  
2007

УДК 612.11–019  
ББК 28.91  
Л61

Печатается по решению  
редакционно-издательского совета  
Белгородского государственного университета

Рецензенты:  
доктор биологических наук, профессор  
Белгородской государственной сельскохозяйственной академии  
*Н.В. Безбородов,*  
кандидат медицинских наук, доцент  
Белгородского государственного университета  
*В.Г. Нестеров*

*Издание осуществлено  
при частичной финансовой поддержке РФФИ  
(проект 03-04-96473) и гранта БелГУ*

**Липунова, Е.А.**

Л61 Физиология крови: моногр. исслед. / Е.А. Липунова, М.Ю. Скоркина. – Белгород: Изд-во БелГУ, 2007. – 324 с.

ISBN 978-5-9571-0305-9

В сравнительно-физиологическом аспекте на системном уровне излагаются вопросы гистофизиологии системы крови, функциональной гематологии, кроветворения. С позиций установившихся теоретических положений освещены особенности эволюционной гематологии, кинетики отдельных ветвей кроветворения.

Для научных работников, преподавателей, аспирантов, магистрантов и студентов, обучающихся на биологических, медицинских и ветеринарных факультетах высших учебных заведений.

УДК 612.11–019  
ББК 28.91

ISBN 978-5-9571-0305-9

© Липунова Е.А., Скоркина М.Ю., 2007  
© Белгородский государственный университет, 2007

## ПРЕДИСЛОВИЕ

*В основе функционирования многокомпонентной системы крови лежит основной принцип живой системы – устойчивость при постоянной динамической ее изменчивости. Сетевой характер организации животного организма создает условия для «перетекания» энергоинформационных потоков между клетками крови, тканями и органами, определяя интенсивность и направленность регенераторных и репаративных процессов в организме.*

*Возникшая в ходе многовековой эволюции способность системы к стабилизации и поддержанию гомеостаза обусловила эволюционные преобразования структур, осуществляющих процессы интеграции и управления в живой системе, в том числе на этапах местного самоуправления и управления энергоинформационными потоками (Д.С. Саркисов, 1977, 1994; Ю.А Власов, С.М. Смирнов, 1993; В.Н. Шилов, 2006).*

*Система крови и кровообращения занимает особое место в создании единой обменно-коммуникационной среды организма, обеспечивая процесс обмена информационными сигналами, формируя каналы связи как посредством синтеза и транспорта молекул межклеточной коммуникации (цитокины и аутокоиды – факторы роста, лейкотреины, простагландины), так и перераспределения энергоинформационных потоков.*

*В настоящей работе современные представления о функционировании системы крови изложены с учетом молекулярно-биохимических процессов, протекающих в клетках крови, их связи с системными процессами, определяющими эффективность структурной перестройки и сохранения жизнеспособности в условиях непрерывного эволюционирования кроветворения под влиянием различных факторов среды.*

*Структура изложения научного материала позволяет последовательно провести читателя от вопросов филогенетического становления системы крови как внутренней среды организма до формирования совершенных механизмов функционирования зрелых высокоспециализированных клеточных форм различных ростков гемопоэза.*

*Книга «Физиология крови» включает 4 главы. В первой отражены вопросы сравнительной физиологии крови, подчеркиваются филогенетические ее связи с сосудистой системой; формирование клеток крови соотносится с образованием мезенхимы и соединительной ткани, гистологически объединенных с кровью в единую структуру; процесс эволюции крови – с параллельным формированием ее защитной, трофической, дыхательной и транспортной функций. В основе этих представлений – труды известных отечественных морфологов, физиологов, биохимиков, эволюционистов (Ф.М. Лазаренко, 1925; А.А. Заварзин, 1945, 1953, 1985; В.Г. Елисеев, 1960; Е.М. Крепс, 1943; Х.С. Коштояни, 1950; Е.Д. Гольдберг и*

соавт., 1973; Д.Х. Хамидов и соавт., 1973; А.Т. Акилов и соавт., 1983; Л.И. Иржак, 1983; Е.А. Корнева, 1993; В.Г. Галактионов, 1995, 2004).

Вторая глава посвящена раскрытию структурных и физико-химических свойств форменных элементов крови: обосновываются эволюционные, физиологические и генетические процессы образования клеток крови, клеточных структур, систем управления и ауторегуляции. Известно, что основные функции эритроцитов тесно сопряжены с физиологией плазмолеммы и клеточные процессы, свойственные красным клеткам крови, разворачиваются на свободной поверхности мембран, обуславливают процессы перфузии и эффективность микроциркуляции. Кроме того, как показали исследования последних лет, в осуществлении ряда функций, в их числе газотранспорт и отдача кислорода, особая роль отводится электрическим свойствам плазмолеммы – эти вопросы также нашли отражение в книге. С современных позиций рассмотрены метаболизм эритроцита и особенности метаболизма в нем глюкозы – единственного источника энергии для такой уникальной структуры, какой является клетка красной крови. С учетом исследовательского опыта авторов книги и коллектива кафедры анатомии и физиологии человека и животных Белгородского государственного университета по вопросам цитофизиологии крови более объемно освещена физиология эритрона и его периферического звена – эритроцитов.

В третьей главе рассмотрены вопросы функциональной гематологии: процессы гемостаза, иммунитета, иммуногенеза; с современных позиций анализируются эффекторные механизмы, медиаторы и регуляция иммунного ответа. Одно из направлений современной функциональной гематологии – реология крови. На основе анализа научной литературы в главе отражены современные представления о реологических свойствах крови, структурные, системные, клеточные, функциональные составляющие и методы гемореологического исследования, а также механизмы управления клеточной реологией. Согласно современным представлениям, оксигенация клеток и тканей организма зависит не только от свойств гемоглобина, но в значительной степени от механического поведения эритроцита, его реактивности и резистентности, которые существенно изменяются под действием средовых, клеточных, экстрацеллюлярных факторов и эффектов приложенных сигнальных молекул.

В четвертой главе с учетом значительного потока информации раскрываются общие вопросы гемопоэза: современная модель гемопоэза, особенности эмбрионального и постэмбрионального эритропоэза и кинетики эритрона у животных разных систематических групп.

Библиографический список отобран с таким расчетом, чтобы чрезмерно не расширять его и не перегружать читателя анализом устаревших, явно противоречивых (и даже бесполезных) данных.

Введение

## **ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ СИСТЕМА КРОВИ**

Кровь – функциональная система, обеспечивающая своевременную доставку кислорода и питательных веществ клеткам тканей и удаление продуктов метаболизма из органов и интерстициальных пространств (О.К. Гаврилов и соавт., 1985). Кровь (нейрогуморальный аппарат, регулирующий ее состав) и органы, в которых происходит образование клеток крови и их разрушение (костный мозг, тимус, лимфатические узлы, селезенка, печень) объединяются в единую систему крови (Г.Ф. Ланг, 1939). Под «системой» понимают упорядоченное взаимодействие клеток, органов и систем, участвующих в выполнении определенной функции, т. е. объединенных выполнением «общей цели».

Как система, кровь не только саморегулирующаяся структура, но и сложный комплекс компонентов, включающихся в систему и выпадающих из нее по мере «запроса», исходящего из тканей и органов. Уровень функциональной активности системы крови может резко повышаться при отклонениях физиологических функций от оптимального для метаболизма уровня.

В рамках системного подхода, согласно классификации биологических объектов, кровь относится к корпускулярно-нуклеарным системам, отличающимся высокой надежностью функционирования (за счет регенерации однотипных клеток) и реакцией, как единого целого, на возмущающие воздействия. Согласованность действий ее частей «оплачивается» тем, что при поражении центрального элемента (костного мозга) неизменно нарушается вся система. Равновесные динамические системы клеточных популяций предполагают метаболическое взаимодействие их с другими тканями и стоящими над ними регулирующими механизмами (А.Д. Арманд, 2001). Эффективное управление клеточными популяциями – необходимое условие существования сложного организма.

Кровь объединяет работу многих физиологических систем организма, обеспечивает его гомеостатический потенциал и спо-

способность противостоять экстремальным воздействиям благодаря совершенным механизмам регуляции физиологических функций, генетического консерватизма рецепторов и пластичности исполнительного аппарата (И.И. Гительзон, И.А. Терсков, 1967).

Функциональная система крови представляет собой иерархию подсистем регуляции (О.К. Гаврилов и соавт., 1985): качественного и количественного состава клеток крови; физико-химического состава плазмы крови; агрегатного состояния крови; газового баланса. Иерархически построенная, кровь как система обладает высокой прочностью по отношению к внешним и внутренним воздействиям.

Система крови на воздействия факторов среды реагирует набором специфических и неспецифических компонентов. Например, гипоксический стресс различной этиологии включает активацию биосинтетических процессов в почках, увеличивает продукцию эритропоэтина, простогландинов, стероидных гормонов, серотонина (Н.В. Васильев и соавт., 1992), активирующих эритропоэз, что ведет к количественной и качественной перестройке эритрона на всех уровнях его структурной организации (В.Н. Черниговский, О.И. Моисеева, 1982; Ю.М. Захаров, А.Г. Рассохин, 2002; Е.А. Липунова и соавт., 2004). Гомеостатическая регуляция направлена на достижение оптимального уровня константы, максимально отклонившейся от своего среднего значения. Закономерности отклонений гомеостатических констант подчиняются правилам фона (направленность и величина изменения константы зависит от исходных, фоновых значений) и гиперкомпенсации (новое значение константы, достигнутое вследствие гомеостатирования, не идентично, а превышает фоновое).

Различают два типа гомеостатической регуляции: регуляция по отклонению, если фактор действует на систему впервые, и опережающая гомеостатическая регуляция, возникающая при повторных воздействиях фактора, и запоминание системой его параметров. На субклеточном и клеточном уровнях преобладает регуляция по отклонению. Таким путем регулируются внутриклеточный рН, осмотическое давление и объем клетки, эндо- и экзоцитоз, состояние ионных каналов. На системном уровне оба типа регуляции равноправны; на организменном – преобладает опережающая регуляция (Д.С. Саркисов, 1977; 1994).

В красном костном мозге позвоночника и плоских костей сосредоточена основная масса кроветворных элементов, участвующих у высших позвоночных животных в образовании клеток крови.

Тимус (вилочковая железа) является центральным органом иммуногенеза; в нем происходит дифференцировка Т-лимфоцитов, участвующих в клеточных реакциях иммунитета.

Селезенка, лимфатические узлы, как и тимус, ответственны за выработку иммунитета. Например, селезенка участвует в синтезе иммуноглобулинов, разрушении клеток крови, их депонировании.

В печени синтезируются белки плазмы и компоненты системы свертывания крови, разрушаются эритроциты и утилизируется гемоглобин, депонируются минеральные элементы и антианемические факторы.

## Глава 1

# ЭВОЛЮЦИЯ ВНУТРЕННЕЙ СРЕДЫ ОРГАНИЗМА

Внутреннюю среду организма образует совокупность жидкостей (кровь, лимфа и тканевая жидкость), принимающих непосредственное участие в процессах обмена веществ и поддержании гомеостаза организма (Словарь физиологических терминов / отв. ред. О.Г. Газенко. – М.: Наука, 1987. – С. 80).

Понятие «внутренняя среда организма» предложено французским физиологом К. Бернаром (Cl. Bernard, 1878, с.5); ее постоянство ученый рассматривал как «залог свободной и независимой жизни организма». Однако заложенное в крылатой фразе содержание обрело глубокое общебиологическое и философское осмысление после сформулированного W.B. Cannon (1932) представления о гомеостазе. Отметим, что W.B. Cannon впервые ввел в науку и сам термин «гомеостаз» и определение, получившее всеобщее признание. В настоящее время под гомеостазом следует понимать «относительное, динамическое постоянство внутренней среды (крови, лимфы, внеклеточной жидкости) и устойчивость, стабильность или даже ультрастабильность основных физиологических функций организма (кровообращения, дыхания, пищеварения, терморегуляции, обмена веществ и т. д.)» (П.Д. Горизонтов, 1976).

Появление крови в эволюционном развитии животных было обусловлено возникновением (и отделением от пищеварительной системы) сосудистой системы, а формирование клеток крови – образованием мезенхимы и соединительной ткани, гистогенетически составляющих с кровью единую систему. Эволюция крови протекала в тесной связи с формированием ее защитной, трофической, дыхательной и транспортной функций (В.Г. Елисеев и соавт., 1960).



## 1.1. КЛАССИФИКАЦИЯ ЖИДКИХ СРЕД И КЛЕТОЧНОГО СОСТАВА

Обособленная внутренняя среда впервые появляется у кишечнополостных животных и низших червей. Вода заполняет пищеварительную полость и далее поступает в межклеточные каналы тела, которые составляют гастроваскулярную систему. Жидкость, циркулирующую в ней, называют гидролимфой. По составу она мало отличается от воды окружающей среды, но содержит блуждающие клетки (амебоциты) экскреторного и трофического типов. Это клетки энтодермального происхождения, отделяющиеся от основной ткани и мигрирующие в массовом количестве в различные участки тела (А.А. Заварзин, 1953). У актиний амебоциты подразделяются на несколько типов. А.А. Заварзин (1953) отмечал, что, несмотря на отсутствие родственных отношений между губками и кишечнополостными, ход эволюции тканей внутренней среды у обеих таксономических групп в основном сходен и выражается, в частности, в появлении нескольких типов амебоцитов.

У членистоногих, большинства моллюсков, круглых червей и иглокожих с характерной для них незамкнутой (лакунарной) сосудистой системой прослеживаются усложнения состава внутренней среды, ее обособленность и относительное постоянство. Гемолимфа, сообщаясь с тканевыми лакунами, транспортирует питательные вещества и респираторные газы благодаря присутствию дыхательных пигментов. Гемолимфа, по сравнению с морской водой, имеет более щелочную реакцию, незначительно отличается по осмотическому давлению, но существенно – по концентрации неорганических солей.

Для олигохет, полихет, пиявок, форонид, немертин, голотурий, иглокожих, некоторых моллюсков и позвоночных животных присуща замкнутая система сосудов с циркулирующими в ней гемолимфой и кровью. В гемолимфе обнаруживается значительное количество амебоцитов, обладающих фагоцитарной или экскреторной функциями.

Кровяные клетки иглокожих – фагоциты и элеоциты находятся в целомической жидкости, крови и преваскулярном целоме. Элеоциты так называемого красного типа содержат пигмент эхи-

нохром, клетки белого типа превращаются в меланофоры после того, как попадают в эпидермис. У морского огурца (класс голотурий) вычлняются мелкие лимфоцитоподобные клетки – гемоциты – с гомогенной цитоплазмой, содержащей гемоглобин. Это плоские двояковогнутые, овальные клетки с центрально расположенным ядром.

В гемолимфе моллюсков содержатся разнообразные клеточные формы, которые сводятся к двум видам – амебоцитам и эритроцитам. Амебоциты встречаются у всех моллюсков, эритроциты – исключительно у двустворчатых. Амебоциты способны к агглютинации и фагоцитозу, эритроциты содержат дыхательный пигмент (R.V. Hill, J.V. Welsh, 1966).

Целомоциты аннелид (олигохет и полихет) также подразделяются на амебоциты, которым свойствен фагоцитоз, и элеоциты; оба типа клеток выполняют трофическую функцию. Разнообразие амебоцитов выявлено у дождевых червей (А.А. Заварзин, 1945), в целомической жидкости которых встречаются зернистые и незернистые формы с базофильной и эозинофильной цитоплазмой. Общее количество их колеблется от 29,6 до 78,9 тыс. в 1 мкл<sup>3</sup>. У полихет имеются эритроциты, иногда содержащие дыхательный пигмент (А.А. Заварзин, 1953). Таким образом, у аннелид впервые происходит разделение гемоцитов на лейкоциты и эритроциты.

У некоторых полихет (*Amphitrite jonstoni*) целомоциты представлены овальными клетками диаметром до 40 мкм, пигментированные порфирином. Клетки содержат липиды, гликоген, бета-каротин. Накапливая жир, амебоциты трансформируются в элеоциты и значительно прибавляются в размерах. Концентрация целомоцитов увеличивается летом, в период наибольшей активности и размножения животных. По мнению ученых, целомоциты обеспечивают питание гамет, также плавающих в целомической жидкости, и молодых целомоцитов (R.P. Dales, 1964).

В крови ракообразных имеются амебоциты. В зависимости от возраста они классифицируются на гемокоагулирующие клетки, содержащие гемоагглютинины; амебоциты, способные к фагоцитозу; амебоциты зернистого типа, участвующие в синтезе гемоцианина (У. Вельш, Ф. Шторх, 1976).

Гемоциты насекомых, клеточные элементы которых наиболее хорошо изучены, – ядросодержащие клетки мезодермального

происхождения либо циркулирующие в гемолимфе, либо свободно располагающиеся на поверхности тканей в гемоцеле. Наиболее общими и типичными для насекомых являются гемоциты 3-х типов (незернистые, базофильные округлой или веретенчатой форм) – их концентрация может колебаться от 10 тыс. до 100 тыс. в 1 мкл<sup>3</sup> гемолимфы у разных видов насекомых; у некоторых, например, у американского таракана, достигает 16 млн (цит. по: Л.И. Иржак, 1983, с. 269). Помимо клеток, в гемолимфе присутствуют продукты дезинтеграции клеток – фрагменты разрушающихся гемоцитов и других клеток. Гемоциты содержат гликоген, нейтральные мукополисахариды, фосфолипиды, аскорбиновую кислоту, различные ферменты, гормоны, способствующие выполнению клетками трофической функции. Гемоциты участвуют в формообразующем процессе, синтезируя вещества, способствующие образованию новых тканей, или дифференцируются в другие типы клеток. Так, гемоциты-плазмоциты мигрируют к поверхности тканей, где посредством выделения специфических секретов участвуют в образовании базальной мембраны.

Количество гемолимфы у беспозвоночных животных составляет 20-60% от массы тела. При этом прослеживается эволюционная закономерность: уменьшение объема гемолимфы связано с появлением дыхательных пигментов и возникновением замкнутой (закрытой) системы кровообращения. У беспозвоночных с гастроваскулярной системой количество гидролимфы можно обозначить знаком бесконечно (в теле циркулирует вода океана). С появлением замкнутой кровеносной системы объем циркулирующей в сосудах жидкости становится ограниченным, и тем меньше, чем более насыщена гемолимфа дыхательными пигментами. Такая закономерность обусловлена тем, что кровяные пигменты в сотни раз увеличивают способность биологических жидкостей связывать респираторные газы (Х.С. Коштянц, 1950; Л. Проссер, Ф. Браун, 1967; Л.И. Иржак, 1983).

Существует мнение, что образование клеточных элементов совершается в гемолимфе. Однако в научной литературе встречается информация о существовании примитивных кроветворных органов (Ф.М. Лазаренко, 1925; А.А. Заварзин, 1945). Родоначальная форма для клеток гемолимфы – мелкий незернистый базофильный амебоцит, способный к митотическому делению и дифференцировке в различных направлениях.

Кровь и тканевая (межклеточная, интерстициальная) жидкость являются самостоятельными жидкостными средами организма. Постоянным ингредиентом крови у рыб, амфибий, рептилий и птиц становятся ядросодержащие эритроциты; содержание гемоглобина в них в филогенезе увеличивается, равно как и концентрация самих клеток красной крови.

Эволюция лейкоцитов происходила в направлении увеличения процентного содержания гранулоцитарных элементов и соответственном снижении незернистых форм (В.Г. Елисеев, 1960). У хрящевых рыб, некоторых амфибий и рептилий появляются пельгеровые формы лейкоцитов (Д.И. Гольдберг и соавт., 1973).

Тканевая жидкость играет роль посредника в обмене веществ между клетками тканей и циркулирующей кровью. Появление замкнутой системы кровеносных сосудов – особая веха в эволюции внутренней среды организма: разделение сосудистой системы на кровеносную и лимфатическую. Это разделение хорошо выражено у позвоночных животных, начиная с костистых рыб (у бесчерепных и хрящевых рыб кровь может входить в лимфатические сосуды). Лимфа, циркулирующая в системе лимфатических сосудов, отделена от тканевой жидкости эндотелием лимфатических капилляров. Между кровью, тканевой жидкостью и лимфой поддерживается постоянный обмен.

## **1.2. ФИЛОГЕНЕЗ ОЧАГОВ ГЕМОПОЭЗА У ЖИВОТНЫХ**

В эволюции животного мира развитие крови (как ткани) было связано с появлением сосудистой системы, отделенной от пищеварительной трубки и полостей тела, а кровяных клеток – с образованием мезодермы (среднего зародышевого листка) и соединительной ткани, которые с кровью гистогенетически объединены в единую систему. Эволюция системы крови, стабилизация ее состава сопряжены с усложнением и дифференцировкой всего организма.

Развитие функциональных свойств крови во многом обусловлено эволюцией системы кроветворения. У беспозвоночных животных локусы кроветворения диффузно распределены в различных участках тела, и только у головоногих моллюсков и чле-

нистоногих выявлены более дифференцированные органы кроветворения (А.А. Заварзин, 1976).

У позвоночных животных формируются очаги кроветворения. У рыб они распределены диффузно в селезенке, кишечнике, печени, гонадах, межканальцевой зоне почек, образуя миелоидную ткань. Начиная с поперечноротых, появляется лимфоидная ткань в виде тимуса, и в процессе филогенеза позвоночных миелоидная и лимфоидная ткани функционально взаимосвязаны в осуществлении процесса кроветворения.

У позвоночных животных, начиная с наземных видов (и у человека), органы кроветворения дифференцированы и сосредоточены преимущественно в костях в виде красного костного мозга. Органы гемопоэза образуют наибольший по объему и активности орган высших млекопитающих; 20 – 30% красного костного мозга приходится на эритропоэтическую ткань.

Наиболее полный обзор филогенеза очагов гемопоэза представлен в ранних работах П.А. Коржуева (1949; 1964), А.А. Заварзина (1976). Известно, что в филогенезе позвоночных животных переход к наземному образу жизни был сопряжен с глубочайшими перестройками в организме, прежде всего в системе органов внешнего дыхания. Первые выходцы на сушу среди позвоночных – амфибии – столкнулись с угрозой выживания и стали вести приводный образ жизни.

Для амфибий характерны несовершенные органы дыхания (малая поверхность легких, неэффективные механизмы газообмена) и смешивание артериальной и венозной крови в сердце, вследствие чего поверхность тела (кожа) становится дополнительным органом дыхания; кожа амфибий богата железами и всегда влажная.

Жизнь в наземных условиях требовала больших затрат энергии, а следовательно, повышался кислородный запрос тканей, который мог быть удовлетворен посредством увеличения массы крови и гемоглобина, что стало возможным благодаря интенсификации деятельности очагов гемопоэза. Принципиально новым в эволюции позвоночных в связи с переходом к наземному образу жизни стало появление нового очага гемопоэза в костном мозге. Рыбы не обладают костным мозгом. Как специальный орган кроветворения, костный мозг впервые появляется у амфибий (Г.К. Хрущов, 1966; М.А. Нишамбаева, 1971; П.А. Коржуев,

1979), при этом его закладка происходит незадолго до завершения метаморфоза. Однако кроветворная активность костного мозга у амфибий носит периодический характер и зависит от времени года. По мнению Д.Х. Хамидова и соавт. (1978, 1986), его участие в пролиферации форменных элементов крови проявляется лишь в весенне-летний период, когда метаболические процессы наиболее напряжены. У бесхвостых амфибий в костном мозге длинных трубчатых костей совершаются процессы эритропоэза (интраваскулярно), лейко- и лимфопоэза (экстраваскулярно) (Д.И. Гольдберг и соавт., 1973). А.А. Заварзин (1953) отмечает, что тромбоциты у лягушек могут синтезироваться как из клеток лимфоидного ряда, так и из эндотелия сосудов. Характерно, что у головастиков лягушки клетки крови образуются в почках, а у хвостатых амфибий (у них отсутствует метаморфоз) не обнаружено резкой перестройки органов гемопоэза и костный мозг не участвует в кроветворении (А.А. Заварзин, 1953; Д.И. Гольдберг и соавт., 1973; Л.М. Заремская и соавт., 1982).

Эволюцию гемопоэтической роли костного мозга у позвоночных связывают с развитием скелета и действием сил гравитации, особенно в условиях наземного образа жизни. Если в воде организм «взвешен» и энергия тратится преимущественно на передвижение, то в наземных условиях жизни большие энергозатраты дополнительно требуются на поддержание тяжести собственного тела (П.А. Коржуев, 1964). Сравнительный анализ очагов гемопоэза представлен в табл. 1.

*Таблица 1*

**Очаги гемопоэза у различных представителей животных**  
(Д.Х. Хамидов, 1978)

Очаги	Эритропоэз	Гранулопоэз	Лимфопоэз	Моноцитопоэз*	Тромбопоэз
1	2	3	4	5	6
Зеркальный карп					
Костный мозг	—	—	—	—	—
Селезенка	—	—	++++	+	—
Почка	++++	++++	++	++	+
Кишечник	—	—	++++	—	—
Сердце	—	—	—	+	—
Озерная лягушка					
Костный мозг	++++	++++	++	++	++
Селезенка	++	+	++++	++	—
Печень	+	++	++	+	—
Почка	—	—	+	—	—

1	2	3	4	5	6
Кишечник	—	—	++	—	—
Черепаша					
Костный мозг	++++	++++	++	++	
Селезенка	—	++	++++	++	
Печень	—	+	++	++	
Почка	—	—	+	—	
Кишечник	—	—	+	—	
Варан					
Костный мозг	++++	++++	++	++	
Селезенка		++	++++	++	
Печень		+	++	++	
Почка		—	+	—	
Кишечник		—	+	—	
Голубь*					
Костный мозг	++++		+	++++	
Селезенка	+	+	++++		
Печень	—	+	++		
Почка	—	+	+++		
Кишечник	—	+	++		
Млекопитающие					
Костный мозг	++++	++++	++	+++	++++
Лимф. узлы	—	—	+++	—	—
Селезенка	—	++	++	+	—

*Примечание:* + – низкая активность, ++ – умеренная активность, +++ – высокая активность, ++++ – наибольшая активность, \* – для голубя миелопоз.

Согласно взглядам П.А. Коржуева (1964), процесс эволюции наземных позвоночных представляет собой эволюцию адаптаций, направленных на преодоление сил гравитации. Более того, если в воде нагрузка на различные участки тела одинакова, то на суше она приходится преимущественно на конечности, что стало одной из причин смены очагов гемопоэза. Мощность очагов гемопоэза, локализованных в различных отделах скелета, определяется нагрузкой, приходящейся на тот или иной отдел; мощность гемопоэтической функции скелета в целом обусловлена степенью активности животного и его положением в филогенетическом ряду.

В действительности темпы роста скелета и в целом организма выравниваются, и значительная масса скелета свидетельствует о наличии у животного мощного очага гемопоэза в виде костного мозга. Из сказанного следует, что у животных, ведущих активный образ жизни или находящихся в условиях затрудненно-

го доступа кислорода, скелет должен обладать более мощным развитием (П.А. Коржуев, 1949; 1964).

Рога у самок северного оленя представляют приспособление к суровым условиям тундры, а мощное развитие рогов высокогорных архаров и козлов – к пониженному парциальному давлению кислорода. У этих животных рога выполняют роль дополнительного источника синтеза эритроцитов и гемоглобина, в первом случае – сезонного, во втором – постоянного.

Выявлены существенные различия в количестве и дислокации костного мозга у птиц и млекопитающих. У подавляющего большинства исследованных взрослых птиц осевой скелет либо содержит незначительное количество костного мозга, либо совсем его не содержит. Лишены костного мозга у многих птиц кости плеча и предплечья. Существует мнение, что основной биологической причиной, обуславливающей различия в количестве костного мозга у млекопитающих и птиц, являются особенности, свойственные ранним стадиям развития птиц и млекопитающих (П.А. Коржуев, 1964).

У млекопитающих в период внутриутробного развития плода для бесперебойного поступления в его организм кислорода необходимы значительные резервы гемоглобина и крови у матери, что возможно только при мощных очагах гемопоэза. Напротив, птицы, не относящиеся к группе животных с внутриутробным типом развития, не нуждаются в этом, и относительная масса костного мозга у только что выклюнувшихся птенцов не превышает уровня, характерного для взрослых особей. Тем не менее, у птиц и млекопитающих масса костного мозга в целом достигает значительных величин (2-7 % массы тела), тогда как масса очагов синтеза гемоглобина у рыб (селезенки, почки) составляет всего сотые или десятые доли процента.

Таким образом, в филогенезе наземных позвоночных (особенно у птиц и млекопитающих) наблюдалось все возрастающее накопление массы костного мозга, мощности очагов синтеза гемоглобина, обеспечив им высокую активность и возможность значительных энерготрат. Решающей предпосылкой, обусловившей расцвет наземных позвоночных, было превращение скелета в ведущий очаг синтеза гемоглобина и важнейший орган преодоления сил гравитации.



Характерно, что на ранних этапах филогенеза позвоночных в кровеносные сосуды из очагов гемопоэза поступают незрелые клетки, совмещающие выполнение основных функций с продолжением созревания и клеточных дифференцировок.

В филогенезе по мере усложнения организации позвоночных (преимущественно у птиц и млекопитающих животных) совершенствуется система гемопоэза, созревание клеток в основном завершается в очагах кроветворения и в кровяное русло вымываются клетки на более поздних стадиях дифференцировки.

**2.1. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ, ФУНКЦИИ, ПЛАЗМА КРОВИ**

Кровь представляет собой жидкую соединительную ткань, состоящую из плазмы и форменных элементов. Общее количество крови у высших животных зависит от вида, пола, интенсивности метаболизма – чем интенсивнее протекает обмен, тем выше потребность в кислороде и больше крови у животного. Так, объем крови у спортивных лошадей достигает 14-15% от массы тела, а у выполняющих обычную работу – 7-8%. В организме человека 4,5-6,0 л крови, или 7% от массы тела. Объем крови в организме – величина достаточно постоянная и тщательно регулируемая.

В покое только 45-60% общего объема крови циркулирует по сосудистому руслу (циркулирующая кровь), 55-40% выключено из кровообращения и сосредоточено в кровяных депо (депонированная кровь). Функцию депо крови выполняют селезенка (депонирует 16% от всей массы крови), капиллярная система печени (20%), подкожная жировая клетчатка и капилляры кожи (10%), легкие (10%). При кровопотерях, мышечной работе и функциях, требующих напряжения, депонированная кровь рефлекторно выбрасывается в кровяное русло, увеличивая массу циркулирующей ее части.

Функции крови многообразны:

- **Транспортная.** Кровь переносит питательные вещества от органов пищеварения к тканям и клеткам и продукты обмена к органам выделения. Участвуя в дыхательных процессах, кровь переносит кислород от легких к тканям и двуокись углерода от тканей к легким. Переносит гормоны, другие биологически активные вещества, электролиты и метаболиты, кровь осуществляет гуморальную регуляцию деятельности органов и систем организма.

- **Теплораспределительная и теплорегуляторная.** Циркулируя в организме, кровь объединяет органы, в которых образуется

тепло (печень, скелетные мышцы) с органами, его отдающими (кожа, легкие), поддерживая тем самым постоянство температуры тела.

- Защитная (предохраняет организм от действия микроорганизмов и их токсинов). Осуществляется за счет химических факторов (антител), фагоцитарной активности лейкоцитов и деятельности иммунокомпетентных клеток, ответственных за тканевый и клеточный иммунитет.

- Коррелятивная. Кровь объединяет все системы организма, обеспечивая его гуморальное единство. Кровь своим постоянством состава и свойств создает оптимальную среду для жизнедеятельности клеток и тканей.

Кровь как ткань включает форменные элементы крови и межклеточное вещество – плазму. Соотношение между плазмой и форменными элементами – гематокритное число (гематокрит) относительно постоянно. У человека объем плазмы составляет 55-60%, а клеток – 40-45% от общего объема крови. Гематокрит дает представление об общем объеме эритроцитов и характеризует степень гемоконцентрации – гидремии, т. е. содержание воды в крови.

*Состав и свойства плазмы.* Плазма крови состоит из воды (90-92%) и сухих веществ (10-8%) – белков, минеральных элементов, углеводов, липидов, биологически активных соединений. Общее содержание белков составляет 6,6-8,2% объема плазмы (у взрослого человека 200-300 г), основные из них: альбумины – 4,0- 4,5%, глобулины – 2,8-3,1%, фибриноген – 0,1-0,4%.

Альбумины благодаря высокой концентрации в крови, большой подвижности и небольшим размерам молекулы определяют онкотическое давление плазмы и играют существенную роль в транспорте кровью различных веществ – билирубина, солей тяжелых металлов, жирных кислот, лекарственных средств (сульфаниламидов, антибиотиков и др.).

Глобулины плазмы разделяют на несколько фракций:  $\alpha_1$ -,  $\alpha_2$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -глобулины, которые также неоднородны и с помощью метода иммунофореза подразделяются на субфракции. Например, во фракции  $\alpha_1$ -глобулинов имеются белки, простетическую группу которых составляют углеводы; в составе гликопротеинов циркулирует до 60% углеводов плазмы.

$\beta$ -глобулины участвуют в транспорте фосфолипидов, холестерина, стероидных гормонов, металлических катионов. Например, металлосодержащий белок трансферрин осуществляет перенос железа кровью – каждая молекула трансферрина несет два атома железа.

Альбумины,  $\alpha$ - и  $\beta$ -глобулины являются также пластическими веществами крови, они непрерывно образуются в печени и используются тканями в процессе обмена веществ.

$\gamma$ -глобулины имеют самую низкую электрофоретическую подвижность. Они выполняют защитную функцию, являясь факторами специфического и неспецифического иммунитета, представляют собой различные фракции антител, защищая организм от вторжения вирусов и бактерий: пропердин, инактивирующий вирусы и бактерии; интерферон, разрушающий генетическую структуру внедрившегося в организм вируса. К  $\gamma$ -глобулинам относятся также агглютинины крови. Глобулины синтезируются в печени и в клетках мононуклеарной фагоцитарной системы (МФС).

Фибриноген занимает промежуточное положение между фракциями  $\beta$ - и  $\gamma$ -глобулинов. Белок синтезируется в клетках печени, МФС и необходим для свертывания крови. Под воздействием тромбина растворимый белок фибрин начинает принимать волокнистую структуру, переходит в фибрин, что обуславливает свертывание крови и ее превращение в течение нескольких минут в плотный сгусток.

Сыворотка крови отличается от плазмы только отсутствием фибриногена.

Фибриноген и альбумин синтезируются в печени.

В состав плазмы входят небелковые азотсодержащие вещества (аммиак, мочеви́на, мочева́я кислота, креатин, креатинин, аминокислоты и др.). Общее их содержание составляет 30-40 мг%.

В плазме крови содержатся и другие органические вещества, ммоль·л<sup>-1</sup>: глюкоза – 4,44-6,66, холестерол – 4,7-5,8, молочная кислота – 1,1-1,5; пировиноградная кислота – 0,14; липиды – 4,7-6,11. Неорганические вещества плазмы (или сыворотки) составляют около 1% и представлены, ммоль·л<sup>-1</sup>: Na<sup>+</sup> (142), Ca<sup>2+</sup> (2,5), K<sup>+</sup> (4,4), Mg<sup>2+</sup> (0,9), Cl<sup>-</sup> (103). Плазма содержит бикарбонаты – 24 ммоль·л<sup>-1</sup> при соотношении бикарбонат/угольная кислота 20:1; фосфаты – 1 ммоль·л<sup>-1</sup> при соотношении двузамещенного и однозамещенного фосфата натрия 4:1; сульфаты – 0,5 ммоль·л<sup>-1</sup>.

Плазма содержит компоненты, концентрация которых изменяется: ферменты (например, липазу и амилазу), витамины, гормоны, растворимые продукты гидролиза пищевых веществ в желудочно-кишечном тракте, а также продукты, подлежащие экскреции.

## 2.2. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КРОВИ

Физико-химические свойства крови характеризуются относительным постоянством, что необходимо для обеспечения оптимального протекания физиологических функций. Удельная плотность составляет,  $\text{г}\cdot\text{л}^{-1}$ : крови – 1050-1060, эритроцитов – 1090, плазмы – 1030. Вязкость крови больше вязкости воды в 4-5, плазмы – в 1,7-2,2 раза (вязкость воды равна 1 усл. единице). При увеличении содержания белка и эритроцитов в крови ее вязкость может возрасти до 7-8 усл. единиц. Повышение вязкости крови приводит к увеличению сопротивления току крови по сосудам, что становится причиной повышения кровяного давления.

Осмотическое давление крови составляет 7,3 атм (745 кПа), оно создается преимущественно неорганическими веществами, главным образом хлоридом натрия. Для нормальной деятельности органов и клеток необходимо наличие определенных соотношений присутствующих ионов, т. е. оптимальный ионный состав плазмы. Эти соотношения учитывают при приготовлении физиологических растворов, соответствующих по составу и содержанию солей плазме крови.

В поддержании осмотического давления участвуют также белки плазмы. Давление, создаваемое ими, называют онкотическим. Оно составляет 1/20-1/30 атм, или 35-45 мм рт. ст. (3,8-4,5 кПа). Онкотическое давление играет важную роль в обмене воды между кровью и тканевой жидкостью, в процессах образования мочи и лимфы. В регуляции постоянства осмотического давления участвуют почки, потовые железы и пищеварительный тракт.

Искусственные растворы, осмотическое давление которых равно давлению плазмы, называют изотоническими, или изоосмотическими. Изотонические растворы, содержащие основной набор тех же солей, что и плазма, называют физиологическими. Растворы с меньшим, чем у плазмы крови, осмотическим давле-

нием называют гипотоническими, а с большим – гипертоническими. Отклонение осмотического давления от нормальных величин отражается на структуре и функции клеток крови. Это необходимо учитывать при внутривенных введениях питательных или лечебных растворов.

Активная реакция (рН) крови определяется концентрацией гидроксильных ( $\text{OH}^-$ ) и водородных ( $\text{H}^+$ ) ионов и составляет для венозной крови 7,35, артериальной – 7,40. Постоянство рН крови поддерживается деятельностью выделительных органов и наличием в крови и тканях буферных систем. Буферные системы образованы смесью слабой кислоты и основания (или щелочной соли). Различают гемоглобиновую, белковую, фосфатную и карбонатную буферные системы.

Гемоглобиновый буфер характерен для эритроцитов. Он представлен системой «дезоксигемоглобин – оксигемоглобин». При прохождении эритроцита по капиллярам тканей и накоплении в эритроцитах избытка  $\text{H}^+$ , дезоксигемоглобин, теряя  $\text{K}^+$ , присоединяет к себе ион  $\text{H}^+$ . Этот процесс предупреждает закисление среды, несмотря на поступление в кровь большого количества двуокиси углерода. В легочных капиллярах в результате повышения парциального давления кислорода гемоглобин присоединяет кислород и отдает ионы  $\text{H}^+$ , которые используются для образования  $\text{H}_2\text{CO}_3$ , и затем выделяется в составе водяных паров.

Белковый буфер – благодаря наличию в составе белков плазмы щелочных и кислых аминокислот белок связывает свободные ионы  $\text{H}^+$  и таким образом препятствует закислению среды; параллельно он способен сохранить рН среды при ее защелачивании.

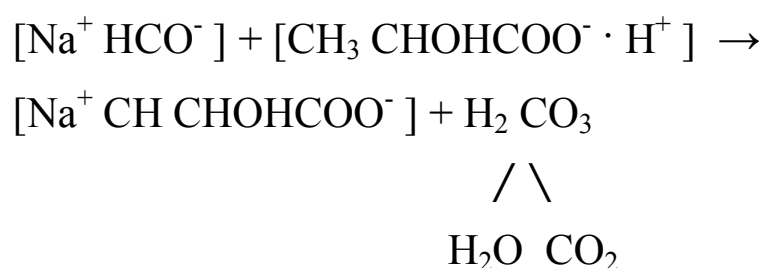
Фосфатный буфер представлен дву- и однозамещенными натриевыми солями фосфорной кислоты –  $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$  – в соотношении 4:1. При накоплении в крови кислого продукта образуется однозамещенный фосфат натрия ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) – менее кислый продукт, а при защелачивании – двузамещенный фосфат ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ). Избыток каждого из компонентов фосфатного буфера удаляется с мочой.

Карбонатный буфер представлен гидрокарбонатом натрия ( $\text{NaHCO}_3$ ) (в эритроцитах калия –  $\text{KHCO}_3$ ) и угольной кислотой ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ) в соотношении 20:1. При появлении в крови избытка ионов  $\text{H}^+$  он взаимодействует с гидрокарбонатом натрия с образова-

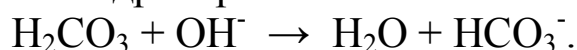
нием нейтральной соли и угольной кислоты, избыток которой выводится легкими. При защелачивании крови второй компонент карбонатного буфера – угольная кислота обеспечивает образование гидрокарбоната натрия и воды; их избыток удаляется через почки.

Основная буферная способность крови обеспечивается гемоглобином (более 70%), а в тканях – белками и фосфатами.

Буферные системы преимущественно препятствуют смещению активной реакции в кислую сторону, т. к. сильные кислоты (например, молочная) буферизируются (нейтрализуются) гидрокарбонатом и замещаются угольной кислотой, образуя соли сильных кислот, что сдерживает сдвиг активной реакции в кислую сторону:



Свободная угольная кислота может связывать и ионы  $\text{OH}^-$  с образованием ионов гидрокарбоната:



Запас гидрокарбонатов плазмы, способных нейтрализовать поступающие в кровь кислые продукты метаболизма, называют щелочным резервом крови. Он выражается количеством (мл)  $\text{CO}_2$ , которое может связать 100 мл крови при напряжении  $\text{CO}_2$  в плазме, равном 40 мм рт. ст. В норме щелочной резерв составляет 55-70 мл и величина его зависит от вида, возраста, характера питания, физиологического состояния животного. У молодых животных он ниже, чем у взрослых, и значительно уменьшается после интенсивной мышечной нагрузки. Снижение резервной щелочности подавляет выносливость организма к длительным физическим нагрузкам, поэтому щелочной резерв, как один из показателей метаболического профиля, используется для оценки состояния здоровья.

Поддержание относительного постоянства соотношения водородных и гидроксильных ионов – кислотно-основное состояние (КОС) – определяет оптимальный характер обменных про-

цессов и физиологических функций и является наиболее жестко регулируемым параметром внутренней среды организма. Основные физиологические показатели КОС следующие: актуальный рН, парциальное напряжение  $\text{CO}_2$ , актуальный бикарбонат крови, стандартный бикарбонат крови, буферные основания крови, избыток или дефицит буферных оснований крови.

Основу внутренней среды организма составляет вода, ее молекулы при диссоциации дают ионы водорода и гидроксила:  $\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}^+ + \text{OH}^-$ . Соотношение их концентраций определяет актуальную реакцию крови ( $\text{pH}_{\text{акт.}}$ ), т. е. существующую в организме в данный момент кислотность или щелочность внутренней среды. Актуальная реакция среды определяет: условия функционирования белков; активность ферментов, витаминов и микроэлементов; направление процессов окисления и восстановления; интенсивность катаболизма и синтеза белков, липидов, углеводов. Изменения актуальной реакции среды влияют также на функции клеток, тканей, органов и систем.

Парциальное напряжение  $\text{CO}_2$  ( $\text{Pco}_2$ ) определяется напряжением  $\text{CO}_2$  над кровью при полном насыщении крови растворенным в ней  $\text{CO}_2$  при  $t=38^\circ\text{C}$ . В физиологических условиях  $\text{Pco}_2$  в покое составляет 40 мм рт. ст. с пределами колебаний от 35 до 45 мм рт. ст. При произвольной задержке дыхания напряжение углекислоты может достигать 90 мм рт. ст., а при гипервентиляции легких – снижаться до 20 мм рт. ст.

Актуальные бикарбонаты крови (АБ) характеризуют истинную концентрацию аниона  $\text{HCO}_3^-$  при фактическом состоянии плазмы артериальной крови в кровяном русле. В физиологических условиях АБ колеблются от 22 до 25 ммоль·л<sup>-1</sup>.

Стандартные бикарбонаты крови (СБ) отражают содержание аниона  $\text{HCO}_3^-$  при стандартных условиях, т. е. полном насыщении крови  $\text{O}_2$ ,  $t=38^\circ\text{C}$ ,  $\text{Pco}_2$ , равном 40 мм рт. ст. Показатель отражает исключительно метаболические процессы в организме, не связанные с дыханием. У здоровых людей АБ и СБ различаются незначительно.

Буферные основания крови (БО) характеризуют общую сумму концентрации анионов цельной крови, обладающих буферными свойствами при условии полного насыщения крови  $\text{O}_2$ ,  $t=38^\circ\text{C}$  и  $\text{Pco}_2$ , равном 40 мм рт. ст. В физиологических условиях величина БО составляет около 49 ммоль·л<sup>-1</sup>.



Избыток буферных оснований крови (ИБО) – наиболее важный метаболический параметр КОС крови. Он характеризует разницу между фактической величиной БО, найденных у исследованного человека (или животного), и значениями БО, определенных в стандартных условиях. На практике значение этого параметра определяют экспериментально: методом титрования крови рассчитывают, какое количество (миллимоль) кислоты/щелочи следует добавить к 1 л артериальной крови для приведения ее рН к 7,4 в стандартных условиях: температуре крови 38°C,  $P_{CO_2}$ , равном 40 мм рт. ст., 100% насыщении крови  $O_2$ , содержании гемоглобина 150 г·л<sup>-1</sup> и концентрации протеинов в плазме 70 г·л<sup>-1</sup>. Вследствие трудоемкости такого титрования на практике значения ИБО находят по специальным номограммам (Г. Рут, 1978; Ф.И. Комаров и соавт., 1981). Если число БО в исследуемой крови оказывается выше, чем стандартный показатель БО, параметр ИБО обозначается со знаком плюс, а если ниже – со знаком минус, и тогда получаемое значение называют «дефицит БО». В физиологических условиях диапазон колебаний ИБО в артериальной крови составляет от –2 до +2.

КОС среды обуславливает биофизические свойства клеток и молекул, в частности, проницаемость клеточных мембран. Являясь интегральным показателем внутренней среды организма, параметры КОС зависят от состояния клеточного метаболизма, газотранспортной функции крови, процессов внешнего дыхания, питания и пр. Несмотря на хорошую защищенность, сдвиг КОС в кислую сторону (рН 7,3-7,0) свидетельствует об ацидозе, а в щелочную (рН 7,45-7,8) – об алкалозе.

Ацидоз бывает респираторный, он обусловлен нарушением выделения  $CO_2$  в легких (при пневмонии) и нереспираторный, или метаболический, возникающий при накоплении нелетучих жирных кислот (молочной кислоты) при недостаточности кровообращения, уремии и отравлениях. Алкалоз также может быть респираторным при гипервентиляции легких и метаболическим вследствие потери кислот и накопления в организме оснований.

Различают компенсированный и декомпенсированный ацидоз и алкалоз. В первом случае изменения рН незначительны и щелочной или кислотный резервы крови способствуют сохранению рН. При декомпенсированных формах запасы резервов су-

щественно снижаются и сдвиги рН более выражены. Лабораторные исследования и клинические наблюдения показали, что крайние, совместимые с жизнью, пределы изменений рН крови составляют 7,0-7,8 (от 16 до 100 нмоль·л<sup>-1</sup>).

## **2.3. ФОРМЕННЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ КРОВИ**

### **2.3.1. Эритроциты**

Эритроциты обеспечивают транспорт респираторных газов (кислорода и двуокиси углерода), аминокислот, гормонов (путем адсорбции их на поверхности), участвуют в иммунитете, поддержании активной реакции (рН) крови.

**2.3.1.1. Количество и классификация.** Количество эритроцитов, как и других клеток крови, относительно постоянно для конкретного вида животных, хотя и зависит от возраста, физиологического состояния организма и условий окружающей среды.

Особенностью эволюционной динамики тканей внутренней среды является усложнение взаимодействий между отдельными клеточными элементами внутри каждой дивергентно дифференцирующейся разновидности. Наибольшей сложности организации процессы размножения и дифференцировки форменных элементов крови характерны для позвоночных животных (А.А. Заварзин, 1985).

Ученые полагают, что в эволюции позвоночных произошло заметное увеличение концентрации эритроцитов, что находится в обратной зависимости с их размерами (Л.И. Иржак, 1983; А.И. Клиорин, Л.А. Тиунов, 1974). Продолжительность жизненного цикла большинства дифференцированных клеточных элементов, функционирующих в русле, сокращается (А.А. Заварзин, 1985).

П.А. Коржуев (1949, 1964) не отмечает отчетливой зависимости количества эритроцитов от положения животного в эволюционном ряду. Между тем в пределах параллельных рядов наземных и водных позвоночных проявляется одна и та же тенденция – увеличение количества эритроцитов при переходе от низших форм к высшим. Установлена зависимость между активностью животного и количеством эритроцитов в пределах одной таксономической группы: активные животные имеют более высокие значения концентрации эритроцитов крови.

По литературным данным, наибольшее количество эритроцитов характерно для млекопитающих, в  $1 \text{ мм}^3$  крови которых в среднем содержатся 9,27 млн эритроцитов. У других животных,  $1 \cdot 10^{12} \cdot \text{л}^{-1}$  крови: у птиц – 3,0; рептилий – 0,90; бесхвостых амфибий – 0,46; хвостатых амфибий – 0,08; костистых рыб – 2,0; хрящевых рыб – 0,16; у круглоротых – 0,14 (П.А. Коржуев, 1949). Количество эритроцитов у взрослого мужчины составляет  $3,9\text{-}5,5 \cdot 10^{12} \cdot \text{л}^{-1}$ , у женщины –  $3,7\text{-}4,9 \cdot 10^{12} \cdot \text{л}^{-1}$  крови.

Эритроциты позвоночных по форме разделяются на две группы: плоские эллипсоиды с хорошо заметным ядром (рыбы, амфибии, рептилии, птицы) и лишенные ядра дискоциты (млекопитающие) (Д.И. Гольдберг и соавт., 1973). У некоторых беспозвоночных, как и у млекопитающих, зрелые эритроциты лишены ядер. Такие безъядерные эритроциты обнаружены в полостной жидкости у одной из офиур и в крови полихеты *Magellona papillicornis*. Безъядерные эритроциты *Magellona papillicornis* характеризуются мелкими размерами и способностью к гемолизу (П.А. Коржуев, 1949; Д.И. Гольдберг и соавт., 1973).

Размеры эритроцитов индивидуальны и используются для характеристики различных систематических групп животных. Определение диаметра клетки позволяет вычислить ее объем, поверхность и судить о размерах капилляров тела животного. У позвоночных животных наименьший диаметр эритроцитов свойствен млекопитающим, а среди них – животным из группы жвачных (парнокопытных), в частности мускусной кабарге, лани, дикой и домашней козе (Д.И. Гольдберг и соавт., 1973; П.А. Коржуев, 1954). У животных, обладающих ядерными эритроцитами, наименьшие размеры клеток красной крови у птиц (В.Н. Никитин, 1956), что связывают с их теплокровностью и интенсивным метаболизмом (А.А. Заварзин, 1983). Наиболее крупные эритроциты – у хвостатых амфибий, а среди этой группы животных – у амфиумы, имеющей гигантские эритроциты – 70 мкм по длинной и 1 мкм по короткой осям клетки, у протей эритроциты несколько меньше – соответственно 58 и 35 мкм. У млекопитающих животных колебания размеров эритроцитов наблюдаются в пределах от 21,0 до 10,6 мкм (П.А. Коржуев, 1949).

Размеры эритроцитов человека в сухих мазках равны 7,2-7,7 мкм. В изотонической среде эритроцит человека имеет несколько больший диаметр – 7,1-9,2 мкм (в среднем 8 мкм). Тол-

щина на утолщенном крае (высота тора) – 1,7-2,4 мкм, в центре – 0,9-1,2 мкм. В крови человека до 75% эритроцитов представлены нормоцитами со средним диаметром 7,5 мкм (7,2-7,7 мкм), 12,5% составляют микроциты и 12,5% – макроциты. Изменение размеров эритроцитов коррелирует с характером заболевания (Т.С. Истаманова и соавт, 1973; А.В. Шашкин, И.А. Терсков, 1986).

Популяция эритроцитов неоднородна по форме. В норме в крови человека основную массу (80-90%) составляют эритроциты двояковогнутой формы – дискоциты. Кроме того, имеются платоциты (с плоской поверхностью) и стареющие формы эритроцитов – шиповидные эритроциты, или эхиноциты (~6%), куполообразные, или стоматоциты (~1-3%), и шаровидные, или сфероциты (~1%) (Исследование системы крови ..., 1997).

Среди многообразия факторов, определяющих форму эритроцита, выделяют: систему мембранных белков (цитоскелет); липидную компоненту мембраны, химический состав и возможную неоднородность ее вдоль мембраны; концентрацию ионов; АТФ;  $PO_2$ ; электростатические факторы (поверхностный заряд мембраны и состояние ионизации белков цитоскелета); состояние молекул гемоглобина, внутриклеточных структур.

Важнейшую роль в поддержании структурной целостности и нормальной формы эритроцита отводят цитоскелету. При обратимых трансформациях клетки форма цитоскелета не изменяется.

В крови здоровых людей 97% эритроцитов по форме дискоцитарные клетки, с гладкой поверхностью, диаметром 6,5-8,0 мкм. Дискоцит обладает высокой деформабельностью и эластичностью, что позволяет ему продвигаться в крупных сосудах и мелких капиллярах диаметром до 3-5 мкм. Такая способность к изменению формы обусловлена метаболизмом клетки, она может снижаться при различной патологии (Ю.К. Новодержкина и соавт., 2004).

Эритроциты способны подвергаться обратимым и необратимым трансформациям, в связи с чем выделяют обратимые и необратимые формы эритроцитов. При обратимых трансформациях эритроцитов основным фактором, вызывающим изменения формы нормальных клеток, является ионный состав среды, окружающей эритроцит. Эти формы, как переходные, могут также появляться в процессе старения клетки (В.И. Сороковой и соавт., 1996).

Хорошо известным примером обратимой трансформации является переход дискоцита к эхиноциту. Эхиноциты – сферические клетки, на поверхности которых располагается до 30-50 спикул. При этом отношение поверхности к объему ( $S/V$ ) остается неизменным. Трансформация дискоцит – эхиноцит в начальной стадии обратима. Установлено, что спикулы могут появляться вновь на поверхности клетки, при этом каждый раз в одном и том же месте (J.D. Bessman, 1980). Замечено, что близость любой стеклянной поверхности способствует образованию эхиноцитов (рис. 1).

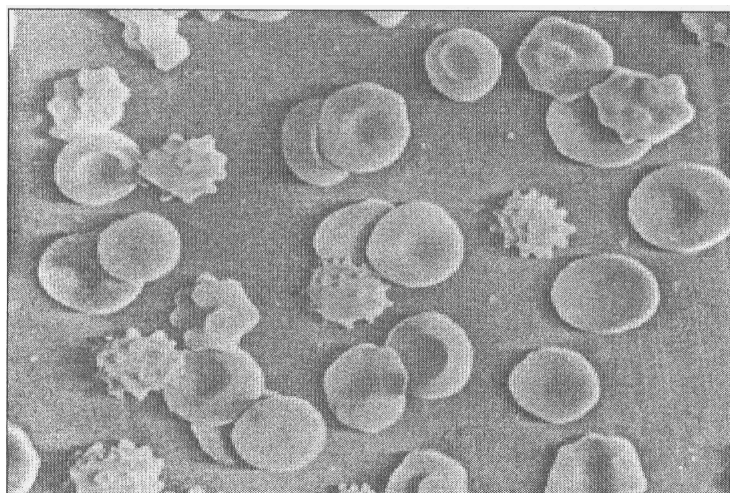
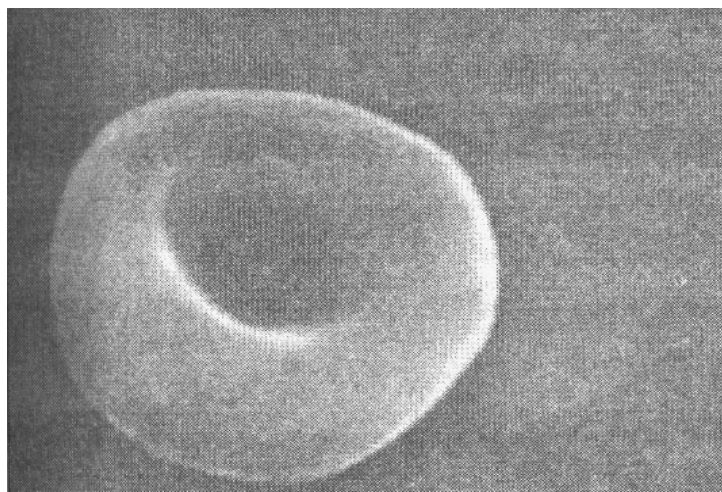


Рис. 1. Эхиноциты всех стадий трансформации (дискоцит – эхиноцит – сфероцит).  $\times 3000$  (Ю.К. Новодержкина и соавт., 2004)

Образование стоматоцита представляет другой вариант обратимой трансформации эритроцитов. Стоматоциты – эритроциты в виде «спущенного мяча». В зависимости от положения в мазке крови они выглядят как округлые клетки с большим щелевидным пэллором либо как «шлемовидные» клетки. Факторами, вызывающими трансформацию дискоцита в стоматоцит, могут стать непроникающие анионы, или катионные амфиофилы. Гипотетически связывают стоматоцитогенные эффекты непроникающих анионов с их способностью изменять трансмембранный градиент рН (Ю.К. Новодержкина и соавт., 2004).

Низкий уровень рН и наличие стоматоцитогенных агентов могут ингибировать кальциевый насос и вызывать характерные изменения формы клеток по кальцийзависимому механизму. Блокада кальциевого насоса способна приводить либо к перераспределению, либо к накоплению кальция, или изменить взаимодействие мембраны с кальцием с последующей трансформацией клетки в стоматоцит (рис. 2).



*Рис. 2.* Стоматоцит II стадии трансформации, вогнутый диск с одной стороны.  $\times 10500$  (Ю.К. Новодержкина и соавт., 2004)

Необратимо измененные клеточные формы появляются в патологических условиях. В современной гематологии общепризнана классификация «необратимо измененных» эритроцитов в виде шести групп (В.М. Погорелов, Г.И. Козинец, 2005; М. Bessis, 1973).

I. Клетки, сохраняющие дискоидную форму, появление которых связано с нарушениями в синтезе гемоглобина:

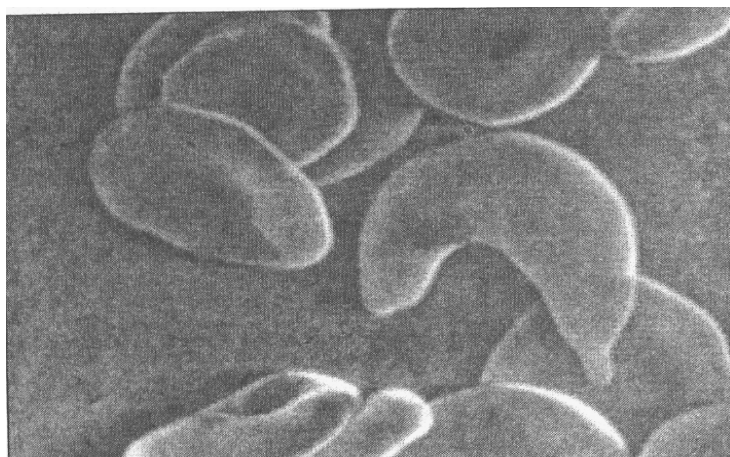
– микроциты – клетки с диаметром менее 6,5 мкм и лептоциты – тонкие клетки с нормальным диаметром. Все они имеют уменьшенный объем (МСV) и пониженное содержание гемоглобина (МСН) вследствие нарушения его синтеза, что характерно для анемий (железодефицитной), при хронических болезнях, гемоглобинопатиях;

– макроциты – клетки с увеличенным диаметром ( $>8,5$  мкм) и объемом ( $>110$  мкм<sup>3</sup>). Появление макроцитов происходит при усиленном эритропоэзе, В<sub>12</sub>- и фолиеводефицитных анемиях; среднее содержание гемоглобина в клетке более 40 пг. Площадь пэллора уменьшена, или он не выявляется. При усиленном эритропоэзе макроциты имеют обычную круглую форму;

– анулоциты – гипохромные эритроциты с широким просветлением в центре клетки в виде бублика или кольца. Как правило, маркируют железодефицитную анемию.

II. Клетки, форма которых изменена за счет присутствия патологических форм гемоглобина:

– дрепаноциты (серповидные клетки) характерны для серповидноклеточной анемии, содержат гемоглобин S, способный полимеризоваться и деформировать мембрану, особенно при низком значении P<sub>O<sub>2</sub></sub> (рис. 3).

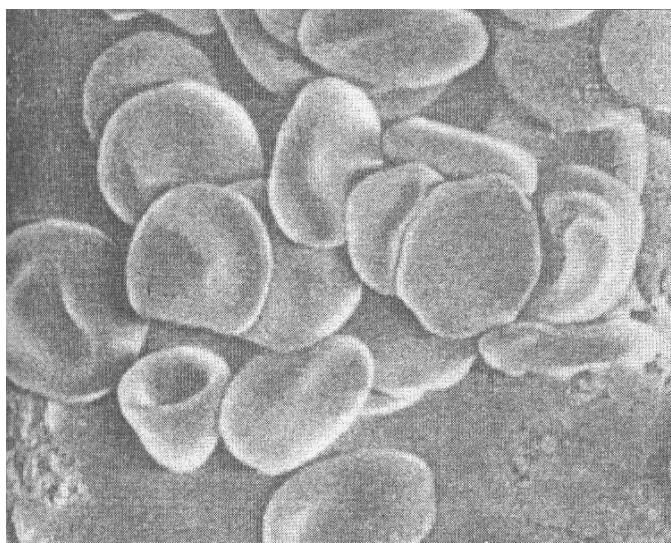


*Рис. 3.* Серповидный эритроцит периферической крови больного несфероцитарной гемолитической анемией.  $\times 3500$ .  
(Ю.К. Новодержкина и соавт., 2004)

III. Клетки с первичным нарушением функции липидного компонента мембраны:

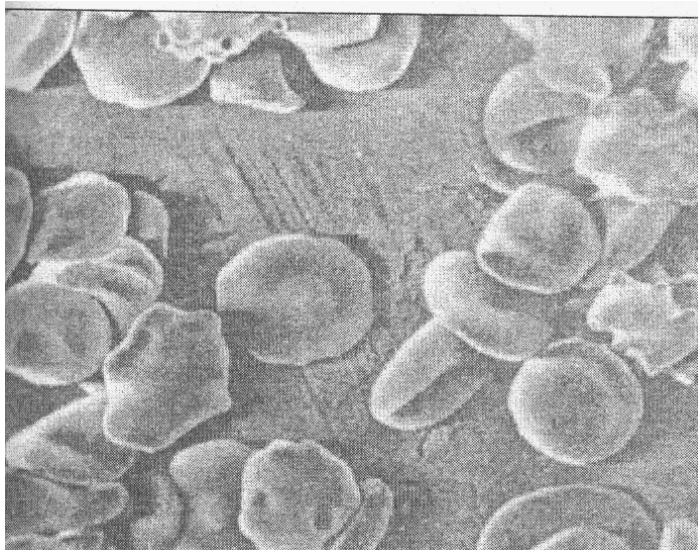
– ланоциты – тонкие макроциты. Характеризуются увеличенным диаметром и нормальным объемом. Форма их обычно круглая, а область паллора увеличена. В мазке часто встречаются вместе с мишеневидными клетками. Содержание холестерина и лецитина в мембране увеличено. Наблюдаются при болезнях печени, алкоголизме, после спленэктомии;

– кодоциты, или мишеневидные клетки (target cells). Площадь поверхности увеличена за счет избыточного включения холестерина. Особенно часто появляются при обструктивной желтухе (до 75% всех клеток), талассемии, гемоглобинопатиях С и S, железодефицитной анемии (рис. 4);



*Рис. 4.* Кодоцит. Форма эритроцита в виде колокола.  $\times 2600$ .  
(Ю.К. Новодержкина и соавт., 2004)

– акантоциты – сферические эритроциты без пэллора, с множественными нерегулярно расположенными выростами (от 3 до 12 спикул), которые в отличие от эхиноцитов не способны к возврату в нормальное состояние при помещении в свежую плазму. Длина и толщина спикул сильно варьируют. Объем, площадь поверхности, содержание гемоглобина обычно близки к норме (рис. 5):



*Рис. 5.* Акантоцит с булавовидным расширением на конце.  $\times 2600$ .  
(Ю.К. Новодержкина и соавт., 2004)

– дакриоциты, или каплевидные клетки (tear drop cells). В отличие от акантоцитов имеют одну большую спикулу и часто содержат включение – тельце Гейнца; как правило, микроциты типичны для миелофиброза.

IV. Клетки с нарушениями белков транспортных систем (нарушение транспортной функции мембраны):

– ксероциты – уплотненные дегидратированные клетки нерегулярной формы. Характерны для наследственной болезни семейного ксероцитоза.

V. Клетки с нарушениями белков спектриновой сети (нарушение механической функции мембраны):

– микросфероциты – небольшие (5,7-6,9 мкм) эритроциты сферической формы с отсутствием центрального просветления (пэллора), модификация или исчезновение спектрина в которых приводят к неустойчивости мембраны;

– сфероциты представляют терминальную стадию, в которую переходят эхиноциты, акантоциты и стоматоциты при необратимом повреждении и естественном старении;



– элптоциты (овалоциты) – эритроциты овальной формы. В норме составляют менее 1% всех клеток, а при анемиях (талассемия, железодефицитная и мегалобластная анемии) их содержание доходит до 10% (рис. 6).

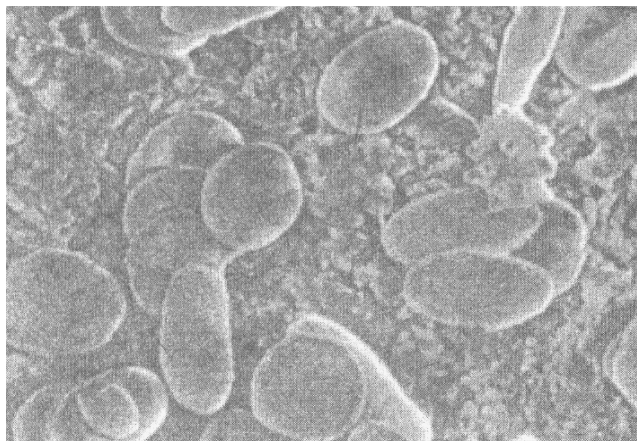


Рис. 6. Элптоциты.  $\times 1700$ . (Ю.К. Новодержкина и соавт., 2004)

VI. Клетки, появление которых обусловлено аутоиммунными механизмами:

– «укушенные» клетки (дегмациты), эксцентроциты и полутени. При воздействии солей тяжелых металлов (в основном свинца), органических соединений изменяются антигенные свойства эритроцитов и они становятся мишенью для макрофагов, которые «откусывают» часть клетки. Часто наблюдаются тельца Гейнца;

– шизоциты и шлемовидные клетки – мелкие, с диаметром меньше 4 мкм, клетки нерегулярной формы, фрагменты клеток. Встречаются при гемолитической анемии.

При высыхании мазка линейные размеры эритроцитов уменьшаются на 10-20%. Исследователи отмечают, что обычная световая микроскопия дает неопределенность изображения краев микроскопируемого объекта (0,5 мкм): ошибка в определении диаметров составляет 6% и 20% – в определении средней толщины эритроцитов (В.А. Левтов и соавт., 1982). Для исключения субъективных ошибок при определении линейных размеров эритроцитов применяют различные способы анализа формы клеток. Теоретические исследования в области обработки медицинских изображений привели к созданию в ряде стран автоматизированных систем – анализаторов изображений. Изображение не-

сет в себе информацию об объекте и в этом смысле может рассматриваться как многомерный сигнал, описываемый функцией двух или большего числа переменных. Первые результаты цифровой обработки изображений стали применяться для автоматизированных подходов решения многих стандартных задач анализа медицинской видеоинформации (В.А. Сойфер, 2001).

Геометрическими характеристиками формы и размеров эритроцитов являются объем и площадь поверхности. Выявлена определенная зависимость между объемом и их количеством: чем больше эритроцитов, тем меньше их объем. Одна из важнейших физиологических характеристик эритроцитов – поверхность клеток. Гемодинамика обеспечивает протекание обмена на разделительных поверхностях систем «кровь – ткань» и «кровь – внешняя среда», структурная единица которой – эритроцит. Этот показатель трудно определить, т. к. эритроциты млекопитающих и других позвоночных не представляют по форме правильных геометрических тел.

**2.3.1.2. Структурная организация мембраны.** Эритроцит – гибкая эластичная структура, изменяющая свою форму при прохождении через капилляры тела. На электронных микрофотографиях – однородные или мелкозернистые электронно-плотные структуры, покрытые оболочкой толщиной 6-12 нм, гетерогенной в разных ее участках (Е.А. Шубникова, 1981).

Эритроцит человека имеет следующий химический состав, %: вода – 70-71; гемоглобин – 25-28; липиды – 5-7; углеводы, соли, ферменты – 3% (Т.С. Истаманова и соавт., 1973; В.А. Левтов и соавт., 1982).

Важнейший органоид эритроцита – плазматическая мембрана. Она выполняет функции механической оболочки с регулируемыми физическими свойствами и одновременно «координатора» работы клетки в зависимости от физических и химических сигналов, поступающих к ней (А.М. Казенов, М.Н. Маслова, 1987), играя, таким образом, ключевую роль в детерминации гомеостаза и функциональной способности клетки.

В современной мембранологии особое внимание уделяется структурной организации и функционированию биомембран, участвующих в интеграции регуляторных процессов и реакций клетки. Установлено, что уровень физиологической активности и

биоэнергетика во многом определяются физико-химическими свойствами мембран (в частности, качественным и количественным составом липидов и скоростью их обновления) (А.Г. Марачев и соавт., 1983).

Эритроцитарная мембрана – композитарная структура; ее основу составляет липидный бислой с асимметрично встроенными белками. Мембранные белки способны влиять на липиды, изменяя их молекулярную упорядоченность и ограничивая подвижность анулярных липидов, вызывая изменение низкочастотных колебаний липидной фазы, стимулируя разделение фаз и способствуя асимметричному распределению липидов (Биохимия мембран, 1986; А.А. Болдырев, 1985, 1990; J. Fujii, 1981; J.E. Smith, 1987). Липиды мембраны регулируют подвижность и активность внутримембранных белков, обеспечивая клетке селективную проницаемость и нормальное функционирование мембранных ферментов и рецепторов (Р. Геннис, 1997).

Наиболее детально изучена мембрана и цитоскелет эритроцитов млекопитающих животных (Э. Мэдди, 1979; Е.А. Черницкий, А.В. Воробей, 1981). Содержимое эритроцита представляет гидрофильную коллоидную систему, в которой дисперсная фаза состоит из гемоглобина, воды и солей, а непрерывная фаза – из воды и солей. В цитоплазме эритроцитов в больших количествах присутствуют гемоглобин, ферменты гликолитического цикла, органические соединения и неорганические ионы, состав и количество которых значительно отличается от аналогичных их показателей в плазме. Процентная доля стромы эритроцитов (отделенной от гемоглобина) у разных видов млекопитающих колеблется в пределах от 1 до 4%; у птиц она выше (около 13%), что обусловлено присутствием ядерного вещества (табл. 2).

Липиды эритроцитарных мембран представлены тремя классами: нейтральные липиды, гликолипиды и фосфолипиды. В составе мембраны они находятся в соотношении 30:10:60. В химическом составе мембраны преобладают фосфолипиды (фосфотидилхолин, фосфотидилсерин, фосфотидилэтаноламин, сфингомиелин) и холестерол (Я. Кагава, 1985; А.Д. Шалабодов, 1999); они во многом обуславливают свойства мембран (Е.М. Крепс, 1981).

Таблица 2

**Химический состав постгемолитического остатка  
(стромы) (Н. Williams, 1941)**

Составные части стромы	Корова	Овца	Ло- шадь	Чело- век	Птица
	<i>в % от общего остатка</i>				
Гемоглобин	5	2	10	23	5
Зола	3	3	2	5	2
Белки	57	68	53	50	89
Липиды	26	24	20	11	4
	<i>в % от общего количества липидов</i>				
Фосфолипиды	63	62	63	65	83
Свободный холесте- рол	27	20	34	20	14
Эфир холестерина	3	0	2	4	0
Нейтральный жир	8	18	1	11	3

Структурно мембраны липидов построены по единому принципу – на базе спиртов (глицерина, этиленгликоля). Молекула липида включает гидрофобные «хвосты» из предельных или непредельных жирных кислот и полярной головки, состоящей из фосфорной кислоты и этиленамина, серина, холина, инозита и др. (табл. 3).

Таблица 3

**Липидный состав эритроцитов крови человека  
и кишечной палочки, % от общего количества  
(В.Г. Артюхов и соавт., 2001)**

Липиды	Эритроциты человека	Мембрана E. coli
Фосфатидиновая кислота	1,5	0
Фосфатидилхолин	19,0	0
Фосфатидилэтаноламин	18,0	65
Фосфатидилглицерин	0,0	18,0
Фосфатидилинозит	1,0	0
Фосфатидилсерин	8,5	0
Кардиолипин	0,0	12
Сфингомиелин	17,5	0
Гликолипиды	10,0	0
Холестерол	25,0	0

Молекулы фосфолипидов формируют липидный бислой – основу структуры мембран эритроцитов. В составе молекулы фосфолипидов имеются остатки ненасыщенных жирных кислот,

содержащих от четырех до шести двойных связей, на долю которых приходится около 17% всех жирнокислотных остатков (R.A. Cooper, 1970). Плотность упаковки липидного бислоя эритроцитов зависит от степени ненасыщенности фосфолипидов и содержания холестерина, что отражается на упругих свойствах материала мембраны и величине модуля поверхностного сжатия. Фосфолипиды распространены неравномерно. Так, фосфатидилхолин и сфингомиелин являются основными компонентами внешней поверхности мембраны, а фосфатидилэтаноламин и фосфатидилсерин локализованы преимущественно на ее внутренней стороне. Миграция в мембране молекул фосфолипидов, их избирательный гидролиз, формирование небислойных липидных фаз в определенных участках мембраны играют важную роль в процессах образования везикул и разрушения красных клеток (T.L. Steck, 1974; S.R.P. Yndi et al., 1990). Молекулы холестерина расположены между молекулами фосфолипидов.

Большинство молекул белка сосредоточено на цитоплазматической поверхности липидного бислоя, который полностью пронизывает белок полосы 3 и гликофорин (T.L. Steck, 1974).

Поверхность мембраны замкнутая, состоит из фиксированного числа молекул и способна существовать в равновесном ненапряженном состоянии. Благодаря полярным группам молекулы фосфолипидов обладают амфифильными свойствами, что определяет высокое сродство их и водных растворов; наличие двух остатков жирных кислот придает им гидрофобные свойства. Особенности взаимодействия мембраны с водой зависят от площади контакта гидрофобных групп липидов с молекулами воды и от плотности упаковки молекул фосфолипидов в мембране (С.А. Сторожок и соавт., 1997).

Фосфатиды регулируют активный и пассивный транспорт веществ, определяют чувствительность клеток к действию лигандов, активность мембранных ферментов. Фосфатидилсерин, обладая иммуностимулирующей активностью, служит триггером для макрофагального удаления эритроцитов из кровотока. Фосфоинозитолы участвуют в генерации диацилглицерола, активирующего  $Ca^{2+}$ -фосфолипидзависимую протеинкиназу С и регулирующего работу  $Ca^{2+}$ -АТФазы и  $Ca^{2+}$ -каналов инозитол-1,4,5-трифосфата (А.А. Болдырев, 1985; M.J. Berridge, 1993). Поддержание соотношения между фракциями фосфолипидов обеспечивает нормальное функционирование эритроцита.

При дезорганизации мембранных липидов клетка утрачивает способность регулировать ионный и антиоксидантный гомеостаз, нарушаются активность мембранных ферментов и метаболизм, что ведет к необратимым изменениям структуры и физиологии эритроцита (Я. Кагава, 1985; А.А. Болдырев, 1990; Г.Н. Крыжановский, 2002): например, нарушаются микровязкостные свойства мембраны, оптимальный уровень ее текучести (в частности, подвижность углеродных атомов в углеродной цепи), длина углеродных цепей фосфолипидов, степень ненасыщенности жирных кислот (А.А. Болдырев, 1990).

При старении эритроцитов мембрана претерпевает структурную и метаболическую модификации, приводящие к их элиминации. В мембране уменьшается концентрация фосфолипидов и холестерина (без изменения содержания мембранных белков) и соответственно снижается соотношение липид/белок. Сравнение состава эритроцитарных мембран пожилых и молодых доноров выявило увеличение при старении организма отношения холестерол/фосфолипид (Е.А. Черницкий, А.В. Воробей, 1981). Работами зарубежных ученых установлено, что включение холестерина в мембраны липосом изменяет их упругие свойства: возрастают величина модуля поверхностного сжатия и критическое значение относительного увеличения площади мембраны и ее натяжения. Наблюдаемые эффекты холестерина на упругие свойства липидного бислоя мембраны ученые связывают с увеличением плотности упаковки фосфолипидов и уменьшением проницаемости мембран для воды (R. Fettiplace, D.A. Hydon, 1980; F.T. Presti et al., 1982; P.L. Yeagle, 1987).

Белки в эритроцитарной мембране распределяются неравномерно. По степени влияния на структуру липидного бислоя и силе взаимодействия с ним белковые компоненты мембраны эритроцитов делят на периферические, интегральные и полуинтегральные белки. Все компоненты полипептидного профиля мембраны эритроцита по функциональному назначению подразделяются на две группы: белковые компоненты, участвующие в формировании мембранного скелета (спектрин, анкирин, белки полос 4.1, 4.2, 4.9, актин), и полипептиды, обеспечивающие метаболизм и ионный гомеостаз (белок полосы 3 – анионный канал, гликофорин, аддуцин,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФаза,  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФаза и ацетилхолинэстераза, а также ряд белков полосы 4.5, обеспечивающих транспорт

моносахаридов и нуклеозидов, белок фракции 6, представляющий глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназу) (Е.А. Черницкий, А.В. Воробей, 1981; С.А. Сторожок и соавт., 1997; А.Д. Шалабодов, 1999; Н.В. Рязанцева, В.В. Новицкий, 2004; V. Bennet, 1985; C.W.M. Haest, 1982).

Липидно-белковое взаимодействие в мембране эритроцита обуславливает течение специфических мембранассоциированных процессов, включающих и транспорт ионов, обеспечивая, например, долгосрочное поддержание концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоле на низком уровне. Нарушение мембранного транспорта  $\text{Ca}^{2+}$ -вторичного мессенджера, участвующего в регуляции фактически всех процессов клеточного метаболизма, приводит к изменению функциональной активности зрелых эритроцитов (С.Н. Орлов, 1987; Z. Vazeska et al., 1997). Характерно, что  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФаза эритроцитарной мембраны, тонко регулируя кальциевый гомеостаз, находится сама под контролем регуляторов – кальмодулина и ряда модулирующих систем, обеспечивающих активность  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазы и ее сродство к ионам  $\text{Ca}^{2+}$ . Контроль за функциональным состоянием  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазы достигается изменением фосфорилирования энзима, что опосредуется активностью цАМФ-зависимой протеинкиназы и протеинкиназы С (С.Р. Lombardo, P.S. Zow, 1994).

Для ядерных эритроцитов типично наличие хорошо выраженного цитоскелета, формирующего микротрубочки в виде характерного кольца в субмембранной области клетки (А.А. Заварзин, 1985; А. Фултон, 1987).

Углеводы в составе мембран в свободном виде фактически не встречаются, они входят в состав белков (гликопротеиды) и липидов (гликолипиды). Углеводная часть белковой молекулы находится на поверхности мембраны, что связано с их функциональной ролью – осуществление межклеточных взаимодействий, ограничение подвижности белковых молекул, обеспечение иммунных реакций (Е.А. Черницкий, А.А. Воробей, 1981; А.Д. Шалабодов, 1999).

Структурная особенность эритроцитарной мембраны – наличие эластичной белковой сети цитоскелета, локализованного на внутренней поверхности липидного матрикса и связанного с интегральными белками. Взаимодействие белкового цитоскелета с липидным матриксом мембраны обеспечивает ее стабильность

(R.E. Waugh, R.G. Bauserman, 1995). Белковый цитоскелет обуславливает поведение мембраны эритроцита как упругого твердого тела (J.C. Hansen et al., 1996; J.K. Khodadad et al., 1996). Наиболее прост и вместе с тем хорошо изучен цитоскелет безъядерных эритроцитов. Основа его молекулярной структуры – спектрин-актиновый комплекс, содержащий добавочные белки 4.1 и 4.9. Спектрин-актиновое взаимодействие обеспечивают белок полосы 4.2, аддуцин (K.A. Gardner, V. Bennet, 1986; S. Mische et al., 1987), тропомиозин (V.M. Fowler, V. Bennet, 1984), тропоподулин (V.M. Fowler, 1987).

Основу белковой сети цитоскелета образуют молекулы спектрина. Гетеродимеры спектрина представлены  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединицами, которые взаимодействуют друг с другом концевыми фрагментами. В результате формируется гибкий многоугольник, в углах которого локализованы молекулы актина, белков полос 4.1, 4.9, тропомиозина и кальмодулинсвязывающего белка – аддуцина (рис. 7) (С.А. Сторожок и соавт., 1997).

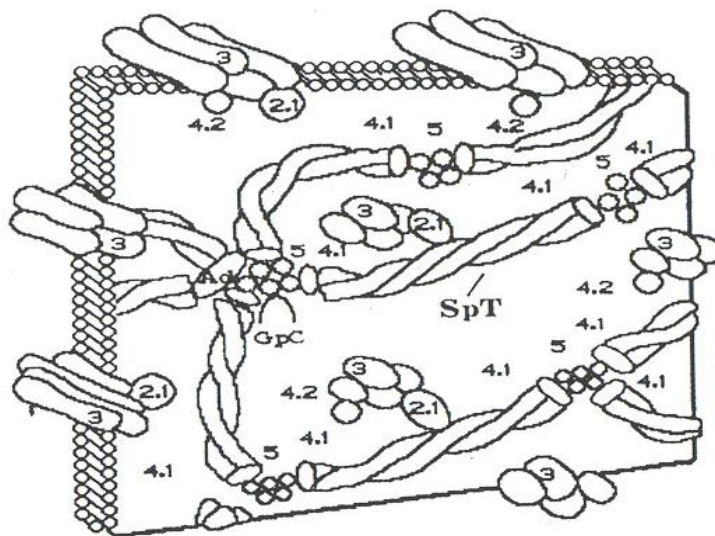


Рис. 7. Молекулярная структура цитоскелета мембраны эритроцита (С.А. Сторожок и соавт., 1997):

SpT – молекулы спектрина тетрамера; 2.1 – анкирин; 3 – интегральный белок полосы 3.1; GrC – гликофорин-С; Ad – аддуцин; 5 – актин; 4.1 и 4.2 – белки полос 4.1 и 4.2

Аддуцин и белок полосы 4.1. формируют тройные комплексы со спектринном и актином, обеспечивая спектрин-актиновую связь. Белок полосы 4.1 взаимодействует с молекулами спектрина; аддуцин и актин проявляют большое сродство (V. Bennet et al., 1988). Выявлена способность молекул гемоглобина образовать



вать комплексы с  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединицами спектрина в результате его взаимодействия с глобином. По мере старения клетки количество этих комплексов возрастает (С.Р. Keifer et al., 1995).

В процессе формирования стабильной структуры цитоскелета эритроидных клеток основную роль играют следующие факторы (С.А. Сторожок и соавт., 1997):

- опосредуемое рецепторами концентрирование молекул спектрина на цитоплазматической поверхности мембраны до уровня, достаточного для спекtrin-актиновых взаимодействий. Роль специфических рецепторов при этом выполняют молекулы фибронектина или аддуцина;

- связывание белка полосы 4.1 с мембраной и взаимодействие мембраносвязанных молекул белка полосы 4.1 со спекtrin-актиновым комплексом стабилизируют структуру цитоскелета;

- синтез и включение в структуру мембраны молекул анкирина и белка полосы 3, что обеспечивает фиксацию цитоскелета к липидному матриксу мембраны за счет спекtrin-анкирин-белка полосы 3-взаимодействий;

- наличие двух этапов формирования асинхронности синтеза белковых компонентов цитоскелета в эритроидных клетках – нестабильной и стабильной фаз структуры цитоскелета.

Эритроциты обладают уникальной способностью к изменениям формы и размеров, что позволяет им свободно проходить через микроциркуляторное русло. Деформации эритроцита обусловливаются молекулярной организацией мембраны и физико-химическими свойствами образующих ее молекул. Особая роль в обеспечении упругих способностей (при сдвиговой деформации) и поддержании формы клетки отводится белковому цитоскелету мембран эритроцитов, формирование которого завершается к моменту выхода ретикулоцитов из костного мозга в кровь (С.А. Сторожок, С.В. Соловьев, 1992). Деформация эритроцитов в кровеносном русле осуществляется за счет сил напряжения сдвига со стороны смещающихся слоев плазмы крови. Способность эритроцитов к обратимым изменениям размеров и формы названа деформабельностью.

Форма эритроцитов и их реологические свойства (деформабельность и способность к агрегации) играют важную роль в транспорте респираторных газов. Стабильность и деформабельность мембран эритроцитов во многом зависят от жесткости бел-

ковой сети цитоскелета, которую определяют межмолекулярные взаимодействия его белковых компонентов. Способность эритроцитов к деформации зависит от следующих основных факторов: 1) вязко-эластические свойства мембранного материала; 2) форма клеток (отношение площади поверхности к объему –  $S/V$ ); 3) вязкость внутриклеточного содержимого относительно вязкости внеклеточного раствора. С увеличением концентрации гемоглобина в эритроците и, соответственно, с увеличением вязкости внутриклеточного содержимого изменяется отношение  $S/V$  и, как следствие, снижается деформабельность клетки (В.А. Левтов и соавт., 1982).

Деформация сдвига, при которой происходят изменения формы и линейных размеров клеток при постоянной величине площади поверхности мембраны, сопровождается изменением расположения молекул спектрина на внутренней поверхности липидного бислоя. При значительных деформациях мембраны может произойти разрыв белковой сети цитоскелета в местах взаимодействия молекул спектрина (предел стабильности мембран), что приводит к фрагментации мембран эритроцитов (С.В. Соловьев, 1989). Установлено, что функциональная активность цитоскелета находится под регуляторным контролем ряда механизмов, таких, как фосфорилирование и кальциевый обмен. Увеличение концентрации кальция в цитоплазме приводит к изменению формы, снижению продолжительности жизни и деформабельности эритроцита (N.V. Seidler, N.I. Swisloski, 1991).

Помимо цитоскелета важную роль в поддержании формы эритроцита отводят мембране. Предложено несколько гипотез о статических реологических свойствах мембраны эритроцита, определяющих его форму: 1) гипотеза о роли электростатических сил, ответственных за поддержание дискообразной формы; 2) гипотеза «спонтанной» кривизны двумерного материала (тенденция каждого участка мембраны приобрести в покое кривизну, зависящую от состава); 3) гипотеза о локальной сократительной реакции участков мембраны при участии  $Ca^{2+}$  под влиянием трансформирующих воздействий.

Согласно существующему мнению, диск сохраняет форму под влиянием факторов, уменьшающих ограничиваемый эритроцитарной мембраной объем. Один из них – работа  $Na^+$ -помпы. Выкачивая ионы  $Na^+$  из клетки, помпа создает такое

распределение ионов в системе эритроцит – плазма крови, при котором возникает избыточное давление снаружи клетки. В этих условиях равновесный объем эритроцитов оказывается меньше максимальной, возможной для данной величины его площади поверхности. При блокировании работы  $\text{Na}^+$ -помпы осмотическое давление в эритроцитах возрастает, что приводит к сферуляции клеток и минимальному отношению  $S/V$  (В.А. Левтов и соавт., 1982).

Мембрана эритроцита несет отрицательный заряд. Наличие одноименного заряда у эритроцитов препятствует их оседанию. В норме скорость оседания эритроцитов (СОЭ) незначительна и составляет 3-9 мм/ч у мужчин и 7-12 мм/ч у женщин. При воспалительных процессах в организме, инфекционных заболеваниях, при беременности у женщин и других состояниях СОЭ может достигать 35-60 мм/ч. Ускорение СОЭ обусловлено потерей эритроцитами отрицательного заряда за счет адсорбции на них продуктов воспаления, глобулинов и других веществ.

Нормальное функционирование эритроцитов обеспечивает стабильный электрический заряд. При патологических состояниях заряд может существенно изменяться в результате модификаций физико-химической структуры клеточной поверхности, а также вследствие нарушения состава окружающей среды. Величина заряда эритроцитарной мембраны определяется по электрофоретической подвижности клеток в электрическом поле (ЭФПЭ). Явление электрофореза состоит в том, что вокруг клетки в дисперсионной среде образуется двойной электрический слой (ДЭС), который со стороны среды состоит из постоянной и динамической частей. Если к дисперсионной среде приложить электрическое поле, то частицы в нем с постоянной частью ДЭС перемещаются в направлении соответствующего электрода. Между клеткой и средой при этом образуется электрофоретический, или  $\xi$ -потенциал (С.Г. Карасев и соавт., 1997).

Исследования, проведенные Абрамсоном, показали, что эритроциты имеют стабильные величины  $\xi$ -потенциала для одного и того же вида животных, но обнаруживают определенные отличия от других видов, что, вероятно, связано с эволюционной картиной развития дыхательной функции крови. Установлено, что основная роль в определении заряда эритроцитов принадлежит липидам-фосфатам, преимущественно кефалинам и остат-

кам сиаловых кислот. Кроме того, ЭФПЭ зависит от pH среды и срока хранения крови (С.С. Духин, Б.В. Дерягин, 1976).

На 1 мм<sup>2</sup> поверхности эритроцитов приходится 60 карбоксилосиаловой кислоты и 40 – слабых карбоксилосиалов, которые создают отрицательный заряд, оцениваемый по электрофоретической подвижности клеток, т.е. по скорости движения эритроцитов в постоянном электрическом поле:

$$b = \frac{l \cdot d}{t \Delta \varphi},$$

где  $l$  – путь;  $d$  – расстояние между электродами;  $t$  – время;  $\Delta \varphi$  – разность потенциалов.

Согласно уравнению Гельмгольца-Смолуховского:

$$\xi = \frac{4\pi\eta_0 l d}{t \varepsilon \Delta \varphi} = \frac{4\pi\eta_0 b}{\varepsilon},$$

где  $\eta_0$  – вязкость плазмы;  $\varepsilon$  – диэлектрическая проницаемость плазмы (для физиологического раствора – 76,9).

В физиологических условиях электрофоретическая подвижность эритроцитов человека равна 1,1-1,3 мкл/с (В/см). По ее изменению можно судить о функциональном состоянии эритроцитарных мембран при различных воздействиях. Электрофоретическая подвижность молодых эритроцитов выше, чем старых. В последнее время большое значение придается функциональному состоянию эритроцитарной мембраны со встроенными в нее рецепторами для антител. Таким образом, присутствие на поверхности эритроцитов небольшого количества антител может нарушить их нормальные физиологические функции в организме и изменить ЭФПЭ (Н.В. Пурло и соавт., 2005).

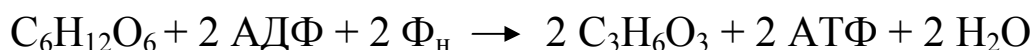
**2.3.1.3. Метаболизм эритроцита.** Зрелый эритроцит человека и высших млекопитающих животных не способен синтезировать белки (т. к. отсутствует ядро и рибосомы), нуклеиновые кислоты, липиды, метаболизировать пируват в цикле лимонной кислоты. Тем не менее, эритроцит метаболически активен.

Биохимические реакции, протекающие в зрелых эритроцитах, создают нормальное функционирование гемоглобина и выполнение основной функции клетки – транспорт кислорода. В процессе метаболизма в эритроцитах происходят генерирование

АТФ, образование и разрушение фосфатных эфиров, окисление и восстановление никотинамидадениновых нуклеотидов. В эритроцитах синтезируется ряд веществ, важных для жизнедеятельности клетки, например, глутатион, который обеспечивает окислительно-восстановительный статус клеток и поддерживает в активном состоянии ряд ферментных систем (Д. Мецлер, 1980).

В физиологических условиях эритроциты человека и многих животных утилизируют как источник энергии только глюкозу. Она проникает в эритроцит с помощью переносчика, расположенного в мембране, и не зависит от инсулина. Концентрация глюкозы во внутриэритроцитарной среде такая же, как и в плазме крови. Диффузия глюкозы в эритроцит не является лимитирующим фактором ее утилизации. Лишенный глюкозы, эритроцит погибает: утрачивает способность поддерживать градиент  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  на мембране, накапливает метгемоглобин и окисленный глутатион (особенно при окислительном стрессе), не генерирует АТФ (Э. Бойтлер, 1981; Л. Стайер, 1985; Биохимия человека, 1993).

Кислородная потребность эритроцитов по сравнению с ядерными клетками эритроидного ряда снижена приблизительно в 10 раз, что объясняется отсутствием в нормоцитах цитохромной системы. В процессе анаэробного гликолиза из одной молекулы глюкозы в эритроците синтезируются две молекулы АТФ и две молекулы молочной кислоты:



Несмотря на малую энергетическую эффективность гликолиза, в эритроцитах он обеспечивает потребность клеток в энергии. Энергия, освобождаемая при метаболизме глюкозы, расходуется для поддержания формы клеток, процесса активного транспорта катионов через клеточную мембрану, предотвращения окисления гемоглобина в метгемоглобин, для синтеза глутатиона.

При обеднении среды АТФ изменяется форма эритроцитов: поверхность их покрывается шипами (спикулами), клетки превращаются в эхиноциты, затем сфероциты и в конечном итоге подвергаются осмотическому лизису.

В эритроците глюкоза метаболизируется по двум основным путям: прямом гликолитическом (путь Эмбдена-Мейергофа) и в пентозофосфатном (табл. 4).

В пути Эмбдена-Мейергофа до 90% глюкозы катаболизируется до пирувата или лактата. Основное количество образующейся энергии запасается в виде макроэргического фосфата – АТФ, обеспечивающего превращение НАД<sup>+</sup> в НАД·Н, образуя коэнзим, который восстанавливает метгемоглобин до гемоглобина. В этом пути синтезируется важнейший модулятор сродства гемоглобина к кислороду – 2,3-дифосфоглицератфосфат (2,3-ДФГ). Снижая сродство гемоглобина и кислорода, 2,3-ДФГ стабилизирует дезоксигенированную форму гемоглобина.

Таблица 4

**Основные пути метаболизма глюкозы в эритроците (Э. Бойтлер, 1981)**

Путь Эмбдена-Мейергофа Г-6-Ф → лактат	Пентозофосфатный путь Г-6-Ф → CO <sub>2</sub> + пентоза + триоза и т.д.
<p>АДФ → АТФ (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-насос)</p> <p>НАД → НАД·Н (восстановление MetHb)</p> <p>1,3-ДФГ → 2,3-ДФГ (регуляция кислородной диссоциации)</p>	<p>НАДФ<sup>+</sup> → НАДФ·Н (восстановление GSSG и сульфидных связей в белках)</p> <p>Гексоза → пентоза (подготовка субстратов для синтеза нуклеотидов)</p>

Пентозофосфатный путь, как альтернативный гликолизу путь окисления глюкозы, значительно отличается от последнего: окисление глюкозы осуществляется на первой стадии, в которой участвует не НАД, как в гликолизе, а НАДФ; один из продуктов – CO<sub>2</sub>, который в реакциях гликолиза не образуется; пентозофосфатный путь не генерирует АТФ; в реакциях восстановительного синтеза НАДФ используется восстановленный глутатион.

В пентозофосфатном пути (ПФП) в физиологических условиях потребляется около 10% метаболизируемой глюкозы. На его начальном этапе обязательно присутствие кислорода. Скорость метаболизма в ПФП контролируется наличием НАДФ<sup>+</sup>. При окислительном стрессе НАДФ·Н окисляется до НАДФ<sup>+</sup> и потребление глюкозы эритроцитом увеличивается.

Главнейшая функция ПФП – поддержание НАДФ<sup>+</sup> в его восстановленной форме – НАДФ·Н. Этот коэнзим необходим для поддержания в восстановленной форме глутатиона, играющего важную роль в защите эритроцита от перекисного повреждения. При восстановлении НАДФ<sup>+</sup> до НАДФ·Н первый углерод глюко-

зы окисляется до  $\text{CO}_2$ , и образуется пентоза. В эритроците пентоза используется для синтеза нуклеотидов или (в ходе дальнейшего метаболизма) для образования трех- и шестиугольных сахаров – основных метаболитов пути Эмбдена-Мейергофа. Таким образом объединяются оба пути метаболизма глюкозы: глюкоза, проходящая через ПФП, после пересечения с прямым гликолитическим путем обмена глюкозы (путь Эмбдена-Мейергофа) частично может использоваться для образования АТФ и 2,3-ДФГ.

*Прямой гликолитический путь обмена глюкозы (путь Эмбдена-Мейергофа).* На первом этапе гликолитического обмена глюкоза фосфорилируется гексокиназой до глюкозо-6-фосфата (Г-6-Ф). Для осуществления реакции необходимы АТФ (донор фосфора) и  $\text{Mg}^{2+}$  (кофактор). Г-6-Ф занимает важнейшее положение в области стыковки в эритроците двух путей: гликолиза (путь Эмбдена-Мейергофа) и пентозофосфатного (рис. 8).

Вторая стадия в пути Эмбдена-Мейергофа – изомеризация Г-6-Ф до фруктозо-6-фосфата (Ф-6-Ф) при участии глюкозофосфатизомеразы (ГФИ) (фосфогексоизомеразы). «Обращение» глюкозофосфатизомеразной реакции ответственно за «рециклирование» Г-6-Ф, которая входит в ПФП.

Третья стадия в пути Эмбдена-Мейергофа – еще одно фосфорилирование Ф-6-Ф, осуществляемое АТФ, до фруктозо-1,6-дифосфата (Ф-1,6-ДФ); оно катализируется фосфофруктокиназой (ФФК). В эритроците эта реакция необратима (в физиологических условиях) и представляет собой наиболее существенную стадию в гликолизе.

Четвертая стадия состоит в расщеплении Г-1,6-ДФ с образованием глицеральдегид-3-фосфата (ГАФ) и дигидроксиацетонфосфата (ДАФ). Это превращение катализируется альдолазой. В эритроците ГАФ и ДАФ находятся в равновесии благодаря двум ферментам –  $\alpha$ -глицерофосфатдегидрогеназе и трифосфатизомеразе (ТФИ) (фосфотриозоизомеразе).

ГАФ находится на «столбовом» пути гликолиза и непрерывно превращается в нестабильный интермедиат – 1,3-дифосфоглицерат (1,3-ДФГ). Реакция обратима, катализируется глицеральдегидфосфатизомеразой (ГАФД) и нуждается в присутствии неорганического фосфата. В эритроците это единственная метаболическая стадия, в которой неорганический фосфат включается в сахара.

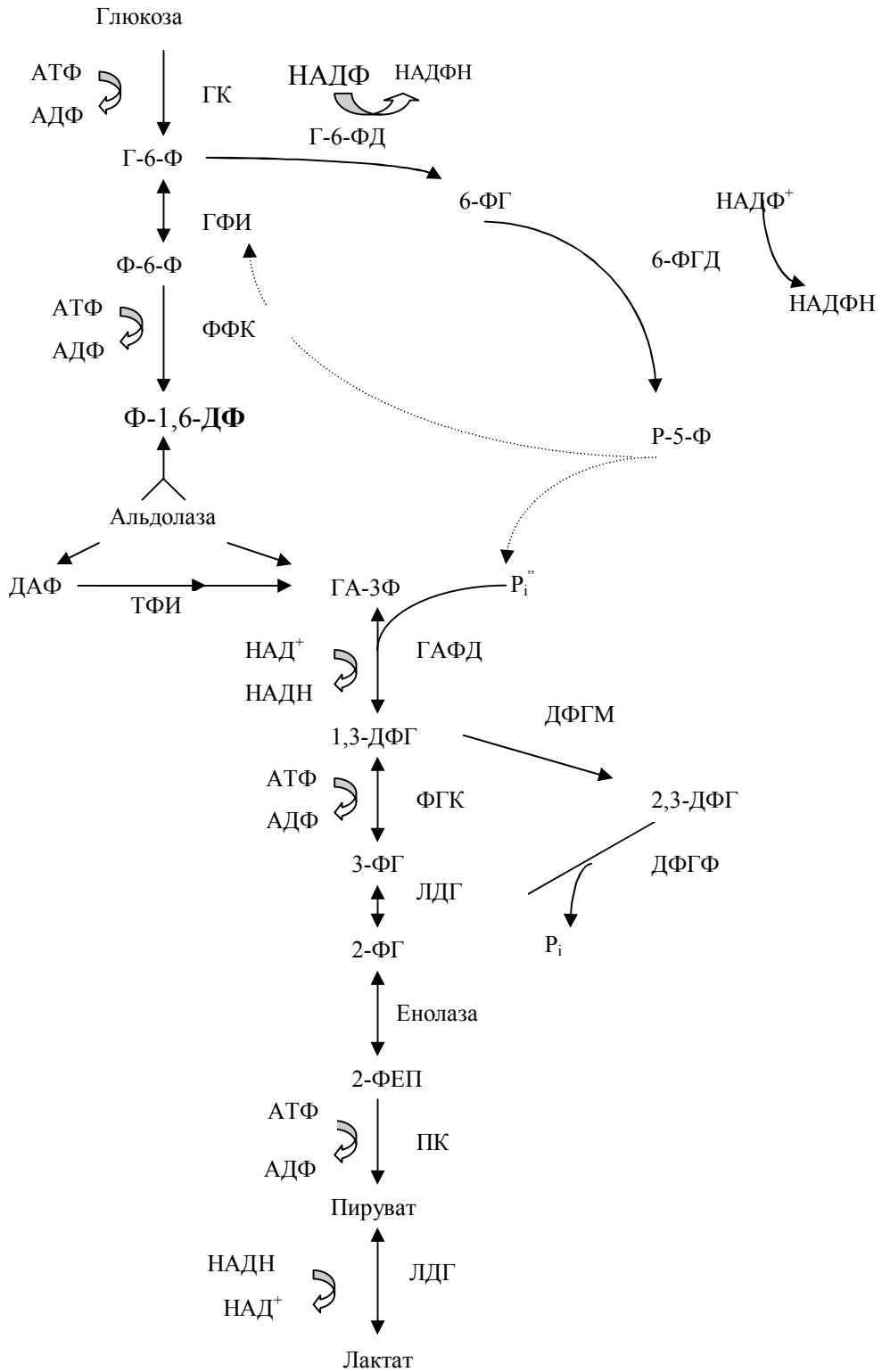


Рис. 8. Основные пути метаболизма эритроцита (Э. Бойтлер, 1981)



При этом НАД<sup>+</sup> восстанавливается, выступая в роли акцептора электрона (пятая стадия).

1,3-ДФГ может метаболизироваться с фосфоглицераткиназой (ФГК). Окончательный результат реакции – образование 3-фосфоглицериновой кислоты (3-ФГ) и 2,3-ДФГ (шестая стадия).

В эритроцитах млекопитающих имеется фермент, позволяющий направлять процесс в обход стадии, катализируемой фосфоглицераткиназой (ФГК); при этом свободная энергия высокоэнергетического фосфата в молекуле 1,3-дифосфата рассеивается в форме теплоты. Дополнительный фермент – дифосфоглицератмутаза катализирует превращение 1,3-дифосфоглицерата в 2,3-дифосфоглицерат, который в свою очередь превращается в 3-ФГ при участии 2,3-дифосфоглицератфосфатазы (такой активностью обладает фосфоглицератмутаза). На этой стадии не происходит синтеза АТФ, поскольку «теряется» высокоэнергетический фосфат и гликолиз в эритроците может продолжаться при минимальных потребностях в АТФ. Образующийся 2,3-дифосфоглицерат связывается с гемоглобином, понижает его сродство к кислороду, и, таким образом, кривая диссоциации оксигемоглобина сдвигается вправо. Следовательно, присутствие 2,3-ДФГ в эритроците способствует диссоциации кислорода из оксигемоглобина и переходу его в ткани (Э. Бойтлер, 1981; Биохимия человека, 1993).

Эритроцит характеризуется высокой концентрацией 2,3-ДФГ (~4мМ) – другие клетки тканей организма содержат лишь следовые количества этого соединения. 2,3-ДФГ играет общую роль в качестве кофактора при превращении 3-фосфоглицерата в 2-фосфоглицерат, осуществляемом фосфоглицератмутазой.

В эритроците под влиянием монофосфоглицератмутазы (МФГМ) осуществляется перенос фосфата из третьего положения 2,3-ДФГ на второй атом углерода в 3-ФГ. При этом 2,3-ДФГ регенерирует, а вместо 3-ФГ образуется 2-ФГ (седьмая стадия). В клетке 2-ФГ находится в равновесии с фосфоенолпируватом (ФЕП); реакция дегидратации катализируется енолазой (восьмая стадия). ФЕП служит донатором фосфата для АДФ на второй стадии АТФ в гликолизе эритроцитов; реакция протекает с участием пируваткиназы (ПК) (девятая стадия).

Пируват, образующийся в пируваткиназной реакции, может диффундировать из эритроцита в плазму или переходить в лактат

с помощью лактатдегидрогеназы (ЛДГ) (десятая стадия). Процесс зависит от внутриэритроцитарного отношения  $\text{НАД}\cdot\text{Н}/\text{НАД}^+$  и рН: при избытке  $\text{НАД}\cdot\text{Н}$  и пониженном значении рН пируват восстанавливается до лактата, который приходит в равновесие с лактатом плазмы крови.

Развитие пятой и шестой стадий пути Эмбдена-Мейергофа зависит от уровня метаболитов в эритроците. Например, 2,3-ДФГ ингибирует дифосфоглицератмутазную реакцию, понижая таким образом синтез 2,3-ДФГ, т. е. проявляется саморегуляция синтеза и уровня 2,3-ДФГ в эритроците. Аналогично действуют  $\text{H}^+$ , отводя 1,3-ДФГ в фосфоглицераткиназную реакцию (Э. Бойтлер, 1981; Л. Стайер, 1985; Биохимия человека, 1993).

Большая часть гликолитических реакций обратима. Реакции, катализируемые гексокиназой, фосфофруктокиназой и пируваткиназой, являются экзергоническими и физиологически необратимыми.

Существует мнение, что 2,3-ДФГ служит резервом гликолитических процессов. Он используется при прохождении эритроцитов через те участки кровяного русла, где возникает относительный недостаток глюкозы, в частности, в селезенке (С.И. Рябов, 1971).

Гликолиз в эритроците контролируется в основном гексокиназой и фосфофруктокиназой. Дефицит этих ферментов, а также ГФИ, ФФК, ТФИ, ДФГМ, ПК служит причиной развития наследственной несфероцитарной гемолитической анемии.

Большая часть энергии в эритроцитах расходуется на поддержание функциональной активности  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -насоса и сохранение объема и формы клеток. Поддержание двояковогнутой формы эритроцита обусловлено состоянием глутатионредуктазной системы, которая реализуется в рамках метаболического пентозофосфатного пути.

*Пентозофосфатный путь. Метаболизм глутатиона.* Пентозофосфатный путь (пентозный, или гексозомонофосфатный шунт) расходится с прямым гликолитическим путем обмена глюкозы на уровне глюкозо-6-фосфата и после дегидрогенирования и декарбоксилирования продуцирует пентозофосфаты, которые затем превращаются в фруктозо-6-фосфат и глицеральдегид-3-фосфат. Таким образом, пентозофосфатный цикл возвращается в гликолитический. Этот путь обмена – аэробный,

один из метаболитов –  $\text{CO}_2$  (Х.М. Рубина, 1979). Важнейшая физиологическая роль пентозофосфатного пути заключается в предотвращении окисления гемоглобина в метгемоглобин в ходе активации глутатионредуктазной системы (рис. 9).

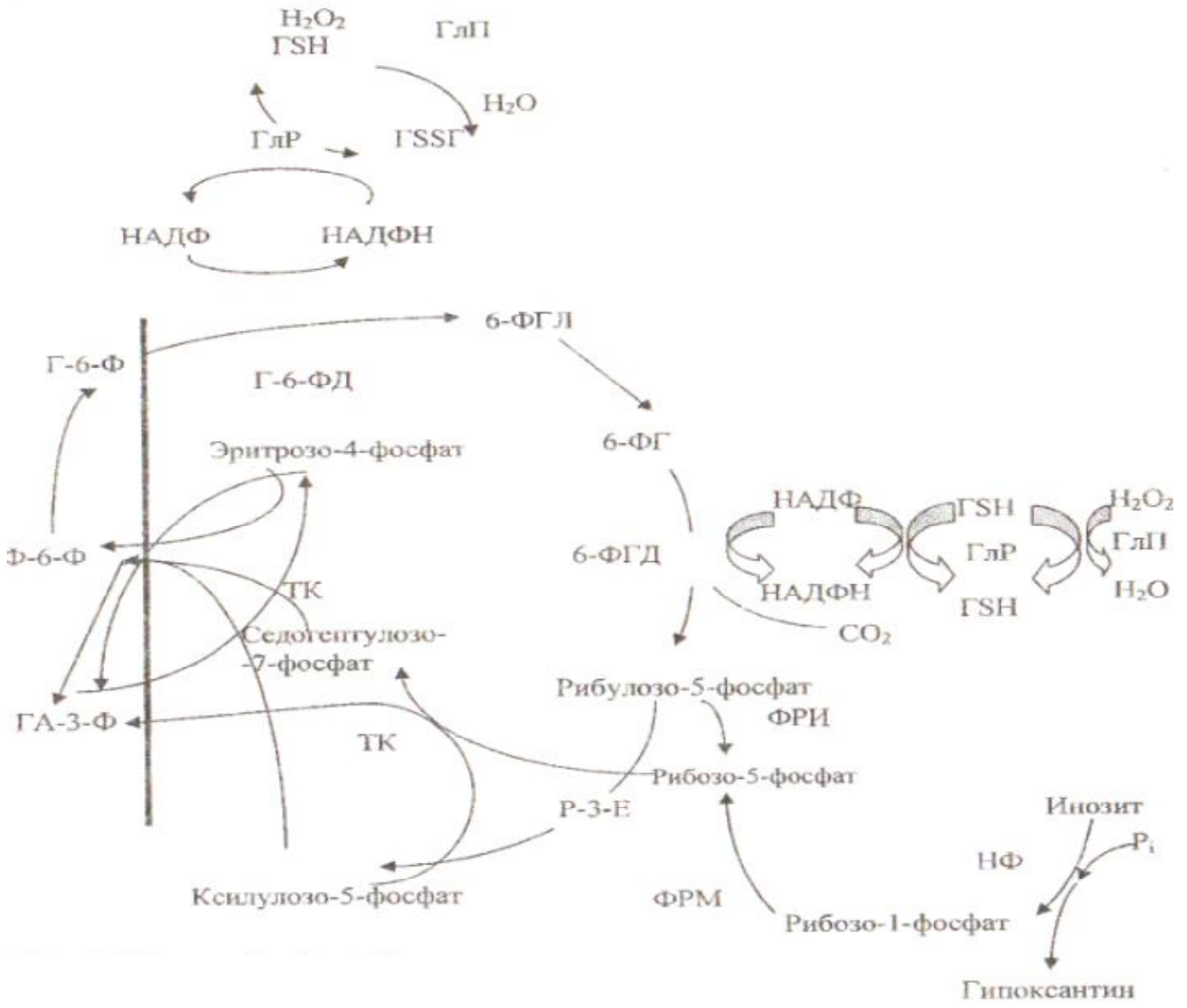


Рис. 9. Пентозофосфатный путь метаболизма глюкозы (Э. Бойтлер, 1981)

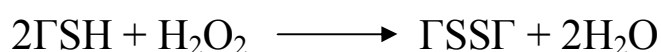
ПФП и путь Эмбдена-Мейергофа имеют общий исходный субстрат – глюкозо-6-фосфат. Направления дальнейшего превращения  $\text{Г-6-Ф}$  зависят от его количества и соотношения восстановительных и окислительных коферментов –  $\text{НАДН}_2/\text{НАД}$  и

НАДФН<sub>2</sub>/НАДФ. Путь Эмбдена-Мейергофа регулируется отношением НАДН<sub>2</sub>/НАД, а пентозофосфатный – НАДФН<sub>2</sub>/НАДФ. Если образующийся в пентозофосфатном пути НАДФН<sub>2</sub> не способен окислиться, то этот путь тормозится. Поскольку в эритроцитах нет цикла Кребса и не протекают реакции, обеспечивающие синтез жирных кислот, т.е. отсутствуют процессы с вовлечением НАДФН<sub>2</sub>, окисление его в нормальных эритроцитах связано с глутатионом и глутатионредуктазой (Х.М. Рубина, 1979).

Основными компонентами глутатионредуктазной системы являются восстановленный глутатион (ГSH), глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа (Г-6-ФДГ) и глутатионредуктаза (ГSSГ-Р). В эритроцитах эта система оказывает влияние на энзиматический перенос и внедрение железа ферритина, сидерофилина, гемосидерина в гем и тем самым способствует образованию гемоглобина (а), участвует в его защите от окисления в метгемоглобин (б), в регуляции скорости гликолиза по ПФП (в), в регуляции поступления К<sup>+</sup> и Na<sup>+</sup> через мембрану (г), активирует SH-содержащие ферменты (д) (рис. 10) (Х.М. Рубина, 1979).

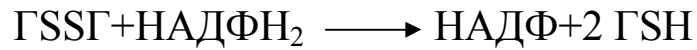
В физиологических условиях в эритроцитах всегда присутствуют глутатион и аскорбиновая кислота, восстанавливающие метгемоглобин с участием фермента НАД·Н – метгемоглобинредуктазы. Окисление функционирующего гемоглобина (Fe<sup>2+</sup>) в метгемоглобин (Fe<sup>3+</sup>) под влиянием супероксидного аниона  $\bar{O}_2$  или H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> происходит в небольших количествах в физиологических условиях (около 3%). НАД·Н необходим (при участии метгемоглобинредуктазы) для восстановления метгемоглобина (см. рис.10, реакция е) (О.И. Моисеева, 1985).

Различные воздействия могут приводить к образованию H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (см. рис. 10, реакция г); функция глутатиона заключается в разрушении H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, реакция катализируется ГSH-пероксидазой:



Глутатион вновь восстанавливается с помощью глутатионредуктазы (рис. 10, реакция б); в качестве донора водорода используется НАДФ·Н.

Глутатион-трипептид синтезируется в эритроцитах. Глутатионредуктазная система способствует активированию процессов в ПФП, его скорость снижается при накоплении НАДФН<sub>2</sub>, окисление связано с глутатионом и глутатионредуктазой:



Если ГSSГ не может восстановиться в ГSH, то снижается интенсивность в ПФП.

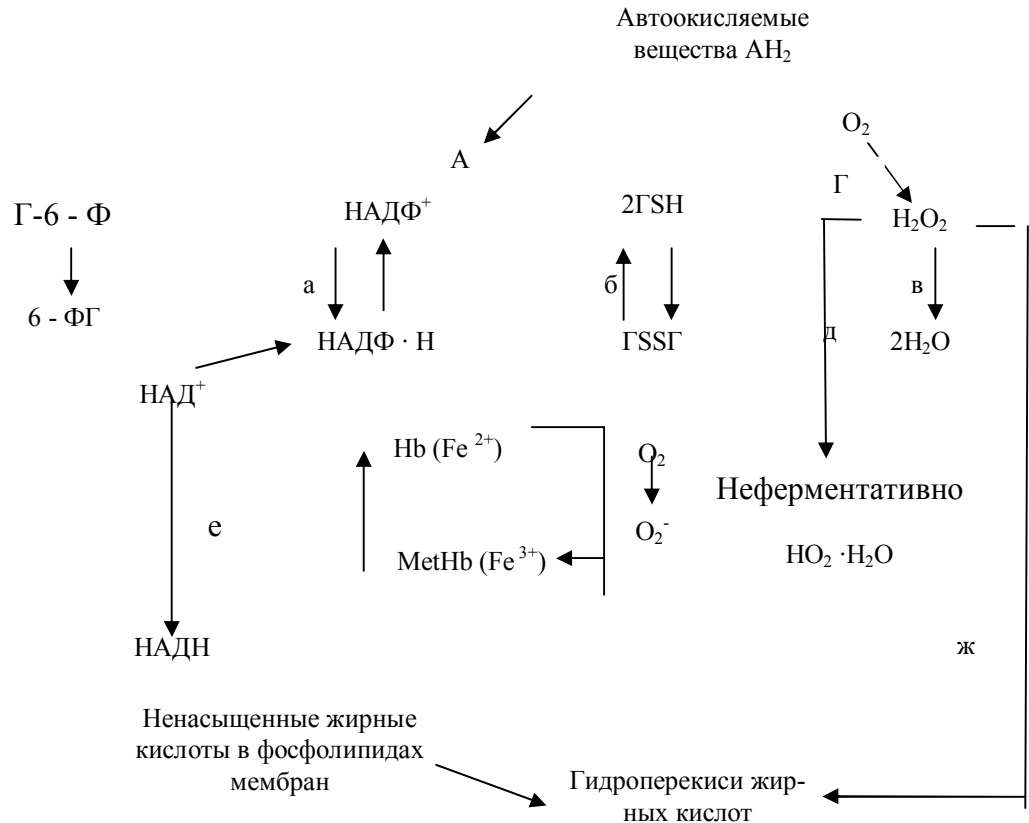


Рис. 10. Биохимические процессы, препятствующие развитию гемолиза и образованию метгемоглобина (О.И. Моисеева, 1985)

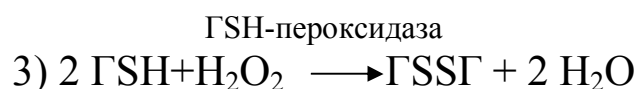
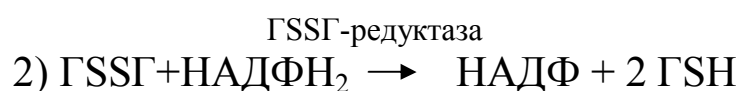
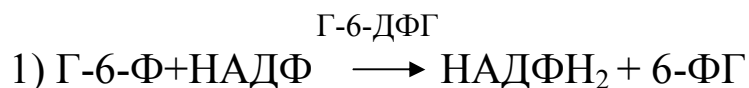
SH-группы, входящие в состав гемоглобина (по одной в  $\alpha$ -цепи и по две в  $\beta$ -цепи), играют существенную роль в выполнении основной функции гемоглобина. Если в эритроцитах нет условий для поддержания достаточного уровня глутатиона в восстановленном состоянии (например, при снижении активности ГSSГ-редуктазы), то он превращается в ГSSГ. Последний связывается с SH-группами глобина с образованием смешанного дисульфида типа  $\text{HbSSГ}$ . Сульфгидрильные группы глобина при этом оказываются блокированными.

Комплекс  $\text{HbSSГ}$  обладает увеличенным сродством к кислороду и уменьшенной способностью к гем-гем-взаимодействиям. Добавление ГSH предотвращает образование комплекса  $\text{HbSSГ}$  и

таким образом способствует уменьшению сродства гемоглобина к кислороду (Х.М. Рубина, 1979).

Пентозофосфатный путь обмена глюкозы и система глутатиона связаны с целостностью клеток. При недостаточности гликолитических ферментов – гексокиназы, фосфогексоизомеразы, 2,3-дифосфоглицератизомеразы, пируваткиназы – наблюдается гемолиз эритроцитов. Глутатион, разрушая  $\text{H}_2\text{O}_2$ , защищает ненасыщенные жирные кислоты фосфолипидов мембран от перекисного окисления. При недостатке глутатионредуктазы  $\text{H}_2\text{O}_2$  атакует двойные связи ненасыщенных жирных кислот, что ведет к разрушению мембраны и гемолизу.

Биохимия гемолиза тесно связана с нарушениями метаболизма глюкозы по ПФП и ассоциированного с ним метаболизма глутатиона. В поддержание целостности красных клеток включаются три звена:



Роль ПФП в восстановлении метгемоглобина установлена экспериментально. У молодых клеток увеличена активность Г-6-ФДГ, выше количество ГSH и меньше – метгемоглобина, т. е. в молодых клетках механизм восстановления метгемоглобина глутатионом достаточно активен (Х.М. Рубина, 1979; Д. Мецлер, 1980).

В физиологических условиях в эритроците энергетические потребности покрываются утилизацией глюкозы в путях Эмбдена-Мейергофа и пентозофосфатном. Эритроцит обладает также способностью метаболизировать другие субстраты, включая гексозы: фруктозу, маннозу и галактозу.

Фруктоза фосфорилируется по шестому положению гексокиназой. Образующийся Ф-6-Ф либо изомеризуется в процессе глюкозофосфатизомеразовой реакции Г-6-Ф, либо фосфорилируется фосфофруктокиназой до Ф-1,6-ДФ.

Манноза также фосфорилируется гексокиназой по шестому положению. Образующийся маннозо-6-фосфат, прежде чем мета-

болизироваться в эритроците, превращается во фруктозо-6-фосфат под влиянием маннозофосфатизомеразы и используется далее в метаболизме эритроцита.

Метаболизм галактозы в эритроците осуществляется более сложным путем, чем фруктоза или манноза. Эритроцит способен производить энергию из нуклеозидов, например, инозина (Э. Бойтлер, 1981; И. Марку, 1985).

В эритроцитах гликолиз и транспорт кислорода связаны между собой участием в обоих процессах 2,3-ДФГ, и нарушения гликолиза могут оказывать негативное влияние на транспорт кислорода. У людей с наследственными изменениями гликолиза в эритроцитах кривые диссоциации кислорода изменены. При недостаточности гексокиназы концентрация промежуточных продуктов гликолиза низкая, т. к. нарушается первая стадия – фосфорилирование глюкозы. В эритроцитах – пониженное содержание 2,3-ДФГ, вследствие этого гемоглобин обладает очень высоким сродством к кислороду. Дефицит пируваткиназы в эритроцитах инициирует развитие противоположных процессов: концентрация промежуточных продуктов гликолиза значительно превышает физиологический уровень, чем объясняется блокирование конечной стадии гликолиза. Содержание 2,3-ДФГ превышено вдвое, что приводит к низкому сродству гемоглобина к кислороду. Таким образом, 2,3-ДФГ служит регулятором транспорта кислорода в организме.

Недостаток кислорода в периферических тканях приводит к накоплению 2,3-ДФГ (из промежуточного продукта гликолиза 1,3-ДФГ). Тетрамер гемоглобина связывает молекулу 2,3-ДФГ, она размещается в центральной полости, выстланной остатками всех четырех субъединиц. Связывание 2,3-ДФГ осуществляется посредством образования солевых мостиков между атомами кислорода 2,3-ДФГ и группами, принадлежащими к обеим  $\beta$ -цепям: концевыми аминокетильными группами остатков Val<sup>1</sup>, аминокетильными группами остатков Lys<sup>6</sup> и боковыми цепями остатков His<sup>21</sup>. Следовательно, 2,3-ДФГ стабилизирует дезоксигенированную Т-форму гемоглобина, образуя поперечные связи между  $\beta$ -цепями – это дополнительные солевые мостики, которые разрушаются при переходе гемоглобина из Т- в R-форму.

С фетальным гемоглобином 2,3-ДФГ связывается менее прочно, чем с гемоглобином взрослого человека, т. к. в его

$\beta$ -цепи в положении Н 21 находится не His, а Ser, который не может участвовать в формировании солевых мостиков, удерживающих 2,3-ДФГ в центральном положении, т. е. 2,3-ДФГ в меньшей степени способствует стабилизации Т-формы фетального гемоглобина, что обуславливает его более высокое сродство к кислороду.

Ведущим механизмом перехода между R- и Т-формами гемоглобина служит перемещение атома железа ( $Fe^{2+}$ ) в полость порфиринового кольца или от нее (Биохимия человека, 1993). Смещение атома железа относительно порфиринового кольца вызывает значительные изменения конформации гемоглобина и решающим образом влияет на ответную реакцию (недостаток/норма/избыток кислорода в тканях).

Мы рассмотрели пути метаболизма глюкозы в безъядерных эритроцитах высших млекопитающих, причем утилизация клетками кислорода определяется активностью пентозофосфатного пути и всегда ниже, чем в ядерных эритроцитах.

По данным П. А. Коржуева (1964), 1 см<sup>3</sup> эритроцитарной массы голубя и кур потребляет 105-120 мм<sup>3</sup> O<sub>2</sub> за 1 ч, что в 2 раза больше, чем у озерной лягушки (70 мм<sup>3</sup>), и в 5 раз – чем у кролика (26 мм<sup>3</sup>). Эритроциты голубя обладают выраженным пастеровским эффектом: в аэробных условиях – энергично дышат и слабо гликолизируют, в анаэробных – активно гликолизируют. В зрелых эритроцитах птиц, цитоплазма которых практически лишена митохондрий, энергообеспечение метаболических процессов осуществляется в основном за счет ядра. Это установлено в опытах по выявлению дегидрогеназной активности ферментов окислительного фосфорилирования на различных этапах созревания клеток эритроидного ряда (В.Л. Немчинская, Т.Н. Моженок, 1974; Т.Н. Моженок, В.Л. Немчинская, 1975). Оказалось, в ретикулоцитах активность ЛДГ, МДГ и СДГ выявляется исключительно в перинуклеарной зоне.

Определение активности Н- и М-форм ЛДГ показало, что во всех клетках преобладает М-форма. Эта характерная особенность эритроцитов птиц отражает своеобразие их химического состава и свидетельствует о том, что они обладают большей способностью к анаэробному гликолизу (И.А. Болотников, Ю.В. Соловьев, 1980). Установлено, что гидролитические и окислительные ферменты в зрелых эритроцитах птиц сохраняют активность в ядре и



ядерной мембране, тогда как в цитоплазме она не сохраняется. Это показатель того, что в энергетическом метаболизме этих клеток важная роль принадлежит ядру.

**2.3.1.4. Газотранспортная функция эритроцитов.** Появление дыхательных пигментов – переносчиков респираторных газов у животных связано с развитием системы кровообращения, выполняющей функцию транспорта кислорода к тканям тела. Только у немногих малоактивных форм кровь может переносить достаточное количество кислорода в растворенном состоянии без участия пигмента.

У одних животных пигмент участвует в переносе  $O_2$  постоянно, у других – исключительно при низком парциальном давлении кислорода ( $P_{O_2}$ ), у третьих – пигменты играют роль депо  $O_2$ , используемого при гипоксии. Помимо кислородтранспортной пигменты крови выполняют функцию основных буферов при транспорте  $CO_2$  и, как белки, в растворенном состоянии создают в крови коллоидно-осмотическое давление.

*Дыхательные пигменты.* Основа клеточной дыхательной структуры – железопорфириновый белок цитохром. Из всех пигментов – переносчиков кислорода более полно изучен железопротопорфирин. Связанная с ним белковая часть различна у разных животных по размеру, аминокислотному составу, растворимости и физико-химическим свойствам.

Все пигменты-переносчики представляют собой металлоорганические комплексы. Большинство пигментов содержат железо (гемоглобин, хлорокруорин, гемэритрин), немногие (гемоцианин) – медь. В организме первичноротых животных встречаются все четыре пигмента, вторичноротых – только гемоглобин, локализованный преимущественно в эритроцитах (Х.С. Коштоянц, 1950; Л. Проссер, 1977).

Гемоглобин – наиболее распространен и спорадически встречается в самых различных группах животных. Гемоглобин у всех позвоночных включен в эритроциты, а в мышцах содержится миоглобин. Гемоглобин и миоглобин отсутствуют лишь у некоторых рыб – у лептоцефалических личинок угря и у трех родов антарктических рыб семейства Chaenidichtidae.

У большинства представителей низших хордовых и у ланцетника (*Amphioxus*) гемоглобин отсутствует.

У голотурий и форонид гемоглобин включен в кровяные тельца; у олигохет – растворен в плазме, а в мышцах (например, у *Lumbricus*) имеется миоглобин.

Характерная особенность полихет – присутствие гемоглобина в клетках целомической жидкости и в плазме крови (животные с замкнутой кровеносной системой) или исключительно в целомической жидкости. У некоторых видов в плазме содержится хлорокруорин; у отдельных видов одновременно присутствует и хлорокруорин, и гемоглобин. У животных семейства *Madelona* в кровяных тельцах обнаружен гемэритрин.

Среди низших ракообразных распространен гемоглобин, а высших – гемэритрин.

Из класса Насекомые гемоглобин имеется у личинок комаров и овода, а Моллюски – у немногих пластинчатожаберных; миоглобин найден у многих брюхоногих (в мышце радулы) и хитонов (панцирных).

У немертин гемоглобин встречается и в плазме крови, и в эритроцитах, а у *Polia* найден также в клетках нервных ганглиев.

Гемоглобины обнаружены у нескольких паразитических сосальщиков и прямокишечных турбеллярий (плоские черви).

У представителей нескольких семейств круглых червей гемоглобин обнаружен в псевдоцеломической жидкости и в клетках гиподермы стенки тела.

Из Простейших гемоглобины обнаружены у *Paramecium* и *Tetrahymena*.

Как видим, гемоглобин может быть растворен в жидкостях тела или концентрироваться в кровяных тельцах, клетках мышечной и нервной ткани.

Гемоглобин может встречаться в отдельных родах одного семейства и спорадически – у представителей отдельных семейств. Ученые полагают, что молекула гемоглобина возникла в эволюции независимо многократно, чем и объясняют наличие разных гемоглобинов (с разными белками, но с одним и тем же гемом).

Хлорокруорин – зеленый железосодержащий пигмент, но его порфириновое кольцо отличается от порфирина гемоглобина одной боковой цепью в одном пиррольном кольце. Распространен достаточно ограниченно. Выявлен у представителей нескольких семейств многощетинковых червей. У одного и того же

вида хлорокруорин может сочетаться с гемоглобином (например, у *Potamilla* обнаружен хлорокруорин в крови и гемоглобин в мышцах), а у *Serpulla* в крови присутствуют и хлорокруорин, и гемоглобин.

Гемэритрин – третий железосодержащий пигмент; сосредоточен в кровяных тельцах, окрашен в фиолетовый цвет. Железо в его молекуле не входит в порфириновое кольцо. Встречается редко и исключительно у беспозвоночных животных.

Гемоцианин – после гемоглобина наиболее распространенный дыхательный пигмент. В сравнении с гемоглобином имеет иное молекулярное строение и представляет собой крупную медьсодержащую белковую молекулу. Пигмент существует как в восстановленной, так и в связанной с кислородом форме (оксигемоцианин). Оксигемоцианин имеет интенсивную голубую окраску. Соединение гемоцианина с кислородом обусловлено наличием в его молекуле атома меди, прочно связанного с белком. Одна молекула кислорода соединяется с двумя атомами меди. Для сравнения: одна молекула  $O_2$  соответствует одному атому железа в молекуле гемоглобина, а в молекуле гемэритрина – трем атомам железа. Теоретически 1 г меди может связать  $176,1 \text{ см}^3 O_2$ . При сопоставлении гемоглобина и гемоцианина по количеству связываемого кислорода оказалось: 1 г гемоглобина связывает  $1,34-1,36 \text{ см}^3 O_2$ , а 1 г гемоцианина – только  $0,53 \text{ см}^3$ . Благодаря гемоцианину значительно повышается содержание  $O_2$  в гемолимфе. Например, у виноградной улитки количество связанного с гемоцианином  $O_2$  в два раза выше, чем физически растворенного. У одного и того же животного гемоцианин может иметь различное строение.

Гемоцианин найден у моллюсков (боконервные, головоногие, некоторые брюхоногие) и у членистоногих (ракообразные, мечехвосты, некоторые паукообразные). Пигмент встречается исключительно в растворенном в гемолимфе состоянии. Нередко у организмов, у которых в качестве кровяного пигмента выступает гемоцианин, в отдельных органах присутствует гемоглобин. Так, у моллюсков в нервных узлах и сердечной мышце содержится значительное количество гемоглобина.

Белковые соединения меди, широко представленные у животных (и растений), играют важную роль в клеточных окислительных процессах; так, медь активирует окисление глутатиона и аскорбиновой кислоты.

Сравнительный анализ тканей животных показал, что медь в наибольшей концентрации сосредоточена в метаболически высокоактивном органе – печени; концентрация меди в органе особенно высока в ранней стадии онтогенеза.

Хорошо известна способность меди стимулировать синтез гематиновых соединений (цитохрома) и железопорфиринов. По мнению Х.С. Коштоянца (1950), наличие в тканях моллюсков и ракообразных железосодержащих дыхательных тел (пигментов) – цитохромы, цитохромоксидаза, миоглобин – указывает на то, что у животных, кровяным пигментом у которых служит гемоцианин, железосодержащие дыхательные пигменты играют важную роль в клеточных дыхательных процессах и что гемоцианин подобно гемоглобину является звеном в процессе передачи кислорода от органов внешнего обмена газов к системе клеточных дыхательных структур.

В экспериментальных условиях установлена роль гемоцианина в дыхании тканей тех животных, у которых кровяной пигмент – гемоглобин. При перфузии различных органов млекопитающих животных искусственным физиологическим раствором, содержащим гемоцианин, установлено быстрое восстановление оксигемоцианина, что указывает на возникшую связь между гетерогенным кровяным пигментом и дыхательными пигментами их органов (Бинг, 1938; цит. по: Х. С. Коштоянц, 1950, с. 254).

В сравнительно-физиологическом анализе распространения дыхательных пигментов следует отметить, что у животных с гемолимфой, содержащей гемоцианин, вычленяется стадия развития, когда жизненные функции протекают без медьсодержащего протеида (очевидно, при участии железосодержащих дыхательных пигментов). По данным Ранца (1938), у *Sepia officinalis* гемоцианин отсутствует на ранних стадиях развития и только между X и XVI стадиями, вследствие абсорбции меди из морской воды, происходит синтез гемоцианина.

Впервые в научной литературе схема эволюции дыхательных пигментов построена Х.С. Коштоянцем в 1940 году (рис. 11). При ее обосновании ученый исходил из представления о непрерывности окислительно-восстановительных процессов органической и неорганической природы, роли порфиринов и металлопорфирина в эволюции дыхательных пигментов и филогенетической связи цитохрома и кровяных пигментов.

Известны также другие пигменты, но их роль в транспорте кислорода полностью не установлена. Например, хромоген некоторых асцидий содержит ванадий. У морских ежей в элеоцитах целомической жидкости и гонадах присутствует красный пигмент эхинохром. В тканях многих актиний найден гематопорфирин актиногематин. Полагают, что названные пигменты могут участвовать во внутриклеточных окислительных процессах, а также поддерживать в крови коллоидно-осмотическое давление.

Синтез гематопорфиринов и их соединений с азотистыми основаниями, первоначально присущий всем органам и тканям, на определенном этапе эволюции животных концентрируется в отдельных тканях и органах. Те из них, в которых происходило избыточное образование вещества типа гемоглобина, легли в основу развития системы органов кроветворения.



Рис. 11. Схема эволюционного процесса возникновения и развития дыхательных пигментов (Х.С. Коштянц, 1950)

Значительный этап в эволюции дыхательных пигментов – возникновение специальных клеток, где осуществлялся синтез кровяного пигмента, которые в виде специальных кровяных телец, содержащих гемоглобин, появились в крови. Первоначально это были ядерные клетки, у высших позвоночных в процессе эмбриогенеза ядра исчезают, и клетки крови представлены тельцами, наполненными гемоглобином.

Постепенно вычленяются и две важнейшие функции гемоглобина: главная – захват, транспорт и отдача кислорода и добавочная – депонирование кислорода (в миоглобине).

Эволюционные изменения дыхательной функции крови наиболее изучены у позвоночных животных. У наземных, при переходе от низших форм к высшим, с увеличением количества эритроцитов уменьшается их объем и растет суммарная поверхность. Такая же закономерность наблюдается и у водных форм: наиболее крупные эритроциты у круглоротых и хрящевых рыб; наиболее мелкие и в значительно большем количестве – у костистых рыб.

Эволюционные адаптации у позвоночных животных к условиям жизни в водной и воздушной среде были направлены на повышение эффективности дыхательной функции крови – рост кислородпереносящей поверхности эритроцитов посредством увеличения их количества и уменьшения габаритов клеток. Концентрация гемоглобина в крови у наземных животных в целом отличается незначительно, а если внести поправку на объем ядра эритроцита, то она у низших представителей позвоночных животных становится равной или несколько превышает таковую у млекопитающих.

Представители высших групп животных характеризуются сложной организацией и высокой активностью, что обусловило появление механизмов, сглаживающих дефицит кислорода. В филогенезе наземных животных повышение дыхательной функции и аэрации крови было достигнуто за счет: 1) увеличения дыхательной поверхности легких и кислородпереносящей функции крови; 2) уменьшения габаритов эритроцитов; 3) ускорения движения крови по сосудам; 4) увеличения внутриклеточной концентрации гемоглобина и его сродства к кислороду.

Одна из важнейших особенностей, проявляемых в эволюции животных, – их чувствительность / устойчивость к гипоксии и всевозрастающая потребность в кислороде, обусловленная высоким метаболизмом.

Специфика механизмов адаптации дыхательной функции крови к гипоксии разного генеза соотносится с уровнем филогенетического развития животных и их экологией. Степень проработанности вопроса недостаточна даже у высших животных. Как выяснилось, гипоксии не всегда сопутствует эритроцитоз. Эту особенность можно рассматривать как адаптивную реакцию, поскольку эритроцитоз сопряжен со сгущением крови, а, следовательно, и изменением гемодинамики. Как выяснилось, адаптация к гипоксии у аборигенов горной местности при индивидуальной адаптации (например, при подъеме с уровня моря в горы) протекает неоднозначно, но формирование приспособительных реакций в системе крови к высокой гипоксии сводится к увеличению КЕК и облегчению захвата, транспорта и отдачи кислорода тканям. Так, у человека, лабораторных, домашних и многих диких животных развивается полицитемия, но она не может быть беспредельной, поскольку ведет к сгущению крови; этот механизм усиливается изменением свойств эритроцитов и гемоглобина, направленных на улучшение аэрации клеток и тканей (З.И. Барбашова, 1981).

У типично горных животных (лам) повышение КЕК достигается также путем резкого увеличения числа мелких эритроцитов, что, не повышая вязкости крови, способствует возрастанию поглотительной поверхности для захвата кислорода. К тому же гемоглобин у них обладает очень высоким сродством к кислороду и способностью легко отдавать его при низких значениях  $P_{O_2}$ .

Наконец, улучшение условий транспорта кислорода может произойти при одновременном разжижении крови и повышении эритропоэтической функции костного мозга. В таком варианте КЕК будет выше только при расчете на единицу массы тела (но не на единицу объема крови), что непринципиально. Подобный тип реагирования живой системы отмечен у горных сусликов в период летней биологической активности (З.И. Барбашова, 1977; 1981).

Не исключаются и другие механизмы адаптации крови к гипоксии. Так, развитие микроцитоза и низкий гематокрит, не влияя на вязкость крови, способствуют повышению поглотительной поверхности эритроцитов крови для контакта гемоглобина с кислородом и увеличению КЕК. Это пример наиболее благоприятной для устранения гипоксии адаптивной реакции организма. Следовательно, при гипоксии существенным фактором адаптации становятся изменения свойств эритроцитов и гемоглобина, способствующих:

- 1) усилению обменных процессов;
- 2) повышению активности эритроцитарных ферментов;
- 3) повышению осмотической резистентности эритроцитов;
- 4) укорочению сроков созревания и циклов формирования, распада и элиминации красных клеток крови;
- 5) росту забуференности живой системы;
- 6) повышению внутриклеточной концентрации гемоглобина.

Важную роль в процессах тканевой адаптации к гипоксии играет миоглобин, локализованный в мышцах, способный запасть кислород и отдавать его в условиях дефицита, например, при нарушении доставки  $O_2$  извне. Миоглобином богаты клетки, обладающие интенсивным метаболизмом (скелетная, сердечная мышца, особенно у видов с высокими значениями ЧСС). Миоглобин благодаря высокому сродству к кислороду может забирать  $O_2$  из крови и служить его переносчиком к клеточным ферментам. Оксимиоглобин особо важен в дыхании животных, у которых поступление кислорода происходит прерывисто. В виде исключения мышечный гемоглобин встречается у некоторых беспозвоночных.

У всех беспигментных видов основной путь проникновения  $O_2$  в организм – его диффузия через ткани поверхности тела. У животных, имеющих дыхательные пигменты, этот путь сохранился в форме диффузии газов через стенку капилляров. Таким образом, древнейший способ поступления кислорода в организм (диффузия газов) сохранился на всем протяжении эволюционного процесса, включая высших млекопитающих животных.

В эволюции животных с появлением дыхательных пигментов в циркулирующих по организму жидкостях особое значение приобретает удержание их в сосудистом русле, что возможно либо при увеличении молекул пигмента до гигантских размеров



(пигмент растворен в плазме), либо уменьшении молекулярной массы пигментов при одновременном включении их в специальные кровяные тельца. Отличительное свойство гемоглобинов – строжайшая специфичность, которая может служить маркёром при классификации животных (Х.С. Коштоянц, 1950).

Гемоглобины зародышей отличаются по своим характеристикам от гемоглобинов материнских форм: в щелочном растворе гемоглобин зародыша значительно быстрее денатурируется, быстрее растворяется в концентрированном фосфатном буфере, менее стоек и более склонен к распаду на субмолекулы. Установленные различия гемоглобинов по способу кристаллизации, обусловлены аминокислотным составом глобина.

Гемоглобины пойкило- и гомойотермных животных различаются по отношению к температурному фактору: гемоглобины первых крайне чувствительны к малейшим колебаниям температуры и это отражается на архитектуре диссоциационных кривых; вторых – малочувствительны к температурным колебаниям. Различные дыхательные пигменты, а также гемоглобины имеют отличные спектры поглощения (Х.С. Коштоянц, 1950).

Эволюционные изменения дыхательной функции крови у животных отражены в монографиях, многочисленных обзорах и статьях (Е.М. Крепс, 1935-1954; П.А. Коржуев, 1946-1973; Х.С. Коштоянц, 1950; З.Н. Барбашова, 1970; 1981; Л.И. Иржак, 1983-1985; Л. Проссер, 1977).

*Гетерогенная система гемоглобина.* В составе гемоглобина содержится бесцветная белковая часть – глобин и простетическая группа – гем. Глобины отличаются по аминокислотному составу, молекулярной массе, электрофоретической подвижности, иммунологическим свойствам и сродству к кислороду. В организме одного вида может присутствовать несколько гемоглобинов. Одни из гемоглобинов сменяют друг друга в онтогенезе, другие – являются генетическими мутантами взрослой формы и различаются по одному или нескольким аминокислотным остаткам. Гемоглобины с высокой молекулярной массой – от 400 000 до нескольких миллионов – растворены в плазме, с массой – от 20 000 до 120 000 – заключены в клетки крови.

Упаковка гемоглобина в клетки имеет ряд преимуществ: значительно снижена вязкость крови; в эритроците формируется

химическая среда, отличная от плазмы (по концентрации неорганических ионов, органических фосфатов и спектру ферментов), оказывающая существенное влияние на сродство гемоглобина к кислороду (К. Шмидт-Ниельсон, 1982).

В структуре порфирина основной элемент – пиррол, принадлежащий к группе гетероциклических соединений и представляющий собой пятичленное кольцо. Замкнутая структура из четырех пиррольных колец, соединенных между собой четырьмя метиловыми (метиленовыми) связями (мостиками), образует плоскую кольцевую структуру – ядро порфирина. В центре плоского кольца (ядра) находится один атом  $Fe^{2+}$ . Порфирин, вступая во взаимодействие с железом, образует железопорфирин (гемин), способный связываться с белком. Гем, соединенный с глобином, обладает способностью обратимо связывать кислород (П.А. Коржуев, 1964; Биохимия человека, 1993).

Гемоглобины – тетрамерные белки, образованные полипептидными цепями ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ , S и др.). Гемоглобин А (HbA) образует  $\alpha$ -цепи и  $\beta$ -цепи. Их отличие состоит в разной последовательности N-терминальной (концевой) аминокислоты (имеет свободную аминокислотную группу), которая в  $\alpha$ -цепи является валин-лейцином, а  $\beta$ -цепи – валингистицином. В процессах оксигенации HbA главную роль играют  $\beta$ -цепи. В состав  $\alpha$ -цепи входят 141, а  $\beta$ -цепи – 146 аминокислот. Особое значение имеет гистидин – аминокислота, усиливающая буферные свойства гемоглобина и обуславливающая его способность связывать гем (Д. Мецлер, 1980; Биохимия человека, 1993).

Глобин обладает высокой степенью спирализации: в каждой  $\beta$ -цепи имеется по 8, а в  $\alpha$ -цепи – по 7 спиральных участков, которые чередуются с неспиральными. Спиральные участки каждой цепи уложены в плотную глобулу, внутри которой в «кармане» (углублении) находится гем. Внутри молекулы перпендикулярно друг другу расположены  $\alpha$ -полости, одна из которых разделяет  $\alpha$ -, а другая –  $\beta$ -цепи. Взаимодействуя друг с другом,  $\alpha$ - и  $\beta$ -цепи образуют четвертичную структуру (W. Bolton, M.F. Perutz, 1970). Она наделяет гемоглобин дополнительными важными особенностями, которые способствуют выполнению им уникальной биологической функции и обеспечивают возможность строгой регуляции его свойств.

Субъединицы молекулы гемоглобина оксигенируются не одновременно, а последовательно, причем количество энергии, необходимое для присоединения кислорода, постепенно снижается от первого к четвертому гемму (О.И. Моисеева, 1985); уменьшается также время, необходимое для этого процесса, т. е. реакция с кислородом для  $\beta$ -цепей протекает легко;  $\alpha$ -цепи более реакционные. Изменение сродства к кислороду различных геммов молекулы гемоглобина называют гем-гем-взаимодействием. Один грамм гемоглобина присоединяет  $\sim 1,34$  мл кислорода. Содержание гемоглобина в 100 мл крови составляет у млекопитающих и птиц 12-18 г, у амфибий и рептилий – 6-10 г, у рыб – 6-11 г (П.А. Коржуев, 1949; 1964; Л. Проссер, 1977).

Установлена гетерогенная природа гемоглобинов. Как мы отметили ранее, гемоглобин взрослого человека (HbA) состоит из двух  $\alpha$ - и  $\beta$ -полипептидных цепей. Фетальный гемоглобин (HbF) человека образуют две  $\alpha$ -полипептидные цепи, идентичные  $\alpha$ -цепям гемоглобина A и две  $\gamma$ -цепи (HbF $\alpha_2\gamma_2$ ).

В эритроцитах взрослого человека, помимо HbA, выявлены также: HbA<sub>2</sub> (2-3 %), HbA<sub>1</sub> и HbA<sub>3</sub> (до 5%). В состав HbA<sub>2</sub> наряду с  $\alpha$ -цепями входят также  $\delta$ -цепи; его обозначают HbA<sub>2</sub> $\alpha_2\delta_2$ . Описаны и другие разновидности гемоглобина человека: HbH, HbJ, HbM, HbK, HbL, HbN, HbO, HbP, HbQ. При некоторых патологиях (лептоцитоз, ретикулоцитоз) обнаружены фракции HbA, C и C<sub>1</sub> у одного индивида.

Состояние, при котором мутация вызывает изменение биологических функций гемоглобина, называют гемоглобинопатией. Известно более 200 вариантов гемоглобинопатий, некоторые из них проявляются в виде заболеваний. В семействе гемоглобинов M остатки проксимального и дистального гистидина в  $\alpha$ - или  $\beta$ -субъединицах заменены на остатки тирозина. Атом железа в составе гема находится в Fe<sup>3+</sup>-состоянии, что обуславливает образование прочного ионного комплекса с фенолятным анионом тирозина. Результатом такой мутации является метгемоглобинемия, т. к. ферри-гем не способен связывать кислород. В  $\alpha$ -цепи гемоглобина M R-T-равновесие сдвинуто в сторону образования T-формы. Сродство к кислороду низкое, эффект Бора отсутствует. В  $\beta$ -цепи гемоглобинов M возможен переход между R- и

T-состояниями – следовательно, наблюдается эффект Бора (Биохимия человека, 1993).

Примером мутации, приводящей к образованию преимущественно R-формы, является гемоглобин Чезапик, обладающий повышенным сродством к кислороду, а следовательно, не способный поставлять кислород тканям. Развиваются тканевая гипоксия и (как компенсаторная реакция) полицитемия.

К патологическим типам гемоглобинов у человека относится также серповидный (серповидноклеточный) гемоглобин S (HbS). Его присутствие в эритроцитах связано с генетическим заболеванием крови – серповидно-клеточной анемией (Н.Ф. Стародуб, В.И. Назаренко, 1987).

Аномалия, характерная для HbS, локализована в  $\beta$ -цепи (в шестом положении). Глутаминовая кислота, находящаяся в этом положении в гемоглобине здорового человека, замещается в гемоглобине S на валин:  $\text{Glu A}_2 \text{ 6 } \beta \rightarrow \text{Val}$ . При низком парциальном давлении кислорода HbS в эритроцитах кристаллизуется (осаждается в виде длинных волокон), что приводит к деформации эритроцитов и нарушению их структуры: они приобретают серповидную форму и легко разрушаются из-за снижения их толерантности к гемолизу – в итоге развивается анемия. Появление остатка гидрофобной аминокислоты валина в шестом положении, находящегося недалеко от конца молекулы, способствует образованию нового связывающего центра. В результате тетрамеры гемоглобина ассоциируют, образуя длинные микротрубоччатые структуры, которые кристаллизуются внутри эритроцита (Д. Мецлер, 1980).

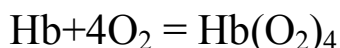
Формирование гетерогенной системы гемоглобина тесно связано с дифференцировкой клеток эритроидного ряда. В настоящее время выдвинуты две гипотезы о механизмах синтеза гемоглобинов. Согласно первой, клетки эритроидного ряда детерминированы для синтеза гемоглобина определенного типа. Экспериментально доказано наличие HbA и HbF в одном и том же эритроците в клонированных культурах. Согласно второй гипотезе каждая из клеток-предшественниц эритропоэза может дать начало эритроидным элементам, способным производить гемоглобин разных типов (Н.Ф. Стародуб, Ю.Н. Токарев, 1986).

Экспериментально установлено, что переключение синтеза гемоглобина от одного типа к другому происходит в процессе дифференцировки частично коммитированных стволовых клеток под влиянием факторов, обладающих бурстпромоторной активностью, и унипотентных эритроидных предшественников при участии эритропоэтина. Причем показано, что высокий уровень гемоглобина при стрессах связан с повышением активности эритропоэтина в крови. Повышенное образование  $\gamma$ -цепей рассматривается как компенсаторно-приспособительная реакция в экстремальных условиях (С.И. Рябов, 1973; Н.Ф. Стародуб, Ю.Н. Токарев, 1986).

*Кислородная емкость крови.* Транспортируемые в нормальных условиях дыхания газы – кислород экзогенного происхождения, двуокись углерода и оксид углерода – эндогенного. Кислородная емкость – способность крови, эритроцитов и гемоглобина связывать кислород до полного насыщения гемоглобина – зависит от содержания эритроцитов и гемоглобина в крови и их сродства к молекулам газов, что определяется структурой гемоглобина и физико-химическими свойствами внутриэритроцитарной среды.

Количество кислорода, которое связывает и переносит 100 см<sup>3</sup> крови, называют кислородной емкостью крови (КЕК). Наибольшей кислородной емкостью обладают кровь животных, содержащая гемоглобин (от 15 до 22 об.%), затем – хлорокруорин (~ 10 об.%) и гемоцианин (у головоногих моллюсков ~ 5,0 об.%). Гемеритрин связывает не более 3,0 об.% кислорода (Т.С. Истаманова и соавт., 1973). Из млекопитающих животных высокой емкостью обладает кровь кенгуру (~ 27 об.%) и глубоководных ныряльщиков (у тюленя – до 29 об.%) (П.А. Коржуев, 1964).

Эффективность гемоглобина как переносчика кислорода поддерживается скоростью диффузии O<sub>2</sub> через стенку капилляров при прохождении через них крови. Фактором, ограничивающим интенсивность тканевого дыхания, выступает скорость диффузии кислорода. Реакция взаимодействия газа с гемоглобином подчиняется закону действующих масс:



Соотношение между количеством гемоглобина и образовавшегося оксигемоглобина обуславливается содержанием физи-

чески растворенного кислорода в крови – оно пропорционально его напряжению. Кислородное насыщение гемоглобина ( $S_{O_2}$ ) определяется процентной долей оксигемоглобина от общего содержания гемоглобина в крови и вычисляется по формуле:

$$S_{O_2} = \frac{[HbO_2]}{[Hb] + [HbO_2]} \cdot 100\%$$

При полном дезоксигенировании гемоглобина кислородное насыщение равно 0; если же весь пигмент превращается в оксигемоглобин, кислородное насыщение составляет 100%. В соответствии с законом действующих масс насыщение гемоглобина кислородом зависит от напряжения  $O_2$  в среде, с которой контактирует кровь. Гемоглобин связывает четыре молекулы кислорода на тетрамер, т. е. по одной молекуле на гем в каждой субъединице. Кривая насыщения кислородом (кривая диссоциации гемоглобина) имеет сигмовидную (S-образную) форму.

Способность гемоглобина связывать кислород определяется содержанием в данном тетрамере других молекул  $O_2$ ; последующие молекулы кислорода присоединяются легче, т. е. гемоглобину свойственна кинетика кооперативного связывания, благодаря которой он присоединяет максимальное количество кислорода в легких и отдает максимальное количество при тех  $P_{O_2}$ , которое создается в тканях.

Сродство гемоглобина к кислороду характеризуется величиной  $P_{50}$  – значением  $P_{O_2}$ , при котором осуществляется полунасыщение гемоглобина кислородом. Значения  $P_{50}$  существенно различаются у животных, но обязательно превышают значения  $P_{O_2}$  в периферических тканях. У млекопитающих животных, которым свойственны быстрые движения (мышь, кошка), величины  $P_{50}$  обычно выше, чем у медленных и спокойных (собаки):  $P_{50}$  у мыши достигает 72 мм рт. ст., а у лесного сурка – лишь 24 мм рт. ст. С увеличением размеров тела  $P_{50}$  уменьшается согласно уравнению:  $P_{50} = 50,34 W^{0,054}$  ( $W$  – масса тела).

У животных – глубинных ныряльщиков и обитателей горной местности – гемоглобин с высоким сродством к кислороду. Так, некоторые виды тюленей способны нырять на глубину до 400 м и находиться под водой до 43 мин.; их гемоглобин отличается сильно выраженным эффектом Бора и Холдена и может связывать большие количества  $HCO_3^-$ ; у них также высокое содер-

жание гемоглобина в крови (до  $264 \text{ г}\cdot\text{л}^{-1}$ ) (цит. по: Л. Проссер, 1977, с. 43-44).

Для полного насыщения гемоглобина крови птиц нужны более высокие, чем для пигмента млекопитающих, значения напряжения кислорода. У уток (и голубей) в тканях потребляется до 60% кислорода, содержащегося в крови. Для сравнения: у человека используется  $\sim 27\%$ , черепах  $\sim 44$ , ската  $\sim 66\%$ . У пингвина  $P_{50}$  равно  $\sim 34,4$  мм рт. ст. (Н. Bartels et al., 1966).

У цыплят, выведенных в инкубаторе, гемоглобин имеет большее сродство к кислороду, чем у взрослых кур. У вылупившихся птенцов кривая диссоциации  $O_2$  сдвигается вправо, и они постепенно утрачивают устойчивость к низкому парциальному давлению кислорода.

Как правило, рыбы, живущие в стоячей воде, имеют низкие значения  $P_{50}$  и эффект Бора не сдвигает у них кривую диссоциации  $O_2$  за физиологические пределы. У рыб с высоким значением  $P_{50}$  увеличение  $P_{CO_2}$  от 2 до 10 мм рт. ст. может резко сдвинуть кривую вправо, и рыба начнет задыхаться даже при избытке кислорода.

Методом электрофореза выявлено у цыплят пять форм гемоглобина:  $Hb_4$  – основной компонент в первые 7 сут инкубации;  $Hb_2$  – в момент вылупления;  $Hb_3$  – второстепенный компонент как у зародыша, так и у вылупляющегося цыпленка.

Уровень оксигенации крови влияет на синтез гемоглобина. Так, если яйца выдерживать при пониженном  $P_{O_2}$ , синтез гемоглобина в костном мозге начинается не на 14-е сутки инкубации, а значительно позднее (J.A. Simons, 1966). Ген «взрослой» формы гемоглобина активируется у домашних кур на шестые сутки инкубации, у индейки – двумя-тремя сутками позже (С. Manwell, С.М. Bekker, 1963). У цыплят по мере их развития роль хориоаллантоиса в обеспечении эмбриона кислородом снижается (М.В. Freeman, В.Н. Misson, 1970).

Кровь головастика лягушки-быка насыщается кислородом при меньших парциальных давлениях, чем кровь взрослой особи: у головастика  $P_{50}$  равно 4,6 мм рт. ст., у взрослой лягушки – 13,2 мм рт. ст. Для крови взрослой лягушки свойствен прямой эффект Бора вплоть до рН 6,2; у головастика эффект Бора отсутствует.

Связывание кислорода тесно сопряжено с выдыханием двуокиси углерода. Это обратимое явление, известное как эффект Бора – свойство тетрамерного гемоглобина, определяется гемогемовым взаимодействием, лежащим в основе кооперативных эффектов. В ходе метаболизма диффузия  $\text{CO}_2$  в ткани способствует снижению сродства гемоглобина к  $\text{O}_2$  и кривая равновесия сдвигается вправо (прямой эффект Бора). При высоком значении  $P_{\text{CO}_2}$  или низком  $p\text{H}$   $P_{\text{O}_2}$ , необходимом для насыщения гемоглобина, выше, чем при нормальных условиях. Эффект Бора отражает взаимосвязь между кислородным равновесием и отдачей протонов, т. е. кислотностью гемоглобина. При значениях  $p\text{H}$  ниже физиологических эффект Бора может обращаться, сродство возрастает – таким образом, при некоторых значениях  $p\text{H}$   $P_{50}$  достигает максимальной величины.

Количественной мерой эффекта Бора служит изменение величины  $P_{50}$  на единицу  $p\text{H}$ ; отношение  $\Delta \log P_{50} / \Delta p\text{H}$  характеризует количество протонов, освобождаемых одним молекул гема. Для гемоглобина крови человека изменение  $P_{50}$  составляет 1,1 на единицу  $p\text{H}$  в диапазоне  $p\text{H}$  от 6,5 до 9,5. Протоны, освобождаемые при оксигенации, относятся преимущественно к имидазольным группам С-концевых гистидинов  $\beta$ -цепи, а также к аминогруппам  $\alpha$ -цепей. В осуществлении эффекта Бора бóльший вклад имеют  $\beta$ -цепи.

Величина эффекта Бора падает с уменьшением концентрации гемоглобина, повышением температуры и увеличением ионной силы раствора за счет солей. У мелких животных эффект Бора выражен в большей степени, чем у крупных. У человека  $\Delta \log P_{50} / \Delta p\text{H}$  составляет -0,62; у мыши – 0,96; свиньи – 0,57; тюленя – 0,66; у утки – 0,40 (Л. Проссер, 1977).

Отдаче кислорода способствует 2,3-дифосфоглицерат, синтез которого возрастает при гипоксии и интенсификации окислительного процесса в тканях. В эритроцитах взрослого человека концентрация 2,3-ДФГ составляет  $5 \cdot 10^{-3}$  ммоль, т. е. на каждую молекулу гемоглобина приходится ~ 1 молекула 2,3-ДФГ, что составляет около 64% всех органических фосфатов эритроцита. Как было отмечено ранее, 2,3-ДФГ снижает сродство гемоглобина к кислороду, вклиниваясь между  $\beta$ -цепями тетрамера, взаимодействуя при этом с лизином, гистидином, валином каждой  $\beta$ -цепи. Полагают, что молекула двуокиси углерода конкурирует за уча-



сток связывания и частичное освобождение ДФГ при оксигенации (Л. Проссер, 1977).

Установлено, что 2,3-ДФГ вступает во взаимодействие с дезоксигенированным гемоглобином активнее, чем с оксиформой (Т. Groth et al., 1977), и выявлена обратная корреляция между количеством связанного 2,3-ДФГ и насыщением гемоглобина кислородом (R.P.W. Caldwell, R.L. Nagel, 1973).

2,3-ДФГ влияет на сродство гемоглобина к кислороду при снижении внутриэритроцитарной рН (M.Samaja, R.M. Winslow, 1979), что с коммуляцией внутри клетки отрицательно заряженных анионов (снижение рН) приводит к уменьшению сродства гемоглобина к кислороду. Величина эффекта Бора в присутствии 2,3-ДФГ возрастает при сохранении рН в пределах физиологических значений, что облегчает отдачу гемоглобином кислорода (О.И. Моисеева, 1985).

Результаты сравнительных исследований содержания 2,3-ДФГ и АТФ в эритроцитах млекопитающих показали, что оно высокое в клетках человека, кролика, дельфина и свиньи и низкое – коров и кошки. В эритроцитах крови лошади и собаки – высокое содержание 2,3-ДФГ и предельно низкое – АТФ; в красных клетках крови коз не выявлены 2,3-ДФГ и фермент 2,3-ДФГФ, в связи с чем выдвинуто предположение, что дифосфоглицератный шунт у взрослых коз не всегда функционирует. В эритроцитах крови птиц и черепах вместо 2,3-ДФГ присутствует инозитгексафосфат (ИГФ); у рыб функцию 2,3-ДФГ выполняет АТФ (концентрация от 1 до  $2 \cdot 10^{-3}$  моля). В 2,3-ДФГ и АТФ сосредоточено до 45% всего фосфора эритроцитов; они снижают сродство гемоглобина и кислорода в 30 раз, облегчая таким образом отдачу кислорода. Не обнаружены органические фосфаты в эритроцитах круглоротых и их гемоглобин нечувствителен к 2,3-ДФГ и АТФ (О.И. Моисеева, 1985).

*Транспорт двуокиси углерода.* До 15%  $\text{CO}_2$  (двуокиси углерода), присутствующего в крови, переносится молекулами гемоглобина. В этом процессе ведущую роль играет карбоангидраза эритроцита. Растворенный  $\text{CO}_2$  диффундирует по градиенту напряжения из тканей в кровь. В капиллярах некоторое количество двуокиси углерода остается в плазме в растворенном состоянии, участвуя в стимуляции центрального дыхательного механизма. Большая часть  $\text{CO}_2$  поступает в эритроцит и подвергается гидра-

тации с образованием угольной кислоты, мгновенно диссоциирующей на ионы протона и гидрокарбоната:



В плазме эта реакция протекает медленно, в эритроцитах – ускорена в 10 000 раз благодаря эффектам карбоангидразы (П.А. Коржуев, 1964). Накопление  $\text{HCO}_3^-$  в эритроцитах приводит к тому, что между его внутренней средой и плазмой крови создается диффузионный градиент. Одновременно с выходом из эритроцита каждого  $\text{HCO}_3^-$ -иона взамен в эритроцит поступает ион  $\text{Cl}^-$ . Этот обменный процесс называется хлоридным сдвигом.

По мере диффузии  $\text{CO}_2$  в эритроците накапливается  $\text{H}^+$ , что не приводит к сдвигам pH вследствие буферной мягкости гемоглобина (гемоглобин связывает два  $\text{H}^+$ -иона на каждые четыре освобожденные молекулы  $\text{O}_2$  и определяет буферную емкость крови).

Двуокись углерода может связываться также посредством присоединения к аминогруппам белкового компонента гемоглобина. Реакция протекает без участия ферментов, т. е. не нуждается в катализе. При этом образуется остаток карбаминовой кислоты (карбамат) и высвобождается  $\text{H}^+$ :



В ходе образования карбаминовых комплексов снижается сродство гемоглобина к кислороду. Эффект сходен с действием низкого значения pH. В тканях, как известно, оно потенцирует высвобождение кислорода из оксигемоглобина при высокой концентрации  $\text{CO}_2$  (эффект Бора); связывание гемоглобина снижает сродство его аминогруппы к кислороду (эффект Холдена) (О.И. Моисеева, 1985).

Один литр крови поглощает до 1,8 ммоль  $\text{CO}_2$ ; из 50 %  $\text{CO}_2$ , содержащейся в венозной крови, 12% сохраняются в физически растворенном виде, 11% – образуют карбаминовые соединения с гемоглобином, 27% – транспортируются в виде  $\text{HCO}_3^-$ -ионов плазмой крови.

Насыщение крови двуокисью углерода при различных значениях его парциального давления отражают сатурационные кривые (saturation – насыщение). Общее содержание углекислого газа крови складывается из концентраций физически растворенной

и химически связанной двуокиси углерода, карбамата и гидрокарбоната (Л.И. Иржак, 1979).

С увеличением  $P_{CO_2}$  количество связанного  $CO_2$  постоянно возрастает, так как образование гидрокарбоната в крови практически не лимитировано (в сопоставлении с оксигенацией крови).

К тканевым капиллярам обычно притекает полностью оксигенированная кровь. По мере прохождения через капилляры кислород диффундирует в ткани, при этом способность крови поглощать  $CO_2$  увеличивается. В легких  $CO_2$  из крови легко выделяется в альвеолы, т. к. молекулярный  $CO_2$  легче проникает через биологические мембраны, чем  $O_2$ . По этой причине  $CO_2$  легко проникает в ткани и кровь; в эритроцитах связывание  $CO_2$  ускоряется карбоангидразой. Ткани обладают большой буферной емкостью, но не защищены от дефицита  $O_2$ , поэтому нарушение газообмена  $CO_2$  встречается реже и менее болезненно для организма, чем нарушение транспорта  $O_2$  (П.А. Коржуев, 1973; З.Н. Барбашова, 1977; 1981; Л.И. Иржак и соавт., 1985; Биохимия человека, 1993).

*Механизм неспецифической проницаемости эритроцитарных мембран в условиях кислородоотдачи.* Современными физико-химическими исследованиями диффузионных процессов в эритроцитах и тканях показано, что в капиллярах тканей – потребителей кислорода гемоглобин будет деоксигенироваться и адсорбироваться на мембране, а углекислота – входить в эритроцит в виде нейтральной молекулы  $CO_2$  и выходить – в виде отрицательных ионов  $HCO_3^-$ , вынося наружу отрицательный заряд, что приводит к снижению трансмембранной разности потенциалов, при этом активируется поток  $Na^+$  в эритроцит и клетка возвращается в состояние, характерное для нее при входе в альвеолярный капилляр. Таким образом, процесс деоксигенации сопряжен с повышением проницаемости клеточной мембраны.

По данным экспериментальных исследований М.В. Фока и соавт. (1999), в механизме повышения неспецифической проницаемости эритроцитарной мембраны в условиях газотранспорта ведущую роль играет неглобулярный поверхностный белок гликофорин. При входе эритроцита в капилляр, диаметр которого меньше его собственного, аминокислотные цепочки гликофорина прижимаются к поверхности его мембраны и нейтрализуют расположенные там положительные заряды, ответственные за поле в мембране. Поле ослабевает, проницаемость мембраны увеличивается и начинаются процессы газотранспорта.

### 2.3.2. Лейкоциты

Лейкоциты крови – гетерогенная группа клеток, которая по происхождению классифицируется на клетки миелоидные и лимфоидные, по функции – на фагоциты и иммуноциты, по морфологии клеточного ядра – на полиморфноядерные и мононуклеарные, по наличию цитоплазматических включений – на гранулоциты и агранулоциты (рис. 12).

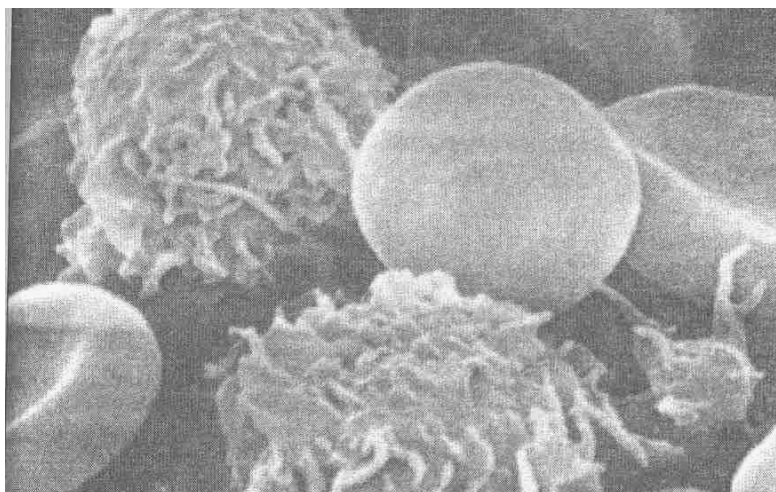


Рис. 12. Гранулоциты с гребневидными профилями.  $\times 7100$ .  
(Ю.К. Новодержкина и соавт., 2004)

**2.3.2.1. Общие свойства.** Лейкоциты – бесцветные клетки, содержат ядро и цитоплазму специфической структуры. Диаметр лейкоцитов от 5 до 22 мкм, продолжительность жизни – от нескольких часов до нескольких лет. У человека в 1 мкл крови – 6-8 тыс. лейкоцитов. Значительное и стойкое повышение числа лейкоцитов называют лейкоцитозом, уменьшение – лейкопенией. Различают физиологический лейкоцитоз (развивается после приема пищи, при мышечной работе, болевых ощущениях, при беременности, у детей при крике) и патологический (возникает при инфекционных болезнях, воспалительных процессах). Физиологический лейкоцитоз по своей природе – распределительный. В нем чаще всего участвуют селезенка, красный костный мозг, легкие. Патологический (реактивный) лейкоцитоз обусловлен повышенным выбросом в сосудистое русло клеток из органов кроветворения с преобладанием молодых популяций клеток.

Лейкопения отражает течение некоторых инфекционных заболеваний, а также состояния, связанные с угнетением функций кроветворных органов, например, при поражении красного костного мозга при лучевой болезни.

Лейкоциты обладают амебоидной подвижностью: скорость их движения может достигать  $40 \text{ мкм} \cdot \text{мин}^{-1}$ .

Процентное соотношение отдельных форм лейкоцитов называют лейкоцитарной формулой, или лейкограммой (табл. 5).

Таблица 5

**Лейкограмма взрослого человека (средние данные, %)**

Общее число лейкоцитов, тыс. в 1 мкл	Гранулоциты					Агранулоциты	
	Базофилы	Эозинофилы	Нейтрофилы			Лимфоциты	Моноциты
			юные	палочко-ядерные	сегментно-ядерные		
6-8	0-1	0,5-5	0-1	1-5	47-72	19-37	3-11

**2.3.2.2. Гранулоциты.** Нейтрофильные гранулоциты – самая многочисленная группа циркулирующих лейкоцитов. Термин «нейтрофильный» описывает внешний вид цитоплазматических гранул, которые при окраске по Романовскому – Гимзе имеют азурофильную окраску. В связи с наличием характерного сегментированного ядра нейтрофилы называют полиморфно-ядерными лейкоцитами (ПМЯЛ). ПМЯЛ мигрируют в очаги инфекции, где распознают, захватывают и уничтожают бактерии. Осуществление этой функции возможно благодаря наличию у них хемотаксиса, адгезии и фагоцитоза (Ф.Дж. Шиффман, 2000).

Размеры нейтрофильных гранулоцитов в мазках крови варьируют от 10 до 15 мкм. Плазмолемма нейтрофильных гранулоцитов выполняет рецепторную функцию, участвует в фагоцитозе и транспорте веществ (эндо- и экзоцитоз; в частности, дегрануляция). На плазмолемме находятся рецепторы адгезивных веществ, цитокинов, колониестимулирующих факторов, медиаторов воспаления, иммуноглобулинов класса G, C3b-компонента комплекса, молекулы главного комплекса гистосовместимости (HLA).

Ядро нейтрофильных гранулоцитов имеет неодинаковое строение в зависимости от степени дифференцированности клетки. По строению ядра различают сегментоядерные, палочкоядерные и юные нейтрофильные гранулоциты. Наиболее зрелыми считают сегментоядерные нейтрофилы, у человека они составля-

ют 60-65% от общего числа лейкоцитов. Для них типично дольчатое ядро, представленное 2-5 сегментами, соединенными нитевидными перетяжками. У женщин около 3% таких клеток содержат хорошо выраженный мелкий придаток ядра в виде барабанной палочки, который представляет X-хромосому (половой хроматин, тельце Барра).

Палочкоядерные нейтрофилы – молодые клетки (составляют 3-5% от общего числа). Их ядро в виде палочки или подковы, не сегментировано, но содержит намечающиеся перетяжки, которые углубляются по мере созревания клеток.

Юные нейтрофильные гранулоциты – самые молодые клетки (составляют до 0,5% от общего количества лейкоцитов), их ядро бобовидной формы, светлее, чем у палочкоядерных и сегментоядерных форм (Физиология лейкоцитов человека, 1979).

Механизм и биологический смысл сегментации ядер нейтрофилов до конца не раскрыты. Предполагают, что сегментирование ядра повышает способность клетки к деформации и облегчает ее прохождение через сосудистую стенку в ткани. Установлено, что сегментоядерные нейтрофилы не являются старой, исчерпывающей свои потенции, клеткой: в определенных условиях (например, в процессе воспалительной реакции) в ней возобновляется синтез РНК, в результате чего нейтрофил трансформируется в клетку с новыми качествами и функциональными возможностями. Полагают, что процесс сегментации ядер нейтрофилов подвижный и зависим от сезона года и воздействия на организм неблагоприятных факторов (Ю.А. Антонишкис, 2006).

Цитоплазматические гранулы нейтрофилов многочисленны (50-200 в каждой клетке) и подразделяются на первичные, вторичные и третичные. Первичные (азурофильные, неспецифические) гранулы появляются на ранних стадиях развития. Это самые крупные гранулы (диаметр 400-800 нм), содержат лизоцим, миелопероксидазу, нейтральные протеиназы, кислые гидролазы, катионные антимикробные белки, бактерицидный белок, увеличивающие проницаемость. Ферменты этих гранул активны в кислой среде и обеспечивают внутриклеточное уничтожение микробов. Вторичные (специфические) гранулы появляются на стадии промиелоцита и миелоцита, диаметром 100-300 нм, содержат лизоцим, лактоферрин, щелочную фосфатазу, коллагеназу, активатор плазминогена, адгезивные белки. Все эти вещества секре-

тируются в межклеточное пространство, мобилизуют медиаторы воспаления, активируют систему комплемента, участвуют во внутриклеточном разрушении микробов. Третичные гранулы (желатиновые) – диаметром 400-800 нм; главным их компонентом являются желатиназа, лизоцим и адгезивные белки. Третичные гранулы участвуют в переваривании субстратов в межклеточном пространстве. Адгезивные молекулы этих гранул участвуют в прикреплении нейтрофила к эндотелию, а желатиназа увеличивает проницаемость базальной мембраны, т.к. переваривает находящийся в ней коллаген IV типа.

Нейтрофилы с кровью непрерывно поставляются в кожу, слизистые оболочки и другие периферические ткани. Их суточный оборот составляет порядка 100 млрд клеток. Для нейтрофилов свойственна способность повышать свою численность, когда это необходимо организму, за счет расширения пула пролиферирующих и «рекрутирования» зрелых клеток. Большую часть своей жизни (15 сут) нейтрофилы проводят в костном мозге. Проллиферативный пул нейтрофильных предшественников состоит из коммитированных (КОЕ-ГМ, КОЕ-Г) и нейтрофильных предшественников вплоть до стадии миелоцита. Расширение пула ускоряется воспалительными цитокинами: Г-КСФ, ГМ-КСФ. На пути к периферическим тканям половина внутрисосудистых гранулоцитов находится в движении, другая часть обратимо прилипает к стенкам сосудов (пристеночные клетки). При инфекции или воспалении они могут быть быстро востребованы (Т.Р. Stossel, 1994).

Эозинофилы имеют двухдольчатое ядро и цитоплазму, заполненную ярко-оранжевыми гранулами. Размеры эозинофильных гранулоцитов в мазках – 12-17 мкм. Изредка могут встречаться палочкоядерные и юные формы. Цитоплазма включает гранулы двух типов – специфические (эозинофильные) и неспецифические (азурофильные). Основные (положительно заряженные) белки имеют высокое сродство к эозину и окрашиваются в оранжевый цвет. Эозинофильные гранулы содержат эозинофильный катионный белок, эозинофильную пероксидазу, гистаминазу. Эозинофильные катионные белки обладают антибактериальным и антипротерозойным действием. Азурофильные гранулы – средних размеров (0,1-0,5 мкм), с плотным матриксом, включают кислую фосфатазу, арилсульфатазу. Количество этих гранул снижается по мере созревания.

ния. Эозинофилы играют особую роль в контроле аллергии, в противоглистном иммунитете и снижении реакции гиперчувствительности немедленного типа. Эозинофилам присуща также иммунорегуляторная функция – ограничение области аллергической реакции, создание препятствий в распространении из нее антигенов и медиаторов воспаления, выработка ряда цитокинов.

Базофилы – малочисленная группа циркулирующих гранулоцитов (менее 1% лейкоцитов). Размеры базофильных гранулоцитов в мазках составляют 9-12 мкм. Ядро дольчатое, или S-образное, часто трудноразличимое, т.к. маскируется цитоплазматическими гранулами. В цитоплазме выявляются гранулы двух типов – специфические (базофильные) и неспецифические (азурофильные). Базофильные гранулы содержат сульфатированные гликозаминогликаны, связанные с белками (гепарин, хондроитин-сульфат, гистамин), ферменты, хемотаксические факторы нейтрофилов и эозинофилов. Азурофильные гранулы представляют лизосомы. Базофилы участвуют в аллергических реакциях, т.к. несут на своей мембране IgE-рецепторы, при соответствующей стимуляции освобождают гистамин. Гомеостатическая функция базофилов связана с синтезируемыми в их клетках биологически активными веществами, которые влияют на сократимость гладких миоцитов, проницаемость сосудов, свертываемость крови, секрецию желез, обладают фагоцитозом и хемотаксическим действием.

**2.3.2.3. Агранулоциты.** Моноциты циркулируют в крови в виде крупных клеток с бобовидным ядром и цитоплазмой синевато-серого цвета. Размеры моноцитов в мазках – 18-20 мкм. Крупное ядро занимает до половины площади клетки, эксцентрично расположено, бобовидной формы. Цитоплазма слабобазофильная, содержит все органеллы общего значения, а также азурофильные гранулы (лизосомы), богатые гидролитическими ферментами. Антимикробные системы моноцита включают лизоцим, лактоферрин, кислую фосфатазу, арилсульфатазу, перекись водорода, окись азота (NO). Мигрировав в ткани, моноциты превращаются в макрофаги мононуклеарной фагоцитарной системы (МФС). Макрофаги участвуют в захвате, процессинге и представлении антигенов лимфоцитам при индукции клеточных и гуморальных иммунных реакций. Синтезируемые ими цитокины, интерлейкины, интерфероны способствуют клеточной координации сложных взаимодействий в иммунном ответе.



Лимфоциты – небольшие мононуклеарные клетки, осуществляющие специфический иммунный ответ. Их размеры варьируют в широких пределах. По морфологии лимфоциты делят на малые (с диаметром 6-7 мкм, составляют 80-90% от всех лимфоцитов), средние (с диаметром 8-9 мкм, до 10%) и большие (с диаметром 10-18 мкм, встречаются только в лимфоидной ткани); по функции – на Т- и В-лимфоциты. Выделяют также НК-клетки (нулевые лимфоциты, или натуральные киллеры), которые по своим функциональным характеристикам не относятся ни к В-, ни к Т-лимфоцитам. Ядро лимфоцитов круглое, овальное, темное, занимает до 90% объема клетки. Цитоплазма окружает ядро в виде узкого ободка, резко базофильная, содержит слабо-развитые органеллы, но хорошо развитый цитоскелет.

Известно пять типов Т-лимфоцитов:

1) Тк (Т-киллеры) – осуществляют прямой контакт с клеткой-мишенью, выполняя клеточную форму защиты организма, участвуют в отторжении, гиперчувствительности замедленного типа, противоопухолевом и противовирусном иммунитете;

2) Th (Т-хелперы) – взаимодействуют с В-лимфоцитами, стимулируя их трансформацию в клон клеток – продуцентов антител;

3) Ts (Т-супрессоры) – подавляют-выработку антител, действуя на В-клетки, участвуют в механизмах иммунологической толерантности. Ts делятся на специфические (накапливаются под действием определенного антигена) и неспецифические (накапливаются под действием повторных введений антигенов или митогенов);

4) клетки памяти – возникают под действием антигенного стимула, оставаясь, не дифференцируясь, в лимфатических узлах в виде малых лимфоцитов;

5) клетки-амплифайеры – зрелые Т-клетки, короткоживущие, способствуют размножению популяций Т-клеток, находятся в тимусе и селезенке, не рециркулируют, представляют разновидность Th.

Установлено, что супрессорная популяция лимфоцитов появляется при особых функциональных состояниях Т-лимфоцитов. Два типа лимфоцитов в условиях внешней стимуляции системы начинают продуцировать цитокины, ингибирующие пролиферацию и функциональную активность других клеток. В таком состоянии они называются Т-супрессорами. Один тип таких лим-

фоцитов  $CD4^+$  продуцирует много  $TGF-\beta_1$  (иногда их называют  $Th_3$ ), второй тип лимфоцитов  $CD8^+$  развивается в присутствии  $IL-10$  и продуцирует его в больших количествах (иногда их называют  $Tr1$  – Т-регуляторы 1-го типа).  $IL-10$  снижает активность макрофагов и продукцию ими  $IL-12$ , без которого тормозится развитие  $Th1$ , что приводит к супрессии иммунного ответа (В.А. Козлов, 1985; Р.М. Хаитов и соавт., 2000).

Выделяют четыре субпопуляции В-лимфоцитов: В1 (В-1 а, В-1 в, МZ-В-клетки), осуществляющие функцию первой линии защиты организма от инфекции, и В2. В1-лимфоциты несут мембранный маркер  $CD5$ , поддерживают свою физиологическую регенерацию в течение всей жизни из отдельной клетки-предшественницы, пул которой пополняется за счет общей СКК. Эта клетка-предшественница в эмбриональном периоде отселяется из кроветворной ткани на свою анатомическую территорию – в брюшную и плевральную полости. Место обитания В1-лимфоцитов – прибарьерные полости. В2-лимфоциты – клетки с высоким разнообразием антигенраспознающих участков молекул продуцируемых ими иммуноглобулинов. Их ранний эмбриональный лимфопоэз проходит на территории печени, затем – костного мозга, а иммуногенез – в фолликулах периферических лимфоидных органов. В2-лимфоциты осуществляют функцию связи врожденного и адаптивного иммунитета, обеспечивает высокоспецифичный иммунитет, обладающий памятью (Е.В. Сидорова, 2006).

В лимфопоэзе В2-лимфоцит проходит несколько этапов: ранняя проВ-клетка, поздняя проВ-клетка, зрелая неиммунная В-клетка, которая выходит из костного мозга в периферическую лимфоидную ткань (В.А. Козлов и соавт., 1982). В процессе дифференцировки В-лимфоцитов осуществляется перестройка генов иммуноглобулинов. Наличие субпопуляций В-лимфоцитов отражает эволюцию эволюционного процесса, направленного на оптимальную защиту организма от патогенов. Селекцию В-клеток осуществляют внешние и внутренние факторы; отмечена также базальная активность В-клеток (Е.В. Сидорова, 2006).

Методом растровой электронной микроскопии установлены специфические особенности поверхности лейкоцитов: ворсинчатая структура цитомембраны лимфоцита; длинные отростки моноцитов; отростки в форме редких полусфер на поверхности эо-

зинофилов и базофилов; узкие и короткие отростки нейтрофилов (Л.Д. Крымский и соавт., 1976; Кровь и инфекция, 2001). Лейкоциты имеют хорошо развитый внешний примембранный слой – гликокаликс, функционально полиморфный благодаря высокой адаптивности его рецепторных структур (С.В. Левин, 1976; О.А. Хомутовский, 1984).

Все лимфоциты образуются из стволовых кроветворных клеток костного мозга, затем переносятся к тканям, где проходят дальнейшую дифференциацию. При этом одни лимфоциты развиваются и зреют в тимусе, превращаясь в иммунокомпетентные Т-лимфоциты, которые вновь возвращаются в кровяное русло. Другие клетки попадают в фабрициеву сумку (бурсу) – у птиц или выполняющую ее функцию лимфоидную ткань миндалин, аппендикса, пейеровых бляшек кишки – у млекопитающих. Здесь они превращаются в зрелые В-лимфоциты, вновь выходят в кровоток и разносятся к лимфатическим узлам, селезенке и другим лимфоидным образованиям. Часть лимфоцитов (10-20%) не проходит дифференцировку – эти клетки называются нулевыми лимфоцитами. При необходимости они могут превращаться в Т- и В-лимфоциты, моноциты, фибробласты и макрофаги.

Лимфоциты обеспечивают генетическую чистоту организма: отторжение чужеродной ткани, уничтожение собственных мутантных клеток и замену новыми при участии или под их контролем. Специфическая защита от антигенов достигается благодаря выработке антител (гуморальный иммунитет) или контактному взаимодействию клеток-эффекторов иммунной системы (клеточный иммунитет). При стрессе лимфоциты разрушаются под влиянием гормонов гипофиза и коры надпочечников. Разрушение сопровождается высвобождением и выделением иммунных тел. Помимо участия в реакциях иммунологической защиты, лимфоциты играют роль регуляторов кроветворной функции: определяют соотношение клеток крови (эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов).

Дендритные клетки (ДК) – это профессиональные антиген-презентирующие клетки; играют важную роль в инициации специфического иммунного ответа. Функция ДК заключается в захвате антигена отростками и его презентации Т-лимфоцитами. Популяция ДК – гетерогенна; они встречаются в разных органах и тканях; происходят из СКК. Дендритные клетки участвуют во

всех иммунных процессах, способны стимулировать наивные Т-клетки и Т-клетки памяти; участвуют в развитии врожденного иммунитета (Т.К. Борисова, 2006)

### **2.3.3. Тромбоциты.**

Тромбоциты, или кровяные пластинки, – безъядерные у млекопитающих животных и человека клетки. У всех других позвоночных, в том числе и у птиц, тромбоциты содержат ядро.

Тромбоциты – клетки неправильной округлой формы, диаметром 1-4 мкм. Они образуются в костном мозге в результате фрагментации участков цитоплазмы от мегакариоцитов, поступают в кровь, в которой находятся в течение 5-10 суток, после чего фагоцитируются макрофагами, преимущественно в селезенке и легком. Часть тромбоцитов разрушается за пределами кровеносного русла при повреждении стенки сосудов. Общее количество тромбоцитов в крови взрослого человека  $200-400 \cdot 10^9 \text{ л}^{-1}$ , из этого числа  $2/3$  циркулируют в русле,  $1/3$  – вне циркуляции, в красной пульпе селезенки.

Период созревания тромбоцитов составляет около 8 суток, продолжительность их жизни – от 5 до 11 суток. Их количество возрастает (тромбоцитоз) после приема пищи, при мышечных нагрузках, беременности. Снижение числа тромбоцитов (тромбопения) наблюдается у человека в пожилом возрасте, при лучевой болезни, при воздействии на организм некоторых химических веществ.

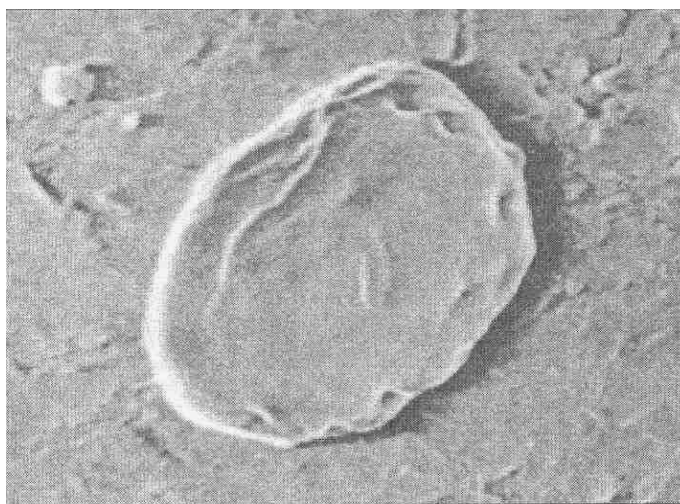
Функции тромбоцитов многообразны:

- остановка кровотечения при повреждении стенки сосудов (первичный гемостаз);
- обеспечение свертываемости крови (гемокоагуляция) – вторичный гемостаз совместно с эндотелием кровеносных сосудов и плазмой крови;
- участие в реакциях заживления ран и воспаления;
- ангиотрофическая (обеспечение нормальной функции сосудов, в первую очередь их эндотелиальной выстилки).

Тромбоцит окружен плазмолеммой и включает прозрачную наружную часть гиаломер и центральную, окрашенную, содержащую азурофильные гранулы – грануломер. Плазмолемма тромбоцитов покрыта снаружи толстым слоем гликокаликса

(150-200 нм). Она содержит многочисленные рецепторы, регулирующие функциональную активность тромбоцитов, обуславливающие их адгезию к эндотелию сосудов и агрегацию. Важными в функциональном отношении являются рецепторные гликопротеины Ib (GP Ib), IIb (GP IIb) и IIIa (GP IIIa), рецепторы к АДФ, адреналину, тромбину, фактору Хаb, фактору агрегации тромбоцитов, коллагену.

Большинство исследователей считают одним из важных факторов гемостаза состояние поверхности тромбоцитов. Используя метод растровой электронной микроскопии J.G. White, С.С. Clawson (1980) было установлено, что тромбоцит в «спокойном» состоянии имеет ровные гладкие контуры. В крови здорового человека дискоидные (гладкие) без отростков формы тромбоциты составляют 65-90% (рис. 13).

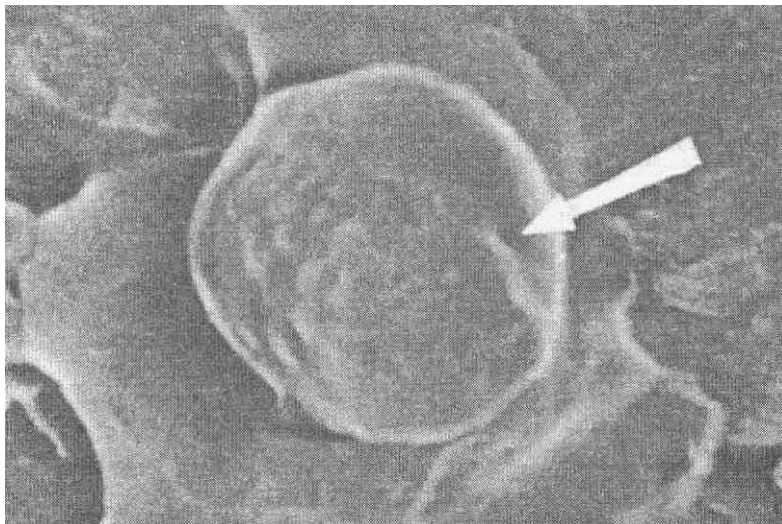


*Рис. 13.* Двояковыпуклый тромбоцит; по периметру клетки – точечные отверстия (поры).  $\times 12000$  (Ю.К. Новодержкина и соавт., 2004)

На поверхности тромбоцитов имеются мелкие впадины и поры, которые соответствуют участкам глубоких инвагинаций плазматической мембраны (рис. 14).

Гиаломер тромбоцитов включает две морфологически независимые мембранные системы: 1 – поверхностно-васкулярная система, состоит из канальцев, пронизывающих тромбоцит и сообщающихся с ее поверхностью. Основная функция поверхностно-васкулярной системы – экзоцитоз содержимого гранул и транспорт веществ между тромбоцитом и внеклеточной средой. Эта система образует множество инвагинаций, что увеличивает площадь тромбоцита и способствует его функциональной активности в гемо-

стазе и фагоцитарных реакциях; 2 – плотная тубулярная система, образуется комплексом Гольджи мегакариоцитов, представлена узкими извилистыми каналами, заполненными аморфным веществом, которые связывают двухвалентные катионы ( $\text{Ca}^{2+}$ ); обладает пероксидазной активностью, вырабатывает простагландины.



*Рис. 14.* Дискоидный тромбоцит; стрелкой указаны точечные отверстия.  $\times 10000$   
(Ю.К. Новодержкина и соавт., 2004)

Цитоскелет тромбоцитов представлен микротрубочками, микрофиламентами и промежуточными филаментами. Микротрубочки (от 4 до 15) располагаются по периферии цитоплазмы и формируют краевое кольцо, выступающее каркасом и поддерживающее форму тромбоцитов. Микрофиламенты, образованные актином, проходят по всей цитоплазме тромбоцита в виде коротких нитей. В гиаломере они концентрируются между пучком микротрубочек и плазмолеммой, образуя подмембранный аппарат, который участвует в формировании выпячиваний плазмолеммы при движении и агрегации тромбоцитов. Промежуточные филаменты образованы белком виментином под плазмолеммой.

Грануломер содержит практически все органеллы общего значения и гранулы нескольких типов. Самые крупные –  $\alpha$ -гранулы (диаметр 300-500 нм), с плотным матриксом, в котором содержатся: фибриноген, фибронектин, тромбоспондин, тромбоглобулин, тромбоцитарный фактор роста, фактор свертывания V, фактор Виллебранда.  $\delta$ -гранулы – мембранные пузырьки диаметром 250-300 нм с плотным матриксом, содержащим АДФ, АТФ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ , пиррофосфат, гистамин, серотонин. Самые мелкие  $\lambda$ -гранулы (диаметр 200-250 нм) содержат гидролитические ферменты и являются лизосомами.

### **3.1. СИСТЕМА ГЕМОСТАЗА**

Гемостаз – комплекс реакций, направленных на остановку кровотечения при травме сосудов. Факторы гемостаза обеспечивают сохранение жидкого состояния крови, регулируют транскапиллярный обмен, воздействуют на резистентность сосудистой стенки и интенсивность восстановительных процессов. Различают сосудисто-тромбоцитарный гемостаз, обеспечивающий остановку кровотечения из мелких сосудов с низким кровяным давлением, и процесс свертывания крови, развивающийся при повреждениях крупных артерий и вен.

#### **3.1.1. Сосудисто-тромбоцитарный гемостаз**

Гемостатический процесс начинается с травмы или разрыва сосудов и заканчивается образованием тромбоцито-фибриновой сетки (гемостатическая пробка), которая выполняет функцию механического затвора, предотвращающего дальнейшую кровопотерю, и очага для восстановления тканей.

Сосудисто-тромбоцитарный гемостаз включает:

1) временный (первичный) спазм сосудов. Развивается в первые 10-15 с, обусловлен выбросом в кровь в ответ на болевое раздражение адреналина и норадреналина. Развивающийся вторичный спазм сосудов возникает при активации тромбоцитов и отдаче в кровь сосудосуживающих веществ – серотонина,  $T_xA_2$ , адреналина;

2) образование тромбоцитарной пробки за счет адгезии и агрегации тромбоцитов. Адгезия обусловлена присутствием в плазме и тромбоцитах фактора Виллебранда (FW), его два (из трех) активных центра связываются с экспрессивными рецепторами тромбоцитов, третий – с рецепторами субэндотелия и коллагеновых волокон. В результате тромбоцит оказывается сцепленным с поверхностью поврежденного сосуда. Агрегация тромбоцитов осуществля-

ется с участием фибриногена. Процессы адгезии и агрегации развиваются с участием интегринов – комплекса белков и полипептидов, необходимых для склеивания тромбоцитов между собой и со структурами поврежденного сосуда;

3) ретракцию – сокращение и уплотнение тромбоцитарной пробки. Развивается под влиянием АДФ, адреналина, норадреналина, факторов  $P_4$ ,  $T_xA_2$ , выделяющихся в составе гранул из тромбоцитов. Выделение тромбоцитарных факторов способствует образованию тромбина, усиливающего агрегацию и приводящего к появлению сети фибрина.

Сосудисто-тромбоцитарный гемостаз протекает с участием простагландинов –  $I_2(PgI_2)$  и  $T_xA_2$ .

### **3.1.2. Процесс свертывания крови**

Вторичный гемостаз обеспечивает плотное закрытие поврежденного сосуда тромбом вследствие необратимой агрегации тромбоцитов и образования кровяного сгустка (свертывание крови).

**3.1.2.1. Клеточные и плазменные факторы свертывания крови.** Свертывание крови включает цепь последовательных ферментативных процессов, протекающих при участии протеолитических ферментов, приводящих к выпадению в осадок белка плазмы фибриногена и образованию кровяного сгустка из нитей фибрина и захваченных клеток крови. Основные этапы процесса ферментативного свертывания крови были сформулированы А.А. Шмидтом (1872) и уточнены П. Моровцем (1905). На каждой стадии биологического каскада профермент превращается в соответствующую сериновую протеазу, которая катализирует превращение следующего профермента в протеазу. Сериновые протеазы гидролизуют пептидные связи в активном центре, основу которого составляет аминокислота серин. Тринадцать белков (факторы свертывания) формируют систему свертывания крови. Из них семь активируются до сериновых протеаз (факторы XII, XI, IX, X, II, VII, прекаликреин), три являются кофакторами этих реакций (факторы V, VII, высокомолекулярный кининоген), один – кофактор / рецептор (фактор III), один – трансглутаминаза (фактор XIII) и фибриноген (фактор I), служащий субстратом для образования фибрина (Ф. Дж. Шиффман, 2000; табл. 6).

В свертывании крови участвуют также 12 факторов, содержащихся в тромбоцитах; их называют тромбоцитарными и обозначают арабскими цифрами. Например, фактор 3 – тромбоци-



тарный тромбопластин, освобождается после разрушения тромбоцитов; фактор 4 – антигепариновый, ускоряющий процесс гемокоагуляции; фактор 10 – серотонин – сосудосуживающий; фактор 11 – фактор агрегации, обеспечивающий скупивание тромбоцитов в поврежденном сосуде.

Таблица 6

**Характеристика факторов свертывания крови**

Фактор	Название, синонимы	Природа, место обнаружения	Функции и свойства	Период полураспада	Количество в плазме крови, мг/мл
1	2	3	4	5	6
I	Фибриноген	Белок плазмы. Печень	Предшественник фибрина. Участвует в агрегации тромбоцитов и репарации тканей	3,7 сут	1500-4000
II	Протромбин	Гликопротеин. Печень	Предшественник тромбина (ф. IIa)	2,8 сут	150
III	Тромбопластины	Фосфолипид. Плазма, ткани, тромбоциты	Активирует протромбин. Катализирует превращение фактора II в факт II a	–	0
IV	Ca <sup>2+</sup>	В плазме	Активирует все ферменты свертывания крови	–	0,9-1,2 ммоль/л
V	Проакцелерин	Ас-глобулин. Печень	Катализирует превращение фактора II в факторов II a	15-24 ч	10,0
VI	Акцелерин	Активная форма фактора V	Активируется тромбином и Ca <sup>2+</sup>	1,2-6 ч	> 1
VII	Проконвертин	β-глобулин. Печень	Ускоряет образование тромбина путем активации фактора X в присутствии Ca <sup>2+</sup>	–	> 0,5
VIII	Антигемофильный глобулин A	β-глобулин. Печень, почки	Активирует образование фактора III (эндогенного), образование протромбокиназы. Активируется фактором IXa и Ca <sup>2+</sup>	5-24 ч	5

1	2	3	4	5	6
	FW, фактор Виллебранда	Компонент фактора VIII	Необходим для адгезии тромбоцитов		
IX	Антигемофильный глобулин В	Гликопротеид. Печень.	Образование тромбопластина (I фаза гемокоагуляции). Эффективен в присутствии фактора IXa и Ca <sup>2+</sup>	24-40 ч	
X	Фактор Стюарта-Прауэра	Гликопротеид. Печень	Ускоряет образование тканевой и кровяной протромбиназ. Переводит фактор II в фактор IIa	32-48 ч	8
XI	Плазменный предшественник тромбопластина, ППТ	Глобулин, контактчувствительная протеаза. Печень	Образование тромбопластина. Активирует фактор XII	40-48 ч	5
XII	Фактор Хагемана	Гликопротеин, контактчувствительная протеаза. Печень	Активирует фактор XI и прокалликреин. Запуск фибринолиза и синтез протромбиназы	48-52 ч	35
XIII	Фибринстабилизирующий фактор	Транспептидаза. Печень	Стабилизирует фибрин (образование нерастворимого фибрина) в присутствии Ca <sup>2+</sup> и тромбина. Участвует в репаративных процессах	5-12 сут	20

Примечание: а – активная форма фермента.

Все факторы объединены в сложную свертывающую систему, их взаимодействие происходит в определенной последовательности. Факторы, действующие на начальных этапах, требуются в малых количествах, их эффекты многократно усиливаются на последующих этапах.

**3.1.2.2. Пути активации свертывания крови.** Основным путем активации свертывания *in vitro* считается внешний путь. Его компонентами являются: тканевый фактор III, его ингибитор (ингибитор превращения тканевого фактора, ИПТФ), плазменный фактор VII. Активация фактора VII приводит к открытию его активного серинового центра, что инициируется его связыванием с тканевым фактором III и  $Ca^{2+}$ . Фактор VII может активироваться также за счет протеолитического действия тромбина, ФХIIа, ФIXа, ФХа и способности к самоактивации. Комплекс ФIII/ФVIIа/ $Ca^{2+}$  действует на ФХ и ФIX, в результате чего образуется тромбин (рис. 15).

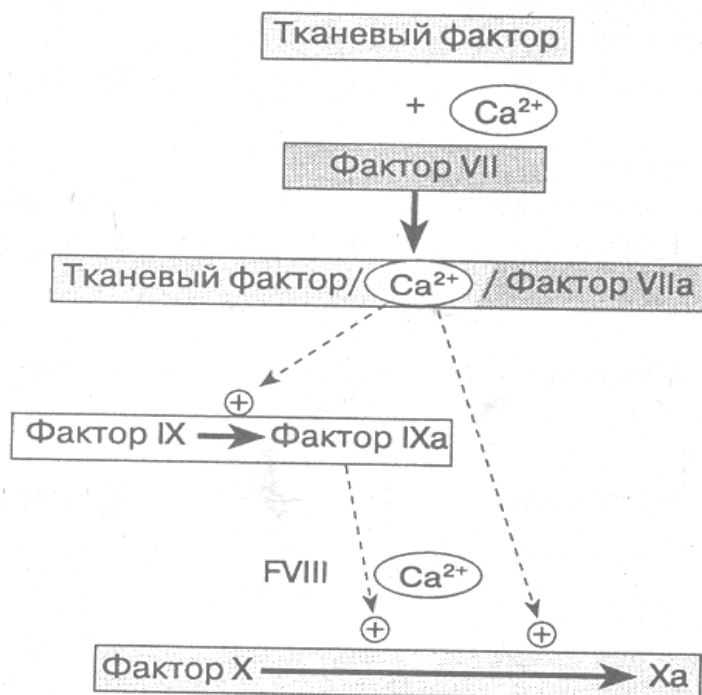


Рис. 15. Внешний путь активации системы свертывания крови (Ф. Дж. Шиффман, 2000)

Внутренний путь активации свертывания крови предопределяет коагуляцию, инициируемую компонентами, находящимися в пределах сосудистой стенки. *In vivo* этот путь протекает параллельно с внешним. Компоненты пути: факторы XII, XI, IX, VII, кофакторы – высокомолекулярный кининоген (ВМК), прекалликреин (ПК) и их ингибиторы. Инициация активации ФXII

начинается с обнажения отрицательно заряженной поверхности коллагена в пределах сосудистой стенки и освобождения активного серинового центра (ФХIIa). Наличие небольшого количества ФХIIa вызывает активацию его субстратов: ПК, ВМК и ФХI. ПК и ФХI связываются с активирующей поверхностью посредством ВМК, который в таком виде расщепляется калликреином (К) или связанным с поверхностью ФХII, что вызывает взаимную активацию систем ПК-ФХII. ФХIIa расщепляет ФХI до ФХIa, а прекалликреин – до калликреина. Образовавшийся калликреин превращает ВМК в ВМКa и брадикинин. Калликреин в комплексе с ВМК десорбируется в жидкую фазу и взаимодействует с ФХII, плазминогеном, проренином и C1 (компонентом комплемента) (рис. 16).

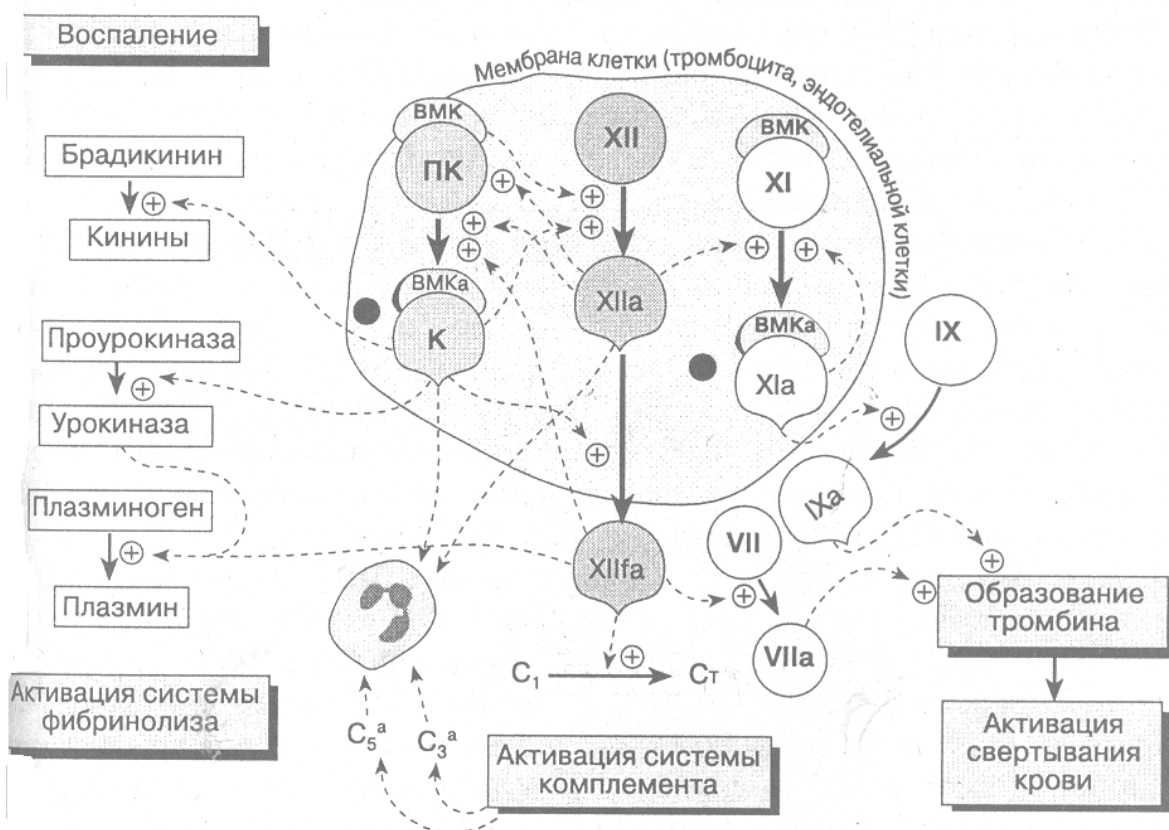


Рис. 16. Внутренний путь активации системы свертывания крови (Ф.Дж. Шиффман, 2000)

Калликреин воздействует на ФХIIa, отщепляя фрагмент ФХIIIf, который сохраняет активный сериновый участок, но утрачивает домен связывания. Данная реакция выключает поверхностно-связанное свертывание. ФХIIIf в жидкой фазе действует как мощный активатор прекалликреина, превращая ФVII в ФVIIa,

C1 – в активированный C1. ФХIа связан с ВМК и тесно прикреплен к поверхности. ФХIа превращает ФIХ в ФIХа как в жидкой фазе, так и на тромбоцитарных мембраносвязанных фосфолипидах (см. рис. 16). Активированный ФIХ требует наличия  $Ca^{2+}$  и ФVIII (действует как мощный ускоритель завершающей ферментативной реакции) для прикрепления к тромбоцитарному фосфолипиду и превращения ФIХ в ФIХа.

Завершение процесса активации свертывания крови называется общим путем. В этой стадии ФIХа связанный с ФVa на фосфолипидной поверхности в присутствии  $Ca^{2+}$  (протромбиназный комплекс) превращает протромбин (ФII) в тромбин (ФIIа). Указанный процесс является наиболее важным физиологическим путем превращения протромбина в тромбин. Протромбиназа расщепляет протромбин в двух местах, в результате образуется  $\alpha$ -тромбин и протромбиновый фрагмент 1.2. Тромбин вызывает гидролиз фибриногена до фибрина, расщепляя в первую очередь аргинин-глициновые связи фибриногена с образованием двух пептидов и мономера фибрина. Кроме того, тромбин активирует ФXII, который в присутствии ионов  $Ca^{2+}$  связывает боковые цепи фибрина. Между мономерами возникают многочисленные поперечные связи, создающие сеть взаимодействующих фибриновых волокон (фибрин II), способных удерживать тромбоцитарную массу на месте травмы (рис. 17).

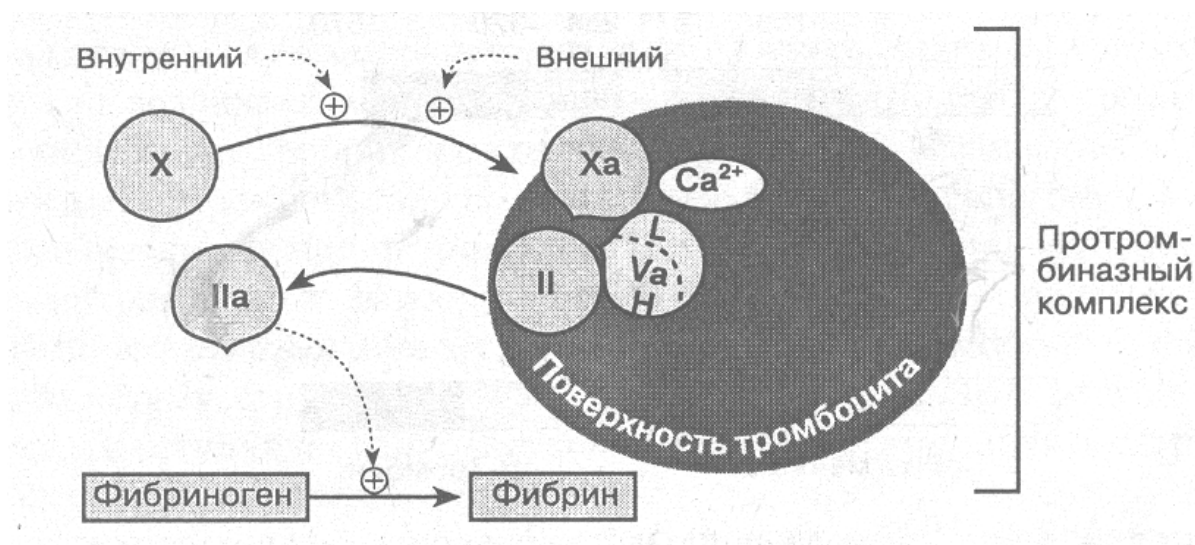


Рис. 17. Общий путь активации системы свертывания крови (Ф. Дж. Шиффман, 2000)

### 3.1.3. Регуляция свертывания крови и фибринолиза

Свертывание крови в физиологических условиях осуществляется в течение 5-10 мин. Наиболее продолжителен этап образования протромбиназы. Переход протромбина в тромбин и фибриногена в фибрин осуществляется достаточно быстро.

Значительный вклад в изучение регуляции свертывания крови и фибринолиза внесли отечественные ученые Е.С. Ивацкий-Василенко, А.А. Маркосян, Б.А. Кудряшов, С.А. Георгиева и др.

К регулирующим факторам системы свертывания относят: кровоток и гемодилуцию; клиренс, осуществляемый печенью и мононуклеарной фагоцитарной системой; протеолитическое действие тромбина; ингибиторы сериновых протеаз; фибринолиз.

*Кровоток и гемодилуция.* При быстром кровотоке происходит разбавление актиновых сериновых протеаз и транспорт их в печень для утилизации. Кроме того, диспергируются и отсоединяются периферические тромбоциты от тромбоцитарных агрегатов, что ограничивает размер растущей гемостатической пробки.

*Клиренс печенью и МФС.* Растворимые актиновые сериновые протеазы инактивируются и удаляются из кровообращения гепатоцитами и МФС печени (купферовскими клетками).

*Протеолитический эффект тромбина.* Тромбин ускоряет отложение фибрина на месте повреждения ткани за счет усиления активации факторов XI, V, VIII. Однако одновременно тромбин может ограничивать гемостаз, вызывая протеолиз и деградацию факторов XI, V, VIII, облегчающих их инактивацию соответствующими ингибиторами и быстрый клиренс. Тромбин обеспечивает гемостатический контроль, инициируя активацию фибринолитической системы с участием белка С, что ведет к растворению фибрина, в том числе за счет стимуляции лейкоцитов (клеточный фибринолиз).

*Ингибиторы сериновых протеаз.* Процесс свертывания крови контролируется присутствующими в плазме белками (ингибиторами), ограничивающими выраженность протеолитических реакций и обеспечивающих защиту от тромбообразования.

Главные ингибиторы свертывания крови – антитромбин III (АТ III), гепариновый кофактор II (ГК II), протеин С (ПС), протеин S (PS), ингибитор пути тканевого фактора (ИПТФ), протеазанексин-1 (ПН-1), С1-ингибитор,  $\alpha_1$ -антитрипсин ( $\alpha_1$ -АТ) и

$\alpha_2$ -макроглобулин ( $\alpha_2$ -М). Значительная часть ингибиторов относится к суперсемейству белков серпины («serpine protease inhibitor»), буквально – ингибитор сериновой протеазы.

Механизм, лежащий в основе действия большинства ингибиторов протеаз, связан с образованием прочного стехеометрического комплекса с протеазой с последующим медленным гидролизом ингибитора и быстрым гидролизом слабо связанного субстрата. Механизм регулирования с участием серпинов иной. В его основе лежит процесс взаимодействия между субстратсвязывающим участком активированного фактора свертывания крови и активным центром ингибитора. В результате такого взаимодействия блокируется активный центр фермента, и сериновая протеаза не вступает в протеолитическую реакцию. Функция ингибиторов *in vivo* связана с ограничением активации свертывания крови за счет быстрого образования комплексов с сериновыми протеазами. Процесс предупреждает инициацию системной активации свертывания крови и ограничивает коагуляцию зоной повреждения.

*Ингибиторы свертывания крови.* Ингибиторы свертывания крови в соответствии с механизмом их влияния подразделяют на группы: 1) серпины (АТ III, ГК II, ПН-1, С1-ингибитор,  $\alpha_1$ -АТ); 2) кунины (ИПТФ), по структуре – белки, гомологичные аprotинину (ингибитор панкреатического трипсина); 3)  $\alpha_2$ -макроглобулин, ингибитор-«мусорщик».

Антитромбин III (АТ III) – серпин и основной ингибитор тромбина, ФХа и ФIXа. Он инактивирует также ФXIа и ФXIIIа. АТ III нейтрализует тромбин и другие сериновые протеазы посредством ковалентного связывания. В результате формируется неактивный 1 : 1 стехиометрический комплекс между ферментом и ингибитором путем образования связи аргининсодержащего активного центра АТ III и активного серинового центра тромбина. Скорость нейтрализации сериновых протеаз антитромбином III в отсутствие гепарина невелика и увеличивается в 1000-100000 раз при его присутствии.

АТ III –  $\alpha_2$ -гликопротеин (Mr 580 000), синтезируемый печенью. Его называют также гепариновым кофактором 1. Гепарин имеет два сайта связывания с АТ III, тромбин – один. Гепарин связывается с лизиновыми остатками на АТ III, что делает аргининовый активный центр доступным для активного серинового центра тромбина. Связывание гепарина с АТ III ускоряет образо-

вание комплекса тромбин – АТ III – гепарин. Ковалентная связь между активным сериновым центром тромбина и аргининовым сайтом комплекса АТ III – гепарин вызывает инактивацию активной сериновой протеазы.

После образования комплекса между АТ III и тромбином гепарин диссоциирует из комплекса и связывается с другой молекулой АТ III, генерируя множественные циклы инактивации фермента. Нейтрализация активированных форм иных факторов свертывания крови посредством АТ III происходит по аналогичному механизму, но при различных скоростях инактивации. Для катализа ингибирования ФХа достаточно, чтобы гепарин связался только с АТ III. Однако для ингибции катализа тромбина гепарин должен связаться с АТ III и тромбином (ФII<sub>a</sub>).

Гепариновый кофактор II (ГК II) – серпин, ингибирующий тромбин, секретируется печенью, в кровотоке циркулирует в течение 2,5 суток. Решающую роль в ингибировании тромбина играет ГК II внесосудистого пространства, где локализуется дерматан-сульфат. Способность ГК II блокировать деятельность тромбина, не связанную со свертыванием крови, играет значительную роль в регулировании процессов заживления ран, воспаления, по некоторым данным – развития нервной ткани.

Протеаза нексин-1 (ПН-1) – серпин, вторичный ингибитор тромбина, предотвращающий его связывание с клеточной поверхностью.

$\alpha_1$ -Антитрипсин ( $\alpha_1$ -АТ) нейтрализует ФXIa и активированный протеин С (АПС).

C1-ингибитор (C1-И) – серпин и основной ингибитор сериновых ферментов контактной системы. Он нейтрализует до 95 % ФXIa и более 50 % всего калликреина, образующегося в системе кровообращения; при его дефиците возникает ангионевротический отек. ФXIa нейтрализуется преимущественно  $\alpha_1$ -АТ и АТ III.

Протеин С (ПС) – витамин К-зависимый белок, синтезируемый гепатоцитами. Циркулирует в крови в неактивной форме. Состоит из легкой цепи (с доменом, содержащим глутаминовую кислоту, и двумя доменами, подобными эпидермальному фактору роста) и тяжелой цепи (домен сериновой протеазы). Протеин С (при участии остатков глутаминовой кислоты) связывается с поверхностью ЭК посредством кальциевых мостиков. ПС активируется небольшим количеством тромбина. Реакция значительно ус-



коряется тромбомодулином (ТМ), поверхностным белком ЭК, который связывается с тромбином. Тромбомодулин обеспечивает до 60 % сайтов связывания тромбина на ЭК. Тромбин в комплексе с тромбомодулином становится антикоагулянтным протеином, способным активировать сериновую протеазу. Комплекс тромбин – тромбомодулин локализуется на ЭК, где тромбин разрушается, а тромбомодулин возвращается к поверхности.

Протеин S (PS). Активированный протеин C (АПС) в присутствии своего кофактора – протеина S – расщепляет и инактивирует ФVa и ФVIIIa. PS – витамин-К-зависимый белок, который синтезируется гепатоцитами и ЭК. Он связывается с мембраной ЭК и АПС, образуя мембранный поверхностный комплекс. Активированный PS ингибирует свободный ФVa, но не связанный с FXa. Однако в присутствии PS (кофактор PS-активации) происходит ингибирование как свободного, так и связанного ФV, что усиливает антикоагулянтный эффект АПС. Активность АПС контролируется собственным циркулирующим плазменным ингибитором (АПС-И) и  $\alpha_1$ -АТ.

Куниновые ингибиторы представляют собой суперсемейство белков, гомологичных апротинину, который называют также ингибитором панкреатического трипсина. Они содержат один или несколько куниновых доменов. Куниновый домен состоит из 58 аминокислотных остатков. Для кунинов характерна строгая ориентация остатков цистеина. Активность кунинов зависит от правильного образования 3-х дисульфидных мостиков на 1 домен. Из всех ингибиторов сериновых протеаз крови только ингибитор пути тканевого фактора (ИПТФ) является ингибитором кунинового типа.

ИПТФ – FXa-зависимый ингибитор комплекса FVIIa – TF. ИПТФ – гликопротеин (40 кД), состоящий из кислого аминокислотного остатка, трех куниновых доменов и основной COOH-концевой области. Ингибиторная активность ИПТФ обусловлена первым и вторым куниновыми доменами. Первый связывается с комплексом TF-FVIIa, второй – с FXa; третий – с липопротеинами и не обладает ингибиторной активностью. ИПТФ в основном синтезируется эндотелиальными клетками и незначительно – мононуклеарными клетками и гепатоцитами. ИПТФ распределен в трех внутрисосудистых пулах: 50-90 % – в ЭК, 10-50 % – в плазме и 2,5 % – в тромбоцитах. Плазменный пул связан с липо-

протеинами; до 5 % ИПТФ циркулирует в свободном состоянии и обуславливает ингибиторную активность.

Инактивация посредством ИПТФ происходит в 2 стадии: 1) ИПТФ связывается с ФХа и инактивирует его (1:1 стехиометрический комплекс) при отсутствии ионов кальция; 2) комплекс ИПТФ-ФХа связывается с комплексом ТФ-ФVIIa и инактивирует его, образуя кальцийзависимый четвертичный ингибиторный комплекс. Выделение ИПТФ стимулируется гепарином.

*Фибринолиз.* Конечная стадия в репаративном процессе после повреждения кровеносного сосуда происходит за счет активации фибринолитической системы (фибринолиза), направленного на растворение фибриновой пробки и восстановление сосудистой стенки. Фибринолиз – основной эндогенный механизм, предотвращающий тромбообразование. Существуют два главных компонента фибринолиза: фибринолитическая система плазмы и клеточный фибринолиз.

Фибринолитическая система плазмы состоит из плазминогена (профермент), плазмина (фермент), активаторов плазминогена и соответствующих ингибиторов, ее активация приводит к образованию плазмина – протеолитического фермента, разлагающего фибрин. Превращение плазминогена в плазмин катализируется активаторами плазминогена и регулируется различными ингибиторами. Активаторы плазминогена синтезируются или сосудистой стенкой (внутренняя активация), или тканями (внешняя активация). Внутренний путь включает активацию белков контактной фазы: ФXII, Ф XI, ПК, ВМК и калликреина. Основной путь активации плазминогена происходит через ткани, под влиянием тканевого плазминогена, выделяемого ЭК.

Основная функция плазмина – расщеплять фибрин и поддерживать сосуды в открытом состоянии. Однако плазмин разрушает многие другие субстраты, включая фибриноген, Ф V, Ф VIII, Ф X, Ф IX, ФВ и тромбоцитарные гликопротеины. Он также активирует компоненты каскада комплемента (C1, C3a, C3b, C5). Плазмин расщепляет пептидные связи в фибрине и фибриногене с образованием продуктов деградации фибрина (фибриногена) (ПДФ). Плазмин в кровотоке быстро инактивируется ингибиторами, в фибриновом сгустке – защищен от их действия. Следовательно, в физиологических условиях фибринолиз ограничен зоной фибринообразования, т. е. гемостатической пробкой.

Функции активаторов плазмина и плазминогена модулируются ингибиторами. Ингибиторы плазмина –  $\alpha_2$ -антиплазмин ( $\alpha_2$ -АП),  $\alpha_2$ -макроглобулин,  $\alpha_1$ -антитрипсин, антитромбин III (АТIII) и ингибитор эстеразы С1.

Клеточный фибринолиз связан с лейкоцитами, макрофагами, ЭК, тромбоцитами и направлен на поддержание специфической активности как местного, так и системного фибринолиза. Лейкоциты привлекаются в зону отложения фибрина хемостатическими веществами, которые освобождают тромбоциты, калликреином и продуктами деградации фибрина. Лейкоциты и макрофаги фагоцитируют разрушенный фибрин и клеточные остатки, скопившиеся в месте повреждения.

Гемостатическая реакция зависит от многоступенчатых процессов взаимодействия между сосудистой стенкой, циркулирующими тромбоцитами, факторами свертывания крови, их ингибиторами и фибринолитической системой (рис. 18).

Гемостатический процесс модифицируется посредством положительной и отрицательной обратных связей, которые поддерживают стимуляцию констрикции сосудистой стенки и образование комплексов тромбоцит – фибрин, а также растворение фибрина и релаксацию сосудов, позволяющих ему вернуться к нормальному состоянию.

Регуляция свертывания крови осуществляется нервногуморальными механизмами. Возбуждение симпатической нервной системы, возникающее при экстремальных воздействиях, боли, страхе, а также повышенная секреция адреналина надпочечниками резко ускоряют свертывание крови.

Адреналин, поступающий в кровоток, стимулирует высвобождение тромбопластина, который превращается в протромбиназу; активирует фактор Хагемана, влияющий на образование кровяной протромбиназы; стимулирует появление в крови тканевых липаз, расщепляющих жиры и усиливающих тем самым тромбопластическую активность жирных кислот; активирует освобождение фосфолипидов из клеток крови. Совокупность этих реакций ускоряет свертывание крови. С прекращением действия раздражителя активируется антисвертывающая система и скорость свертывания крови замедляется. Одновременно усиливается фибринолиз, ведущий к расщеплению избытка фибрина.

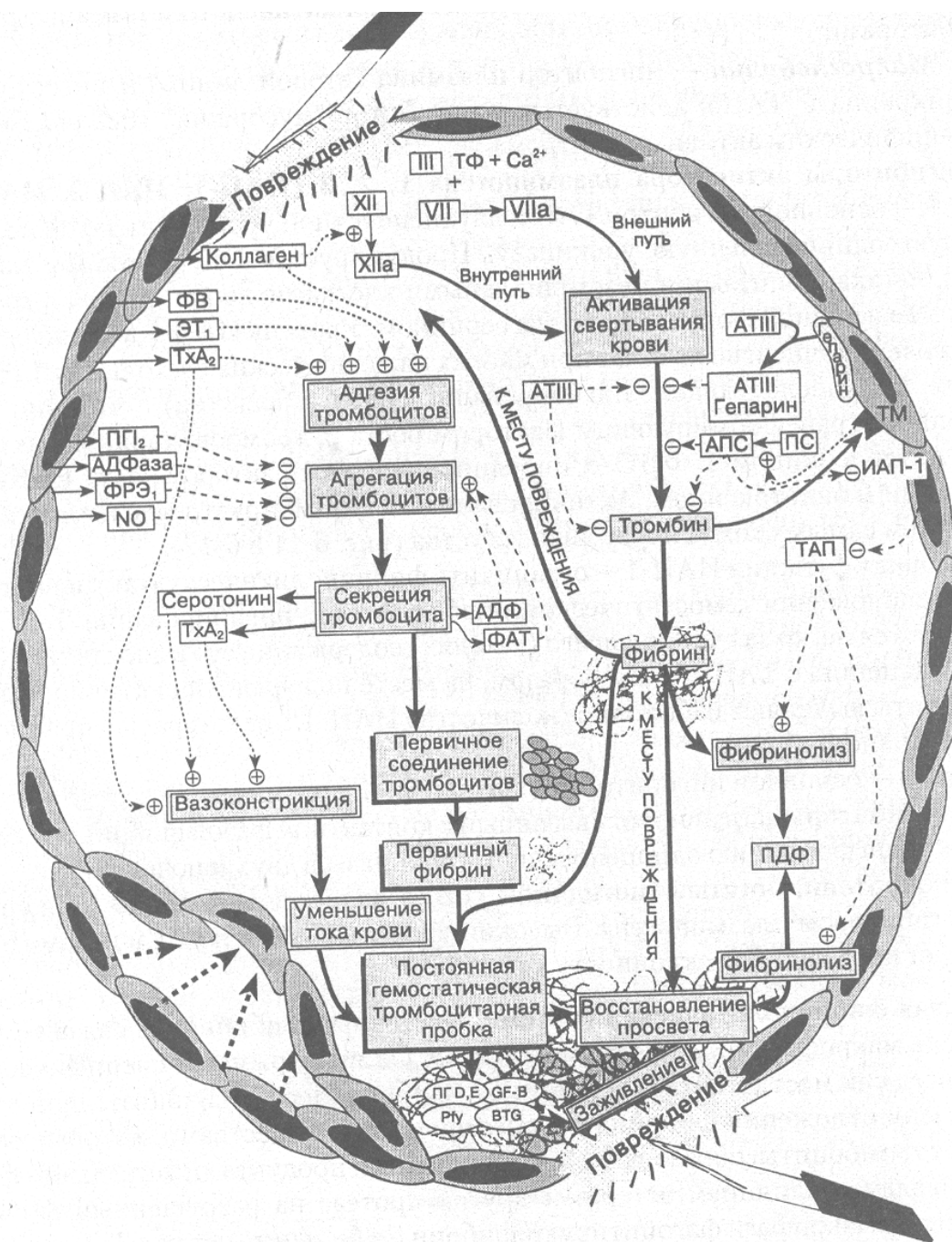


Рис. 18. Общая схема образования гемостатической пробки  
(Ф. Дж. Шифман, 2000)

Процесс свертывания крови может регулироваться условно-рефлекторно через вегетативную нервную систему и эндокринные механизмы.

### 3.2. ГРУППЫ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

На поверхностной мембране и в строме эритроцитов содержатся более 300 групповых антигенов, обладающих способностью вызывать образование (против себя) иммунных антител. Часть этих антигенов объединена в 20 генетически контролируемые

мых систем групп крови. В мембране эритроцита содержатся также вещества, обладающие тропизмом к вирусам – вирусные рецепторы клетки. В эритроцитах человека различают три основные разновидности антигенов: 1) гетерофильные; 2) неспецифические; 3) специфические.

### 3.2.1. Система АВ0

В практической медицине особо значимы групповые системы АВ0 и Rh. К. Ландштейнер (1901) в эритроцитах человека обнаружил два антигена А и В. По содержанию их в эритроцитах кровь людей подразделяется на группы: 0 (I) – не содержит антигенов А и В; А (II) – содержит антиген А; В (III) – содержит антиген В. Четвертая – АВ (IV) – более редкая группа была обнаружена позднее (Я. Янский, 1907). Антигены А и В выявлены в лейкоцитах, тромбоцитах, различных тканях, слюне, сперме, слезах, моче, но отсутствуют в хрусталике, плаценте, коже и спинномозговой жидкости. Так как вещества А и В индуцируют синтез антител, агглютинирующих эритроциты, их именуют агглютиногенами, а антитела к групповым веществам крови – агглютинидами.

Эритроциты человека всех групп крови несут антиген Н. Он находится на поверхности клеточных мембран у лиц с группой крови 0 и в качестве скрытой детерминанты присутствует на эритроцитах людей с группами крови А, В, АВ. В настоящее время установлено, что из антигена Н образуются антигены А и В. У лиц с первой группой крови антиген доступен действию анти-Н-антител, которые достаточно часто встречаются у людей со второй и четвертой группами крови и редко – у лиц с третьей группой. Это обстоятельство следует учитывать при переливании крови, поскольку может послужить причиной гемотрансфузионных осложнений при переливании первой группы крови лицам с другими группами.

В химическом отношении групповые антигены – мукополисахариды, в составе которых имеются аминокислоты, не участвующие в формировании специфичности групповых веществ. Групповые антигены А, В, Н сходны по химическому составу и отличаются между собой только по содержанию фукозы.

В основе деления крови на группы лежит реакция агглютинации (склеивания), обусловленная наличием в эритроцитах генетически детерминированных антигенов – агглютиногена А и

агглютиногена В, а в плазме крови комплементарных им антител – агглютининов  $\alpha$  и  $\beta$ ; они постоянно присутствуют в плазме, а не образуются в ответ на введение агглютиногена, как в случае иммунных реакций.

У людей, эритроциты которых содержат специфический агглютиноген (Н), комплементарный ему агглютинин в плазме отсутствует. У лиц, эритроциты которых содержат агглютиноген А, в плазме нет агглютинина  $\alpha$ , их кровь относится к группе А (первая группа), а если имеется только агглютиноген В, то кровь относится к группе В (вторая группа). Если же в крови присутствуют оба агглютиногена (и нет агглютининов), то это группа АВ (четвертая группа). И, наконец, если в крови нет агглютиногенов, но присутствуют агглютинины  $\alpha$  и  $\beta$ , то это группа 0 (первая группа). Как видим, в крови одного человека никогда не встречаются агглютиногены и комплементарные им агглютинины, поэтому в организме не бывает агглютинации собственных эритроцитов. При переливании крови важно знать, что может произойти с клетками донора. Если существует вероятность их агглютинации под действием агглютининов плазмы, тогда переливание проводить нельзя. Последствия смешивания крови разных групп показаны в табл. 7.

Таблица 7

**Реакции между сывороткой и эритроцитами от лиц, относящихся к разным группам крови**

Группа крови	Сыворотка агглютинирует эритроциты групп	Эритроциты агглютинируются сывороткой групп
0 (первая)	А, В, АВ	Никакой
А (вторая)	В, АВ	0, В
В (третья)	А, АВ	0, А
АВ (четвертая)	Никакой	0, А, В

По комбинации агглютиногенов и агглютининов кровь людей разделяют на четыре группы (табл. 8).

Таблица 8

**Группы крови человека**

Группа крови	Агглютиногены (в эритроцитах)	Агглютинины (в плазме)
I (0)	0	$\alpha$ , $\beta$
II (А)	А	$\beta$
III (В)	В	$\alpha$
IV (АВ)	АВ	0

Согласно существующей статистике, примерно 40% населения Центральной Европы имеют первую группу крови, более 40% – вторую, 10% – третью и около 6% – четвертую. Особенности распространения групп крови системы АВ0 среди людей различных национальностей представлены в табл. 9.

Таблица 9

**Распространение групп крови системы АВ0  
среди людей различных национальностей**

Национальность	Количество людей с группой крови, %			
	0 (I)	A (II)	B (III)	AB (IV)
Австралийцы	57	38,5	3	1,5
Австрийцы	42	40	10	8
Англичане	46,4	43,4	7,2	3
Греки	38,5	41,6	16,2	3,7
Индейцы (Сев. Америка)	23,5	76,5	0	0
Итальянцы	47,2	38	11	3,8
Казахи	33,7	26,8	30,9	8,6
Киргизы	37,6	26,5	28,5	7,4
Немцы	40	43	12	5
Французы	43,2	42,6	11,2	3
Японцы	27	41	18	14

В настоящее время установлены варианты антигена А – А<sub>1</sub>, А<sub>2</sub>, А<sub>3</sub>, А<sub>4</sub> и т. д., обладающие разной силой антигенных свойств. Существуют варианты антигена В – В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>3</sub> и т. д., по своей антигенной активности они близки между собой, что исключает вероятность ошибок при определении группы у людей с группой В $\alpha$  (III). Чем больше порядковый номер агглютиногена, тем меньшую активность он проявляет. И хотя разновидности агглютиногенов А и В встречаются не так часто, при определении группы крови могут быть не выявлены, и следовательно, привести к переливанию несовместимой крови.

Помимо агглютиногенов А, В, Н, в крови встречаются в разных соотношениях и антигены, называемые Rh-Hr, М, N, S, фактор Даффи, Леви, Диего и др. Все они сочетаются с групповыми антигенами в разных соотношениях, составляют биологическую специфику крови человека и могут стать причиной осложнений при повторных переливаниях крови.

Ранее полагали, что кровь первой группы можно переливать во все остальные группы, т. к. она не содержит агглютиногены. Людей первой группы называли универсальными донорами. Однако в настоящее время выявлена относительность этой универсальности. В частности, у людей с кровью первой группы в значительных количествах содержатся иммунные анти-А- и анти-В-агглютинины. Переливание такой крови может привести к тяжелым последствиям и даже летальному исходу, т. е. желательно переливать одногруппную кровь и исключительно по жизненным показаниям, например, при потере человеком много крови.

В настоящее время переливание цельной крови производится сравнительно редко, а пользуются трансфузией различных компонентов крови: плазмы или сыворотки, эритроцитарной, лейкоцитарной или тромбоцитарной массы. В этих случаях вводится меньшее количество антигенов, что снижает риск посттрансфузионных осложнений.

### **3.2.2. Искусственные кровезаменители**

Гемотрансфузия цельной консервированной донорской крови – сложнейшее комплексное воздействие на организм реципиента. Кровь, заготовленная на искусственных консервантах, в процессе даже недлительного хранения подвергается существенным изменениям. Физико-химические процессы, протекающие в ней, приводят к гипернатриемии, калиемии, гемолизу, повышению содержания аммиака, глюкозы, фосфатов, изменению морфофункциональных свойств клеток крови, увеличению сродства гемоглобина и кислорода. В связи с этим один из крупнейших научных проектов современной биомедицины, биофизики и клеточной физиологии – «Искусственная кровь» (Г.А. Сафронов и соавт., 1999; Г.А. Сафронов, Е.А. Селиванов, 2003; R.M. Winslow, 1992; J. Pagnier, C.Poyart, 1993). Основными стимулами поиска заменителей крови являются малые сроки хранения донорской крови, посттрансфузионные осложнения вследствие несовместимости крови донора и реципиента, вероятность передачи с кровью опасных заболеваний, таких, как ВИЧ-инфекции, гепатиты В, С, D, G-3, Т-клеточный лейкоз, цитомегаловирусная инфекция, сифилис, малярия, токсоплазмоз, трипаносомальная инфекция и др.

В последние годы успешно разрабатываются два направления создания кровезаменителей – переносчиков кислорода



(КЗПК): на основе модифицированного гемоглобина (МГ) и перфторуглеродов (ПФУ), способных выполнить основную кислородтранспортную функцию крови. КЗПК нового поколения имеют ряд преимуществ в сопоставлении с донорской кровью: они универсальны, не требуют изосерологического подбора, безопасны в логике переноса инфекций, имеют длительный срок годности. МФУ и МГ благодаря наноразмерам способны обеспечивать доставку кислорода тканям и проникать сквозь стенку капилляров в условиях нарушенного, например, при ишемии сердца, микроциркуляции крови. Более того, как установлено, частицы перфторуглеродов не только облегчают диффузию кислорода из эритроцита в ткани, но и защищают мембрану клеток красной крови от процессов перекисного окисления липидов. Получение КЗПК на основе растворов МГ достигается моделированием внутриэритроцитарного гемоглобина.

Большие перспективы в решении проблемы имеет применение нанотехнологий. Например, в создании полых структур наноскопического размера с инкапсулированным в них высокомолекулярным гемоглобином, полученным путем полимеризации гемоглобина (из крови человека, быка или рекомбинантный *E. coli*) с высокомолекулярным носителем (глутаровый альдегид, полиэтиленгликоль, декстран, гидроксилэтилкрахмал, раффиноза). Структуру упакованных молекул мембран созданных клеток вполне реально совместить с иммунной системой человека, выбрав головные группы молекул – группы атомов, которые формируют внешнюю оболочку искусственно созданной частицы.

### 3.2.3. Система резус

Резус-(Rh)-антигены (открыты К. Ландштейнером и А. Винером, 1940) представлены на мембране эритроцитов тремя связанными участками: антигенами C (Rh<sup>'</sup>) или c (H<sup>'</sup><sub>2</sub>), E (Rh<sup>''</sup>) или e (H<sup>''</sup><sub>2</sub>) и D (Rh<sup>°</sup>) или d. Человек, имеющий c-антиген на мембране эритроцита, не имеет c-антигена; у имеющего e в эритроците – отсутствует e. Наиболее сильный – антиген D; он способен иммунизировать не имеющего его человека.

Rh-фактор есть в крови у 85% популяции европейцев, их называют резусположительными (Rh<sup>+</sup>), а 15% людей без Rh-фактора в эритроцитах – резус-отрицательными (Rh<sup>-</sup>). В эритроцитах людей, отрицательных по резус-фактору, открыт антирезус-фактор (Hr-фактор).

После переливания резус-положительной крови резус-отрицательному человеку в его крови образуются специфические иммунные антитела – антирезусагглютинины (анти-Д). Повторное переливание резус-положительной крови может вызвать гемоконфликт – агглютинацию и гемолиз эритроцитов перелитой крови и тяжелый гемотрансфузионный шок.

Тщательное определение Rh-фактора проводят в акушерской практике. Резус-фактор является доминантным по отношению к антирезус-фактору признаком. Зачатие Rh-положительного плода у Rh-отрицательной матери приводит к гемоконфлику. Во время родов эритроциты плода проникают в кровь матери и иммунизируют ее организм (вырабатываются анти-Д-антитела). Такие же осложнения могут возникнуть при акушерских вмешательствах, например, абортах. При повторных беременностях резус-положительным плодом анти-Д-антитела проникают через плацентарный барьер, повреждают ткани и эритроциты плода, вызывая выкидыш, а при рождении ребенка – резусную болезнь, проявляющуюся тяжелой гемолитической анемией. Для предупреждения иммунизации резус-отрицательной женщины Д-антигенами плода во время родов, при абортах ей вводят концентрированные анти-Д-антитела. Они агглютинируют резус-положительные эритроциты плода, поступающие в ее организм, и иммунизация не наступает.

При значительном поступлении в организм резус-положительного человека других, более слабых, чем Д-антигенов, могут также возникнуть антигенные реакции.

Группа крови человека – его индивидуальная биологическая особенность (табл. 10).

*Таблица 10*

**Наследование групп крови системы АВ0 у человека**

Группа крови родителей		Возможные группы крови детей
мать	отец	
0	А	0, А
0	В	0, В
0	АВ	А, В
А	А	0, В
А	В	0, А, В, АВ
А	АВ	А, В, АВ
В	В	0, В
В	АВ	А, В, АВ
АВ	АВ	А, В, АВ

Резус-фактор также передается по наследству: если женщина  $Rh^-$ , а мужчина  $Rh^+$ , то плод в 50-100% случаев унаследует резус-фактор от отца, и в этом случае возникают осложнения, обусловленные резус-конфликтом.

Группы крови начинают формироваться уже в раннем периоде эмбрионального развития и не изменяются на протяжении всей последующей жизни.

*Система антигенов M, N* – гликопротеины, содержащие 50-55% углеводов. М-антигенам присущи свойства группоспецифических веществ и рецепторов к микровирусам. В составе липидов М- и N-антигенов содержатся 14 аминокислот. Отщепление сиаловой кислоты нейраминидазой вирусов и холерного вибриона приводит к разрушению группоспецифического комплекса М и N. При этом исчезает вирусингибирующая активность в отношении миксовирусов.

Гетерофильные антигены представляют собой комплекс антигенов, индуцирующих продукцию гемолизинов к эритроцитам. Одним из таких является антиген Форсмана. У животных, обладающих этими антигенами, антитела к ним не образуются, но синтезируются у тех видов, которые этот антиген не содержат. Антитела к антигену Форсмана возникают в результате иммунизации микробными антигенами, имеющими в своем составе гетерофильные антигены.

Выявлена определенная зависимость между принадлежностью человека к группе крови и его предрасположенностью к тем или иным заболеваниям. Так, у людей с I (0) группой крови чаще встречается язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки. Объясняется это тем, что агглютиногены А и В, выделяясь в составе желудочного и поджелудочного соков, предохраняют стенку от повреждения протеолитическими ферментами. Люди со II (А) группой крови чаще страдают сахарным диабетом, у них повышена свертываемость крови и возникает риск развития инфаркта миокарда и инсульта. У резус-отрицательных людей различные заболевания крови встречаются значительно чаще, чем у резус-положительных.

У сельскохозяйственных животных группы крови изучены недостаточно. Поэтому переливание крови у них каждый раз производится после определения индивидуальной совместимости

крови донора и реципиента. Группы крови родителей четко передаются по наследству и легко устанавливаются у потомства.

У крупного рогатого скота установлено наличие не менее 88 факторов из 11 генетических систем, у свиней – более 30 из 14 генетических систем (А. Меун, 1961). Группа крови одного животного включает в среднем 5 – 15 групповых факторов. Группы крови у лошадей также имеют несколько систем. Наиболее полно изучены групповые особенности крови и определены межпородные различия у свиней.

Знание групп крови у животных используют при идентификации животных, для изучения структуры пород, при переливании крови, для раннего прогноза и селекции высокопродуктивных сельскохозяйственных животных (П.Ф. Солдатенков, 1978).

### **3.3. ИММУНИТЕТ. ИММУНОГЕНЕЗ**

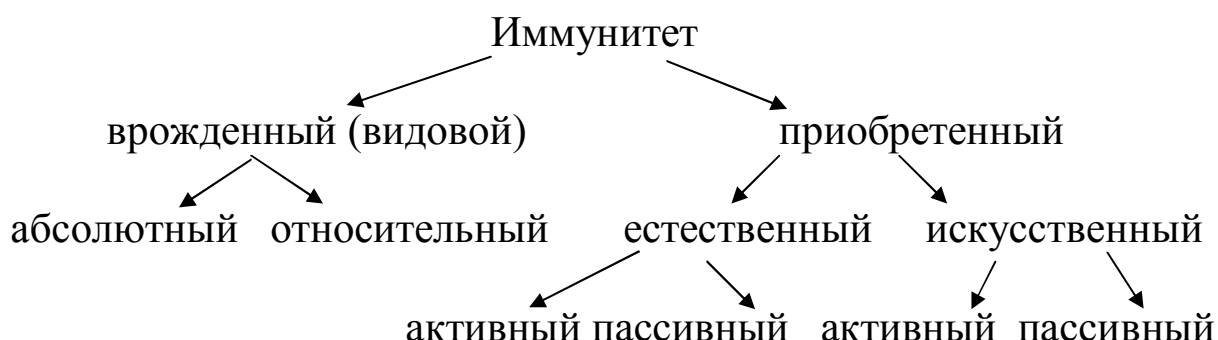
Защитная реакция организма от живых тел и веществ, несущих на себе признаки генетической чужеродности, получила название иммунитет, или иммунологическая реактивность (Р.В. Петров, 1987).

Сущность иммунологического надзора заключается:

- в защите организма от проникновения чужеродных экзогенных микроорганизмов (антиинфекционная защита);
- генетическом контроле иммунного ответа;
- в реакции генетической несовместимости тканей:
  - а) при попадании тканей животных одного вида в организм другого вида (при введении лошадиной сыворотки кролику);
  - б) при попадании тканей организма одной иммунологической группы в организм животного другой иммунологической группы, но в пределах одного вида (при переливании иногруппной крови человеку или трансплантации органов);
  - в) при взаимодействии эмбриональных тканей с тканями взрослого организма или друг с другом;
    - в удалении из организма чужеродных эндогенных клеток (противоопухолевая защита); акции повышенной чувствительности (аллергия и анафилаксия);
    - явлении привыкания к ядам различного происхождения.

### 3.3.1. Виды иммунитета

По способу происхождения различают врожденный (видовой) и приобретенный иммунитет.



Врожденный иммунитет является характерным наследственным признаком вида. Например, человек невосприимчив к чуме крупного рогатого скота. По стойкости видовой иммунитет разделяют на абсолютный и относительный. Абсолютный видовой иммунитет возникает у животного с момента рождения, не ослабляется и не исчезает под влиянием неблагоприятных факторов среды. Абсолютный видовой иммунитет образуется в процессе эволюции в результате постепенного наследственного закрепления приобретенного иммунитета. Относительный видовой иммунитет менее прочен и зависит от воздействий внешней среды. Так, птицы (куры) невосприимчивы к сибирской язве. Однако ослабление организма птицы (переохлаждение, голодание, удаление больших полушарий головного мозга) делает их высокочувствительными к этому заболеванию.

Приобретенный иммунитет в зависимости от способа возникновения разделяется на естественный и искусственный. Приобретенный естественный иммунитет возникает после перенесенного инфекционного заболевания (кори, краснухи) и сохраняется на всю жизнь.

Замечено, что дети в течение первого года жизни невосприимчивы к тем инфекционным болезням, которые были перенесены матерью. Такой вид иммунитета получил название приобретенный (естественный, пассивный). Невосприимчивость связана с наличием в организме ребенка антител, переданных во внутриутробном периоде через плаценту (детское место). После периода новорожденности (первые 10 дней жизни) материнские антитела разрушаются, и стойкость к инфекции у ребенка постепенно уга-

сает. При естественном вскармливании антитела передаются и через материнское молоко.

Искусственный иммунитет воспроизводится человеком для профилактики инфекционных болезней. Воспроизведение приобретенного искусственного активного иммунитета возможно посредством вакцинации – введения ослабленных или убитых культур возбудителей болезней здоровым людям или животным. Впервые искусственную активную иммунизацию (вакцинацию) провел Э. Дженер (1796), прививая коровью оспу детям. Препарат, используемый для прививок, получил название вакцина (от лат. *vacca* – корова). Воспроизведение искусственного пассивного иммунитета достигается введением в организм сыворотки, т. е. готовых антител против возбудителей и токсинов конкретных болезней. Сохраняется такой вид иммунитета около 2-3 недель. Непродолжительность объясняется коротким периодом биологической полужизни антител. Сыворотки получают преимущественно из крови лошадей, которых иммунизируют необходимым токсином (цит. по: Патологическая физиология, 1994).

### **3.3.2. Факторы неспецифической резистентности**

При защите от инфекций и элиминации антигенных клеток включаются филогенетически более древние средства защиты – факторы естественной резистентности: система комплемента, фагоцитарная система, белки острой фазы воспаления, лизоцим, эндогенные пептиды – антибиотики.

В настоящее время выявлены специфические рецепторы неспецифического иммунного ответа – толлподобные рецепторы – TLR. Начало развития реакций врожденного иммунитета связано с первичным распознаванием клетками миеломоноцитарного ряда сходных структурных компонентов различных патогенов, называемых паттернами патогенов – PAMP. Примерами молекулярных паттернов являются липополисахариды грамотрицательных бактерий, пептидогликаны грамположительных микроорганизмов, флагеллин, вирусная двуспиральная РНК, ДНК, богатая CpG-последовательностями, что характерно для ДНК бактерий. Паттернраспознающие рецепторы подразделяют на клеточные мембранные рецепторы – TLR1 – TLR11; CD14; CD11/CD18 ( $\beta_2$ -интегрины); L-селектины; scavenger receptor, маннозный ре-

цептор; цитоплазматические – NOD-белки; растворимые – кол-лектины, C3b – компонент комплемента, белок, связывающий липополисахариды, С-реактивный белок, фибронектин, фибрин.

Клетки млекопитающих экспрессируют паттернраспознающие рецепторы двух типов: рецепторы, обеспечивающие проведение внутриклеточного активационного сигнала (TLR) и мембранные рецепторы, только связывающие PAMP, без проведения сигнала. Активация клеток после взаимодействия PAMP с TLR приводит к последовательным этапам развития воспалительной реакции. При этом происходят три важных события, связанных с активацией и дифференцировкой дендритных клеток, являющихся мостом к развитию приобретенного иммунитета: 1) фагоцитоз, процессинг и презентация антигенов; 2) индукция экспрессии костимуляторных молекул CD40, CD80, CD86; 3) секреция цитокинов, стимулирующих дифференцировку Th, Tк и NK (А.С. Симбирцев, 2005).

**3.3.2.1. Система комплемента.** Это многокомпонентная система, активируемая ограниченным протеолизом и играющая важную роль в защитных реакциях, воспалении и повреждении тканей. Выделяют два пути активации комплемента: классический, начинающийся с (C1) и включающий каскадно его субкомпоненты (C1q, C1r, C1s), C4, C2, C3 и последующие компоненты комплемента, также альтернативный, с участием факторов D, В, С3, пропердина (табл. 11). Оба пути активации стыкуются на уровне формирования C5-конвертазы и образуют комплекс атаки на мембрану (МАК) (C5b – C8), реализующий эффекторную функцию комплемента (А.Н. Ложкина и соавт., 1989).

Инициаторами классического пути служат иммунные комплексы, в состав которых входят IgM, IgG1, IgG2, IgG3; фрагмент фактора Хагемана, липид А из липополисахаридов, некоторые вирусы и пораженные вирусом клетки, полинуклеотиды и другие компоненты внутренней среды организма. Альтернативный путь, работая на «холостом ходу», ускоряется в присутствии многих чужеродных агентов – бактерий, вирусов, грибов и паразитов, лимфобластов, агрегированных белков, хрящевого коллагена. Кроме этого, система комплемента включается в регуляторное звено поддержания гомеостаза. Продукты комплементарной активации иницируют выделение биогенных аминов и других вазоактивных соединений, участвуют в регуляции иммунитета, ге-

мостаза и фибринолиза. Активацию комплементарного каскада сопровождают положительный лейкоцитарный хемотаксис, освобождение лизосомальных ферментов, продукция супероксидов и производных арахидоновой кислоты. Предполагается участие комплемента в физиологическом процессе деструкции мембран клеток и их органелл (А.Н. Ложкина и соавт., 1989).

Таблица 11

### Компоненты системы комплемента и их функции

(Р.М. Хаитов и соавт., 2000)

Функции	Обозначение
1. Связывание с комплексом антиген – антитело	C1q
2. Связывание с мембраной бактерий и опсонизация к фагоцитозу	C4b, C3b
3. Протеазы, активирующие другие компоненты системы путем расщепления	C1s, C1r, C2b, Bb, D
4. Медиаторы воспаления (дегрануляция тучных клеток, сосудистые реакции)	C5a, C3a, C4a
5. Комплекс протеинов атаки на мембрану (перфорация мембраны клеток - мишеней)	C5b, C6, C7, C8, C9
6. Рецепторы для белков комплемента на клетках организмы	CR1, CR2, CR3, CR4, C1qR
7. Комплементрегулирующие белки (ингибиторы активации, блокаторы активности)	C1inh, DAF, C4bp, H, CR1, I, MCP, P, CD59

Условные обозначения: CR1 – complement receptor – рецепторы, связывающие определенные белки комплемента на мембране собственных клеток организма; C1inh – C1-inhibitor – ингибитор компонента C1; MCP – мембранный белок, связывающий C3b, что делает C3b доступным для дегидратации протеазой; DAF – decay accelerating factor – белок мембраны клеток млекопитающих, ускоряющий деградацию комплемента C2b; H – сывороточная протеаза, деградирующая C3b; I – протеаза, деградирующая C3b и C4b; P – пропердин – стабилизатор комплекса C3b/Bb; CD59 – белок мембраны клеток млекопитающих, препятствующих вызванному комплементом лизису собственных клеток.

Первым компонентом классического пути является C1, который построен из трех белков. C1q состоит из шести идентичных субъединиц, конформационно напоминающих булаву с коллагеноподобной рукоятью. Он находится в прямом контакте с двумя другими белками – C1r и C1s. Головная часть C1q образует связь с Fc-фрагментом IgM, IgG<sub>3</sub> и IgG<sub>1</sub>. Подобная связь возникает



только на клеточной поверхности после того, как произошло взаимодействие иммуноглобулинов с эпитопом патогена или какого-либо иного корпускулярного антигена. В жидкой среде такого взаимодействия не происходит, и связано это с отсутствием конформационных изменений, свойственных иммуноглобулину, адсорбированному на клетке.

При взаимодействии C1q с иммуноглобулинами должно соблюдаться условие плотной «посадки» антитела на поверхности корпускулярного антигена, с тем, чтобы данный компонент комплемента мог провзаимодействовать с несколькими соседними иммуноглобулиновыми молекулами антитела и образовать таким способом молекулярный агрегат. Контакт только с одной молекулой не обеспечивает активации C1.

Взаимодействие иммуноглобулинов с C1q приводит к модификации C1s, придавая ему свойства сериновой протеазы, которая расщепляет сывороточный белок C4 на два фрагмента – больший C4b и меньший C4a. C4b ковалентно связывается с поверхностью патогена и затем взаимодействует с C2, делая его чувствительным к сериновой протеазе C1s. В результате C2 расщепляется на C2b и C2a. C2b также обладает активностью сериновой протеазы. Комплекс C4b с активной сериновой протеазой C2b является ферментом C3/C5-конвертазой, прикрепленной к поверхности патогена. Наиболее важная функция C3/C5-конвертазы состоит в расщеплении большого числа C3-молекул на C3b, остающихся прикрепленными к поверхности патогена, и свободные C3a, играющие значительную роль в инициации локальной воспалительной реакции (рис. 19).

При альтернативном пути активации системы комплемента основные события аналогичны тем, которые известны для классического пути. Инициатором процесса выступает ковалентно связанный с поверхностью патогена C3b. C3b-компонент взаимодействует на поверхности с фактором В, который после фиксации на мембране подвергается расщепляющему воздействию фактора D. В результате образуются крупный фрагмент Вb, связанный с C3b, и свободный мелкий фрагмент Ва. Фиксированный на мембране патогена комплекс C3b/Вb выполняет функцию C3/C5-конвертазы и, подобно комплексу C4b/C2b классического пути активации, обеспечивает накопление на поверхности патогена большого количества молекул C3b.

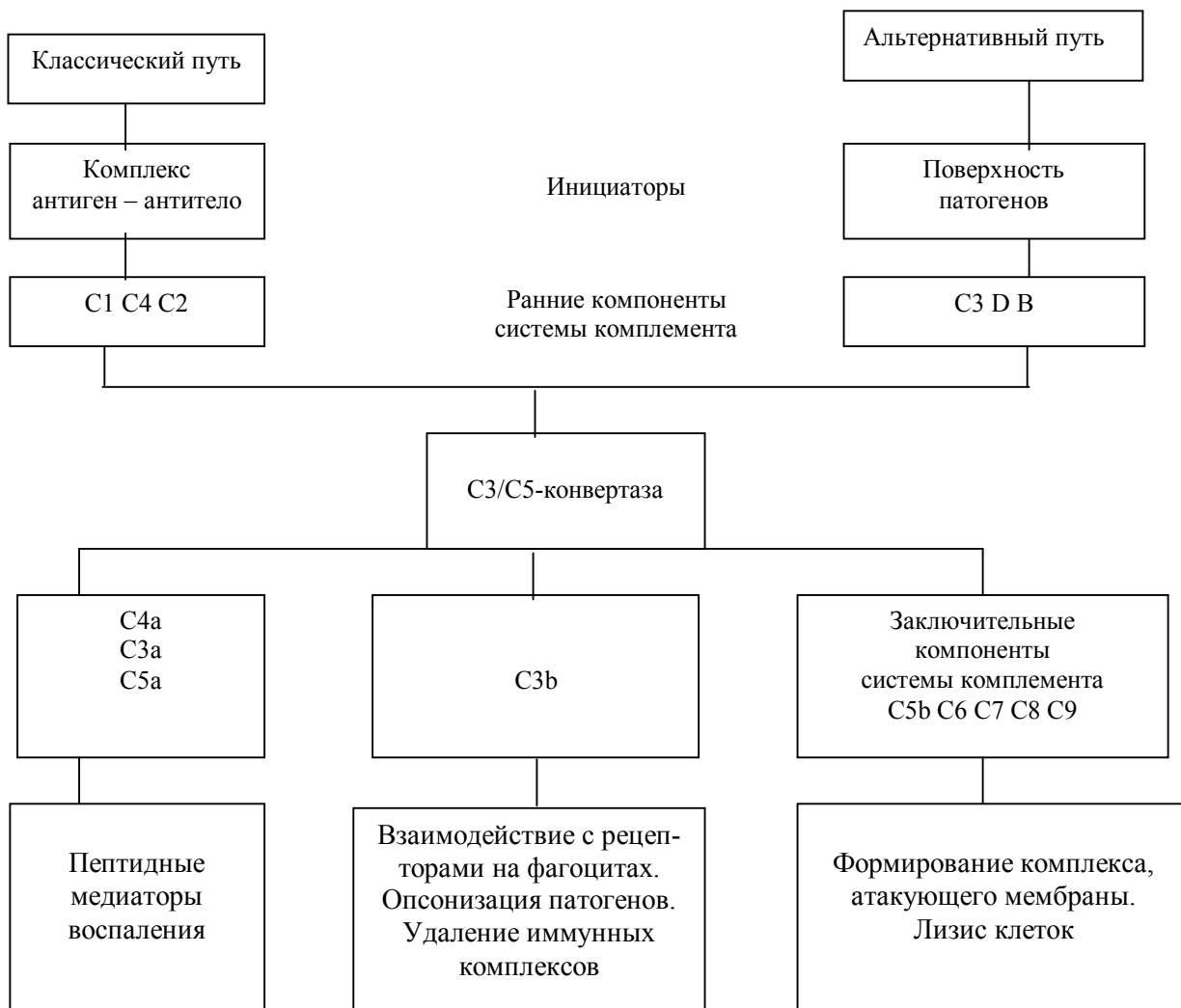


Рис. 19. Схема основных компонентов системы комплемента и их функциональной активности (В.Г. Галактионов, 2000)

*Белки острой фазы воспаления* – сывороточные белки, концентрация которых увеличивается в ответ на инфекцию или повреждение тканей. К ним относят С-реактивный протеин (CRP), маннансвязывающий лектин (MCL), сурфактантные протеины легких – SP-A, SP-D. Известно около 30 белков острой фазы воспаления.

CRP относят к семейству пентраксинов (это белки, состоящие из пяти одинаковых субъединиц), он имеет химическое сродство к фосфорилхолину, который входит в состав клеточных стенок ряда бактерий и одноклеточных грибов, поэтому способен связывать соответствующие микробные клетки, в результате чего опсонизирует бактерии для фагоцитоза и активирует каскад комплемента, так как связывает компонент C1q за коллагеновую

часть молекулы и таким образом инициирует классический путь активации комплемента (см. рис. 19).

MCL – кальцийзависимый сахарсвязывающий протеин, его относят к семейству коллектинов. Этот белок связывает остатки маннозы, которые экспонированы на поверхности многих микробных клеток. MCL опсонизирует микробные клетки для фагоцитоза моноцитами, которые в отличие от зрелых макрофагов, не экспрессируют собственный рецептор для маннозы. Связав микробную клетку, MCL приобретает способность активировать протеазы, расщепляющие C4 и C2, что инициирует каскад комплемента. Это называют лектиновым путем активации системы комплемента. Кроме MCL к семейству коллектинов принадлежат сурфактантные протеины легких SP-A, SP-P.

В здоровом организме CRP и MCL мало. Определенное количество этих белков появляется в крови при тяжелых системных воспалительных процессах, поэтому их называют белками острой фазы. Эти белки синтезируются в печени в аварийном режиме по сигналу, подаваемому цитокинами IL-1, IL-6. Лектиновый путь активации комплемента начинается со связывания с углеводами поверхностных структур микробных клеток, а именно – с остатками маннозы MCL.

**3.3.2.2. Фагоцитоз.** Это процесс поглощения клеткой крупных макромолекулярных комплексов или корпускулярных структур. Фагоцитами являются полиморфноядерные нейтрофилы (ПМЯН) и моноциты-макрофаги. Цель фагоцитоза – полное биохимическое расщепление до мелких метаболитов содержимого фагосом. Для этого у фагоцита есть специальные ферменты (И.В. Меньшиков, Л.В. Бедулева, 2001).

В норме нейтрофилы не выходят из сосудов в периферические ткани, но первыми направляются в очаг воспаления. Моноциты – транспортная форма, их основная цель – расселиться в ткани и стать макрофагами. Макрофаги локализируются в рыхлой соединительной ткани, а также в паренхиме органов и по ходу кровеносных сосудов. Макрофаги печени называют купферовскими клетками, макрофаги мозга – микроглией, легких – альвеолярными и интерстициальными.

Моноциты, первоначально расселившись по тканям, превращаются в «резиденты» – тканевые макрофаги, функционально неактивные. Неспецифические раздражители, локальная актива-

ция системы комплемента активируют макрофаги – образуются воспалительные макрофаги. Способность их уничтожать внутриклеточных паразитов приобретается в результате активации под действием  $\gamma$ -интерферона, который выделяется активированными Т-лимфоцитами.

Фагоцитирующие клетки имеют особенности фагоцитарной кинетики: ПМЯН совершают фагоцитоз один раз, полностью разрушают антиген и погибают, а макрофаги фагоцитируют многократно, разрушают антиген до иммуногенных фрагментов и презентуют его на мембране.

Известны рецепторные структуры на клеточной мембране макрофагов, отличающие их от моноцитов крови: рецепторы для комплемента – CR3 (интегрин CD 11C/CD 18), CR4 (CD11b/CD18); рецептор, связывающий маннозу; молекула CD14 – рецептор для комплексов бактериальных липополисахаридов с липополисахаридсвязывающим протеином сыворотки; рецептор для производных лигандов сиаловых кислот – его называют «scavenger receptor» – рецептор для уборки мусора (погибших и деградирующих собственных клеток); рецептор для хвостов (Fc-фрагментов) IgG-Fc $\gamma$  – рецептор 1 типа; рецепторы для активных цитокинов, вырабатываемых иммунными лимфоцитами.

Фагоцитарный процесс включает несколько стадий: движение, адгезия, дегрануляция, образование активных форм кислорода и азота, киллинг и расщепление объекта фагоцитоза. Стимулом для движения фагоцитов являются хемоаттрактанты (N-формилпептиды бактериального происхождения, C3a, C5a компоненты комплемента, тромбоцитаактивирующий фактор, IL-8). Все эти вещества накапливаются в очаге воспаления и привлекают фагоциты. Хемоаттрактанты изменяют скорость движения в любом направлении – хемотаксис, либо по направлению градиента концентрации фактора – хемотаксис. Хемотаксис позволяет клеткам аккумулироваться в зоне локализации патогенных агентов, злокачественных клеток, воспаления.

За адгезивные свойства фагоцитов отвечают поверхностные рецепторы – селектины (CD62L, CD62E) и интегрины, имеющие общую CD18 цепь и разные CD11a, CD 11b, CD11c цепи. Взаимодействие между фагоцитом и объектом фагоцитоза имеет гидрофобный характер, поэтому некоторые вирулентные микроорганизмы в качестве механизма защиты имеют полисахаридную капсулу, которая снижает гидрофобность и эффективность адгезии.

Стадия дегрануляции заключается в слиянии фагосомы-вакуоли, содержащей объект фагоцитоза, с лизосомами. В результате образуется фаголизосома, в которой происходят киллинг и расщепление частицы. Первыми в фагосому вливают свое содержимое специфические гранулы, содержащие лизоцим, лактоферрин и белок, связывающий витамин В<sub>12</sub>. Вторыми вливают азурофильные гранулы, содержащие набор гидролаз, миелопероксидазу.

Киллинг поглощенных микроорганизмов осуществляется системами ферментативной и неферментативной природы, активность которых может быть обусловлена зависимыми и независимыми от кислорода механизмами. Специальные ферментные системы генерируют образование реакционно-способных свободных радикалов кислорода ( $O_2^-$ ,  $O^{\cdot}$ ), а также перекиси водорода. Фермент NO-синтетаза генерирует образование радикала оксида азота ( $NO^{\cdot}$ ). Эти радикалы осуществляют деструктивные реакции к фагоцитированному объекту (В.В. Меньшиков, Л.В. Бедулева, 2001).

Процесс, сопровождающийся гибелью микроорганизма, называют завершённым фагоцитозом. При незавершённом процессе наблюдается хроническое воспаление. При этом в месте высвобождения антигена происходит скопление макрофагов, выделяющих фиброгенные факторы и стимулирующих образование грануломы, что является попыткой организма организовать очаг воспаления.

Макрофаги и нейтрофилы, активированные микробными продуктами, начинают продуцировать цитокины и другие биологически активные медиаторы. Макрофаги продуцируют IL-1, 6, 8, 12, TNF- $\alpha$ , простагландины, лейкотриен – фактор, активирующий тромбоциты. Нейтрофилы продуцируют TNF- $\alpha$ , IL-12, IL-8, лейкотриен, PAF.

### **3.3.3. Специфический иммунный ответ**

**3.3.3.1. Этапы иммунного ответа.** В настоящее время принято различать первичный и вторичный иммунный ответ. Первичный иммунный ответ развивается при первом контакте организма с антигеном, вторичный – при повторном контакте. В первичном иммунном ответе выделяют две фазы: раннюю, индуктивную, или радиочувствительную, т. е. повреждаемую ионизирующей радиацией, охватывающую время с момента контакта

организма с антигеном до появления в периферической крови антител (или до начала накопления специфических клеток-эффекторов), и позднюю, продуктивную, или радиорезистентную, начинающуюся приблизительно с 3-го дня после введения антигена и продолжающуюся до конца процесса (Б.И. Кузник и соавт., 1989).

Динамика первичного и вторичного иммунного ответа, как и изменения, происходящие на его фоне в кроветворной ткани и других физиологических системах организма, исследованы достаточно полно и подробно освещены (Н.В. Васильев, 1975; Р.В. Петров и соавт., 1976).

Сразу после проникновения во внутреннюю среду организма антиген вступает во взаимодействие с поверхностными структурами (рецепторами) клеток, входящих в состав системы иммунитета. С какими конкретно рецепторами происходит взаимодействие, зависит в большой степени от свойств антигена. Различают две категории антигенов: тимусзависимые и тимуснезависимые.

Основная территория, на которой происходит развертывание иммунного ответа, – лимфоидные органы. Через несколько часов после введения антигена в регионарных, позднее и в отдаленных лимфатических узлах, а также в селезенке и костном мозге развивается сложная цепная морфофункциональная реакция, затрагивающая все ростки кроветворения с их стромальными элементами. При введении растворимых антигенов наиболее яркие изменения выявляются в регионарных лимфатических узлах, при иммунизации корпускулярными антигенами – в селезенке и системе лимфатических узлов. В этот период усиливается миграция лимфоидных клеток и их предшественников, отражающая обмен информацией между тимусом и костным мозгом, тимусом и периферическими органами иммунитета, в результате чего уменьшается корковое вещество тимуса и происходит разрежение его ткани. С первых часов иммунного ответа изменяется и клеточный состав органов кроветворения.

Выраженные морфофункциональные реакции разворачиваются и за пределами системы иммунитета: усиливается нейросекреция, активизируется система гипофиз – кора надпочечников, увеличивается интенсивность анаболических процессов в паренхиматозных органах (например, в печени). Все эти явления стре-

нительно нарастают к 3-м суткам после первичного введения антигена, увеличивается количество плазмоцитов в лимфоидной ткани – сначала плазмобластов, затем незрелых и зрелых плазмоцитов, представляющих собой одноклеточные железы, секретирующие иммуноглобулины. Скопление их наблюдается преимущественно в области мозговых тяжей лимфатических узлов и красной пульпы селезенки. Морфологические сдвиги на несколько дней опережают образование антител, с 10-12-го дня после введения антигена структура органов возвращается к своему исходному состоянию.

При повторном контакте с антигеном реакции разворачиваются значительно быстрее, минуя индуктивную фазу. Реакции, происходящие в кроветворной ткани, масштабнее, продолжительнее и сочетаются с повышением уровня антител в периферической крови.

Т-лимфоцит распознает «чужое» только в том случае, если оно комплексировано со «своим» (Н.И. Татишвили и соавт., 1988). В роли структур первичного распознавания чужеродных антигенов выступают продукты генов, локализованных в области главного комплекса гистосовместимости. Он называется МНС (major histocompatibility complex), у человека обозначается как HLA (human leucocytic antigen). МНС расположен в коротком плече хромосомы 6. Эта обширная группа генов выступает генетическим «пультом управления» основных иммунологических процессов, контролирующих синтез трансплантационных антигенов, реакции клеточного иммунитета, функции макрофагов, синтез ряда компонентов комплемента и факторов свертывания крови (Б.И. Кузник и соавт., 1989).

Процесс иммунного ответа складывается из длинной последовательности событий, разной продолжительности и интенсивности отдельных этапов. Для первичного иммунного ответа эти этапы следующие (Р.М. Хаитов и соавт., 2000):

I. При травмировании покровных тканей антиген проникает во внутреннюю среду организма. При этом в покровных тканях выделяются медиаторы доиммунного воспаления (стресс-протеины, протеины теплового шока, цитокины кератиноцитов и клеток соединительной ткани), которые готовят почву для развития лимфоцитарного иммунного воспаления. Доиммунные защитные реакции в отношении антигена направлены на то, что-

бы не пустить антиген глубже покровов. В первую очередь это сосудистые реакции: расширение сосудов микроциркуляторного русла, повышенный выпот из сосудов в ткани плазмы или сыворотки (соответственно всех сывороточных факторов доиммунной резистентности к инфекциям) и экстравазация нейтрофилов. Локальный отек препятствует всасыванию антигена в системную циркуляцию.

II. Проникший в покровы антиген сорбируют и поглощают эндоцитозом антигенпредставляющие клетки (дендритные клетки) и фагоцитируют макрофаги. Наибольшее их количество – в слизистых оболочках и коже. «Вылавливая» антигены, поступающие сюда из внешней среды, они переносят их в регионарную лимфоидную ткань. Для зрелых дендритных клеток характерна высокая экспрессия антигенов главного комплекса гистосовместимости и костимулирующих молекул. Функциональная неоднородность дендритных клеток обеспечивает индукцию различных вариантов иммунных реакций, в том числе функциональную пролиферацию CD4 Т-лимфоцитов. Большинство дендроцитов имеет костномозговое происхождение. Их предшественниками являются моноциты крови, они близкие родственники макрофагов. Дифференцировочный процесс контролируется цитокинами, контактами с активированными Т-лимфоцитами, эпителиальными клетками и микробными продуктами (А.Н. Маянский, 2003).

Дендритные клетки мигрируют из покровов с антигеном в регионарные лимфоидные органы, при этом процессируют антиген, экспрессируют на мембрану комплексы пептидов с МНС-I и МНС-II и необходимые корцепторные молекулы, с помощью которых они смогут вступить в эффективное взаимодействие с Т-лимфоцитами в Т-зависимых зонах периферических лимфоидных органов. В покровных тканях антигены встречают внутриэпителиальные лимфоциты (IEL), среди которых много T $\gamma\delta$ , распознающих непептидные антигены без предварительного процессинга и презентации антигенпредставляющими клетками. Под покровами в плевральной и брюшной полостях активно функционируют антитела с широкой перекрестной реактивностью

«Неперехваченный» в барьерных тканях антиген, всосавшийся в системную циркуляцию, будет сорбироваться АПК в синусоидах селезенки (дендритные клетки и макрофаги), через которую проходит весь объем крови за цикл циркуляции.



III. Пришедшие в лимфатические узлы дендритные клетки с антигеном (их называют «интердигитальные дендритные клетки») располагаются в Т-зависимых зонах и представляют антиген для «рассмотрения» интенсивно мигрирующим Т-лимфоцитам.

Т-лимфоцит, у которого рецептор для антигена окажется комплементарным данному антигену, корецепторно взаимодействует с антигенпредставляющей клеткой, получит активационный сигнал, и с этого момента начнется лимфоцитарный иммунный ответ.

Активация лимфоцитов включает клональную пролиферацию (экспансия клона) и дифференцировку. Эти процессы определяются растормаживанием внутриклеточных медиаторов, которые транслируют сигналы с активированных (связавших лиганды) рецепторов. Суть дифференцировки сводится к активации генов, кодирующих мембранные рецепторы, иммунорегуляторные и ростостимулирующие цитокины. Это ведет к образованию множества короткоживущих эффекторных клеток и «долговечных» клеток памяти, нацеленных против антигена-индуктора. Антигены, действующие «в одиночку», не активируют лимфоциты и вызывают их анергию и апоптоз (А.Н. Маянский, 2003). В результате дифференцировки образуется клон антигенспецифичных иммунных Т-лимфоцитов-эффекторов.

IV. В Т-зависимых зонах периферических лимфоидных органов происходит взаимодействие активированных антигеном Т-лимфоцитов с активированными антигеном В-лимфоцитами.

V. Провзаимодействовавший с антигеном и с Т-лимфоцитами В-лимфоцит мигрирует в зону фолликула, где пролиферирует и дифференцируется в плазматическую клетку. Первые плазматические клетки остаются в лимфатическом узле, и секретируемые ими антитела остаются на Fc-рецепторах фолликулярных дендритных клеток (FDC). V-области этих антител связывают свой антиген. В комплексе с антителами, фиксированными на FDC, антиген может оставаться на территории лимфоидного фолликула в течение продолжительного времени – месяцы и годы. Здесь, в фолликулах, при повторном взаимодействии с этим антигеном пойдет процесс созревания аффинности антител и В-лимфоцитов с наиболее высокоаффинными вариантами антител.

VI. Антигены побуждают В-лимфоциты к дифференцировке в двух основных направлениях – образование антитело-

продуцирующих клеток и клеток памяти. Это сочетается с переключением (сменой) класса антител и повышением их сродства с антигеном («созревание аффинности антител»). Улучшение качества антител связано с гипермутацией генов, кодирующих переменные домены тяжелых и легких цепей. Пролиферацию и дифференцировку продолжают лимфоциты, «притертые» к эпитопам; остальные погибают путем апоптоза. Это обеспечивает многократное повышение аффинности антител по ходу иммунного ответа и их высокое качество при повторных контактах с антигеном, так как иммунологическую память определяют клетки, прошедшие «выбраковку».

T-лимфоциты лишены гипермутативности: их рецепторы сохраняют конфигурацию, полученную при внутритимусной дифференцировке. В этом заключен важный биологический смысл: мутирование TCR-генов на периферии могло бы нарушить взаимодействие T-лимфоцитов с молекулами МНС или спровоцировать их аутоагрессивность (А.Н. Маянский, 2003).

Дифференцировочные акты зависят от вспомогательных сигналов Th2-клеток. Большинство T-хелперов, ассистирующих В-лимфоцитам (особенно при первичном ответе), возникает в результате антигензависимого взаимодействия со своими обычными партнерами – дендритными клетками и макрофагами. Для активации В-лимфоцитов не требуется МНС-презентации антигенов (BCR-рецепторы связывают свободные эпитопы), но существует зависимость от АПК, которые кооперируются с T-хелперами. В-лимфоциты могут выступать в роли антигенпредставляющих клеток. В таких случаях после клоноспецифического распознавания В-эпитопов антигены подвергаются эндоцитозу, процессингу и презентации молекулами МНС-II. Это обеспечивает прямую кооперацию (контактную и цитокиновую) с T-хелперами на основе двунаправленного иммунного синапса (А.Н. Маянский, 2003).

Иммунные В-лимфоциты, дифференцировавшиеся в плазмциты, уходят из фолликулов лимфоидных органов и мигрируют в костный мозг или слизистые оболочки, где и «отрабатывают» массовую продукцию секретируемых в кровь или в слизистые секреты антител. Плазмциты из В-лимфоцитов лимфоидной ткани слизистых оболочек, продуцирующие антитела класса А и в небольшом количестве Е, предназначенные

для экскреции в слизистые экзосекреты, остаются для массовой продукции иммуноглобулинов в слизистой оболочке.

VII. Иммунные Т-лимфоциты-эффекторы (ЦТЛ, Th1, Th2) выходят из регионарных лимфатических узлов через эфферентные лимфатические сосуды, попадают в грудной лимфатический проток и оттуда в системную циркуляцию. Иммунный лимфоцит «узнает» эндотелий сосудов микроциркуляции в очагах повреждения тканей и воспаления, где TCR связывает свой антиген. Затем начинаются усиленный биосинтез и секреция эффекторных молекул. В случае T<sub>k</sub> это молекулы, обеспечивающие убийство клеток-мишеней, CD4<sup>+</sup> Th1 – это цитокины, «нанимающие» для деструкции антигена те или иные лейкоциты (макрофаги, эозинофилы, тучные клетки, базофилы, нейтрофилы).

VIII. Связанный антиген подвергается фагоцитозу и разрушению гидролитическими ферментами, кислородными радикалами, радикалами окиси азота до мелких метаболитов, которые экскретируются из организма через системы выделения (почки, желудочно-кишечный тракт).

IX. Результатом первичного иммунного ответа является санация организма, после чего начинается супрессия иммунного ответа – остановка продуктивного ответа после санации организма от патогена/антигена. Вторым результатом лимфоцитарной иммунной реакции – иммунологическая память.

*Антитела.* Биологическая функция антител обусловлена их высокой специфичностью, которая проявляется в способности реагировать в более выраженной степени с гомологичными, чем со сходными в химическом отношении антигенами. В состав  $\gamma$ -глобулинов входят 18 аминокислот, из которых в наибольшем количестве содержится глутаминовая и аспаргиновая кислоты, теронин, серин и валин.  $\gamma$ -глобулины, растворимые при низкой ионной силе раствора, называются псевдоглобулинами, а нерастворимые при этих условиях (выпадающие в осадок при диализе против дистиллированной воды) – эуглобулинами. Антитела обнаруживаются в обеих фракциях.

При лимфопролиферативных заболеваниях, коллагенозах и многих хронических инфекционных заболеваниях в сыворотке крови обнаруживается особый вид глобулинов, называемый криоглобулинами. К ним относятся антинуклеарные, гетерофильные и холодовые антитела, ревматоидный фактор.

Молекулярная масса антител находится в пределах 150000-900000. Молекулы антител имеют форму эллиптических цилиндров или цилиндрических палочек длиной до 24-25 нм и поперечным размером 4-5 нм. Антитела не разрушаются при кратковременном воздействии на них слабых кислот и щелочей, выдерживают нагревание до 60<sup>0</sup> С, не инактивируются трипсином в течение 7 дней при 37<sup>0</sup> С. Электрический заряд антител противоположен заряду аналогичного антигена.

Для изучения молекулярной структуры антител используют метод расщепления молекул иммуноглобулинов на отдельные фрагменты. Согласно номенклатуре, предложенной ВОЗ, иммуноглобулины по их антигенности, биологическим свойствам и структурным особенностям делятся на 5 классов: IgM, IgG, IgA, IgD, IgE. Иммуноглобулины классов G и A подразделяются на подклассы: IgG (G1, G2, G3, G4), IgA (A1, A2). Классы и подклассы называют изотипами иммуноглобулинов. Пять классов иммуноглобулинов имеются только у млекопитающих, которые у всех видов млекопитающих гомологичны. Это говорит о том, что 5 классов иммуноглобулинов сложились в эволюции до видообразования млекопитающих. То, что они консервативно сохранились в период дивергентной эволюции, свидетельствует об оптимальности их биологических свойств и необходимости для выживания в условиях окружающей среды.

На основе данных изучения фрагментов антител, образующихся под влиянием протеаз, R. Porter (1962) разработал принципиальную схему строения молекул  $\gamma$ -глобулина. R. Porter подверг иммуноглобулин G кролика протеолизу под действием фермента папаина и в результате получил разделяемые ионнообменной хроматографией три фрагмента. Два из них были одинаковыми и сохраняли способность связываться с антигенами: их обозначили Fab (fragment antigen binding). Третий фрагмент легко кристаллизовался и был обозначен как Fc (fragment crystallizable). Впоследствии стало известно, что Fc фрагменты иммуноглобулинов в пределах одного изотипа у данного организма строго идентичны независимо от специфичности антитела по антигену. За эту инвариантность их стали называть константными. Дальнейшие исследования подтвердили правильность этой схемы. Молекулы иммуноглобулинов всех классов состоят из двух идентичных тяжелых H-(Heavy) и идентичных двух легких L-(Light) це-

пей, соединенных между собой дисульфидными мостиками. Существуют три категории дисульфидных связей: межцепьевые дисульфидные связи – между Н- и L-цепями, обуславливающие четвертичную структуру молекулы; межцепьевые дисульфидные связи, обуславливающие полимеризацию IgM и IgA; дисульфидные мостики внутри цепей – 2 в легкой и 4 – в тяжелой. В состав IgM и IgA входит еще I-цепь, необходимая для их полимеризации. Антигенсвязывающие домены общих цепей имеют сильно варьирующий аминокислотный состав (поэтому и способны связывать разные антигены). Эти участки молекулы, как Н-, так и L-цепи, называют переменными «V» (variable region). Внутри переменных участков выделяют гиперпеременные. V-область занимает один домен в Н-цепи и один домен в L-цепи. Все, что «ниже» переменных участков, имеет строго инвариантный для каждого типа иммуноглобулинов аминокислотный состав и называется С-областью (constant region). В Н-цепи 3 или 4 домена, их обозначают  $C_{H1}$ ,  $C_{H2}$ ,  $C_{H3}$ ,  $C_{H4}$ . В легкой цепи – один С-домен, обозначаемый  $C_L$ .

Соответственно каждому классу иммуноглобулинов различают пять типов тяжелых цепей:  $\mu$  (Ig M),  $\gamma$  (Ig G),  $\alpha$  (IgA),  $\delta$  (IgD),  $\epsilon$  (IgE), имеющих молекулярную массу 50000-70000. Легкие цепи для всех классов общие и бывают двух типов:  $\kappa$  (каппа) и  $\lambda$  (лямбда). У одной молекулы антител обе легкие цепи могут быть только однозначными, или каппа, или лямбда. Соотношение  $\kappa : \lambda$  – видоспецифичный и строго стабильный генетический признак: у человека оно равно 2:1, у мыши – 20:1, у кошки – 1:20. Отклонение этого соотношения у отдельных особей имеет диагностическое значение, т.к. является признаком опухолевого процесса В-лейкоза. В зависимости от класса антител тяжелые цепи содержат в своем составе 420-700 аминокислотных остатков. Тяжелые  $\delta$ -цепи соединяются преимущественно с  $\lambda$ -цепями. Антитела разной специфичности могут соединяться с любым из классов иммуноглобулинов. Синтез иммуноглобулинов того или иного класса зависит от природы антигена и интенсивности антигенного стимула.

При электронном микроскопировании молекула иммуноглобулина класса G имеет вид компактного эллипсоидного цилиндра, состоит из 3-х отдельных фрагментов, соединенных между собой шарнирной областью. Свободная молекула имеет форму буквы T. При образовании комплексов с гаптенами боковые

фрагменты могут отклоняться и молекула приобретает форму буквы У. При этом открываются рецепторы для комплемента. Антитела, соединяясь с антигенами, могут образовывать треугольники, четырехугольники и пятиугольники, построенные из различного количества молекул антител. Из углов этих фигур отходят небольшие отростки, являющиеся Fc-фрагментами.

В состав иммуноглобулинов входит также глицидный компонент. Он состоит из галактозы, маннозы, N-ацетилглюкозамина, фруктозы и сиаловой кислоты, включается ковалентно в пептидную связь Fc-фрагмента. Небольшой олигосахарид находится также в Fd-фрагменте и в L-цепи.

Биологическая функция связана с постоянной частью тяжелых цепей. От Fc-фрагмента зависит неспецифическая фиксация комплемента, способность проходить через плаценту и вызывать анафилактическую реакцию. Fc-фрагмент в агрегированном состоянии способен присоединять комплемент. Тяжелую цепь можно разбить на 4 линейных связанных компактных участка, содержащих по 110 аминокислотных остатков и одну дисульфидную связь, образующую петлю. Эти участки молекул иммуноглобулинов называют доменами.

Домены соединены между собой полипептидной нитью наподобие бусинок, а с гомологичными доменами – посредством межцепевых дисульфидных связей. Начало постоянной части молекулы иммуноглобулина называют точкой переключения. В V-участках имеются точки, где замены аминокислот происходят чаще, чем в других положениях. Эти точки называют гипермутабельными (горячими). Изменчивость последовательности аминокислот в легких цепях является следствием точечных мутаций. В пределах варибельной половины легких цепей по стабильности их состава выявлены три типа участков: консервативные с постоянным составом аминокислот; варибельные, где расположены участки, характерные для данной группы, и гиперварибельные, в которых состав аминокислот; определяется характером антител.

Аминокислотный состав антител не обновляется при пребывании в кровяном русле. Период полураспада антител у различных видов животных обратно пропорционален массе тела животного и прямо пропорционален скорости обменных процессов: у мышей – 2 дня, у кроликов – 4-6, у крупных млекопитающих – 10-30 дней. Молекулы иммуноглобулинов при введении их особям другого вида сами выступают в роли антигена. В молекуле

иммуноглобулина различают три типа антигенных детерминант: изотипические, аллотипические и идиотипические. Изотипические детерминанты – видовые, аллотипические – индивидуальные, идиотипические – присущи только антителам данной специфичности. Изотипические детерминанты располагаются в постоянной части тяжелых и легких цепей и используются для изучения классов и подклассов антител. Аллотипические детерминанты отражают внутривидовые антигенные различия. Идиотипические детерминанты отражают индивидуальные различия в строении активного центра и могут служить меткой V-области.

Основные характеристики классов иммуноглобулинов человека представлены в табл. 12.

Таблица 12

**Основные классы и функции иммуноглобулинов сыворотки крови человека**

Класс	Тяжелая цепь	Концентрация в плазме, г·л <sup>-1</sup> или %	Основные функции
1	2	3	4
IgG	γ	70-80%; 9-18 г·л <sup>-1</sup>	Основной класс АТ в сыворотке. Обеспечивает: противовирусную защиту; связывание токсинов; усиление фагоцитарной активности; активацию системы комплемента; агглютинацию бактерий и вирусов. Могут переходить через плаценту и обеспечивать 3-6-мес. ребенку пассивный иммунитет.
IgA	α	10-15 %; 1,5-4 г·л <sup>-1</sup>	Присутствует в крови (сыворотке IgA) и в разных секретах – слюне, слизи трахеобронхиального дерева, мочеполовых путей, молоке, а также в синовиальной амниотической, плевральной, цереброспинальной жидкостях (секреторные IgA). Сывороточные IgA обеспечивают общий иммунитет; секреторные IgA – местный, создавая барьеры на пути проникновения инфекций и токсинов.
IgM	μ	5-10 %	Участвует в нейтрализации токсинов, опсонизации, агглютинации и бактериолизисе; активировывает системы комплемента.

1	2	3	4
IgE	ε	0,1 %	Присутствует на мембранах плазматических клеток; содержание в сыворотке – незначительное. По химической природе – АТ. Роль в иммунитете изучена недостаточно. Предполагают участие в аутоиммунных реакциях в секреции тучными клетками-базофилами биогенных аминов, гистамина, серотонина, в аллергических реакциях.
IgD	δ	0,1 %	Адсорбируется на базофилах и тучных клетках. Вызывает денатурацию иммунных комплексов. Участвует в аллергических реакциях.

**3.3.3.2. Клеточные кооперации, инициирующие иммунный ответ.** В реализации иммунного ответа на большинство антигенов имеет место синергическое взаимодействие стимулируемых антигеном макрофагов, Т- и В-лимфоцитов (Р.В. Петров и соавт., 1981). Клетками, включающими В-лимфоциты в антителогенез, являются Т-лимфоциты-хелперы. Рядом работ показано, что взаимодействие Т- и В-лимфоцитов опосредуется через антигенспецифические и антигеннеспецифические факторы, способные замещать функцию клеток-хелперов, и контролируется СІ-генами (Cell interaction genes) (М. Feldman et al., 1973; М. J. Taussig, А. Munro, 1973). Большинство природных и синтетических антигенов тимусзависимые, т. е. требуют для развития иммунного ответа участия Т-лимфоцитов-хелперов. При их отсутствии иммунный ответ к таким антигенам не развивается.

Результативность Т-В-кооперации при иммунном ответе не определяется количеством и соотношением клеток – участниц иммунного ответа. Для дифференцировки Т-хелперов, взаимодействующих с В-клетками при индукции иммунного ответа, необходимо наличие селезенки. Показано, что в вилочковой железе и лимфатических узлах спленэктомированных мышей, восстановленных после летального облучения сингенным костным мозгом, в отличие от нормальных облученных реципиентов (ложнооперированных), резко снижено число Т-хелперов (Р.М. Хаитов и соавт., 1976). В вилочковой железе



и лимфатических узлах спленэктомированных реципиентов быстро восстанавливалась популяция киллерных Т-клеток, вызывающих реакцию трансплантат против хозяина и инактивирующих эндогенные кроветворные стволовые клетки (Р.В. Петров и соавт., 1981).

Среди Т-лимфоцитов выявлены популяции клеток, блокирующих вспомогательное действие Т-хелперов, тормозящих пролиферацию иммунокомпетентных клеток и обеспечивающих становление толерантности. Эти клетки известны как Т-супрессоры. Выявлены антигенспецифические и антигеннеспецифические Т-супрессоры, опосредующие действие через супрессирующие факторы.

Работами Р.В. Петрова и соавт. показана неспецифическая и антигенспецифическая супрессия гуморального иммунного ответа клетками костномозгового происхождения (Р.В. Петров и соавт., 1976; Р.В. Петров, Р.М. Хаитов, 1977). В ряде работ продемонстрирована клеточная основа кооперации между Т-клетками и В-клетками. Установлено, что продукция антител (измеренная подсчетом антителообразующих клеток – АОК) обусловлена В-лимфоцитами и при использовании Т-зависимых антигенов исчезает в отсутствие «клеток-помощников». Mitchison (1971) предложил теорию «фокусирования антигена», согласно которой Т-клетки доставляют гаптен В-клеткам путем соединения с антигенными детерминантами переносчика и при тесном физическом контакте двух клеточных типов. Эффект помощника может быть блокирован воздействиями, которые снижают пролиферацию Т-клеток и синтез белков. Таким образом, результатом стимуляции и активации Т-клеток может быть продукция растворимых факторов, необходимых для синергических взаимодействий (М. Гилберто и соавт., 1980). Feldmann и Basten (1972) провели эксперименты, направленные на изучение механизмов, участвующих в Т-В-кооперации. Они установили, что контакт между Т- и В-клетками не является необходимым для воздействия помощника, а опосредуется растворимыми факторами. Feldmann (1973) установил роль макрофагов в этих феноменах. Он обнаружил, что комплексы, выделенные Т-клетками, вызывали бы толерантность у В-клеток, если бы суспензия клеток была лишена макрофагов. Гуморальный ответ может быть вызван путем сведения вместе В-клеток и выделенных макрофагов, предварительно

соединенных с активированными тимусными клетками. Если макрофаг служит клеткой-мишенью для выделяемых Т-клетками антигенных комплексов, то тесный контакт макрофага с В-лимфоцитами необходим для антигенного распознавания.

Одна из главных функций тканевого макрофага связана с его эндоцитозной активностью и последующей модуляцией захваченного антигена для В-клеток. В настоящее время известно, что при некоторых условиях растворимые факторы Т-клеток могут существенно повышать метаболическую активацию и эндоцитозную активность отдельных макрофагов. Модуляция макрофагами поглощенного антигена – одна из главных черт Т-В-кооперации, причем Т-клеточные факторы, влияющие на эндоцитозную активность макрофага, могут значительно содействовать оптимальной активации В-клеток и последующему синтезу антител.

Р. Dukor и Н.У. Hartmann (1973), изучавшие феномены активации В-клеток, установили, что включение синтеза антител может зависеть от двух сигналов. Первым является собственно прикрепление антигена к его рецепторам на поверхности В-клетки. Вторым, неспецифическим сигналом – лигандвызванная активация рецепторов третьего компонента комплекса (СЗ) на поверхности В-клетки. Макрофаг регулирует конечный В-клеточный ответ антител или посредством функционирования в качестве матрикса для активирующих факторов Т-клеток, или – усиления его эндоцитозной активности, контролирующей эффективное и иммуногенное количество представленных антигенных стимулов.

Макрофаги воздействуют посредством обеспечения оптимальных условий жизнедеятельности для сохранения лимфоцитов *in vitro* (трефоцитная функция). Т-клетки в присутствии макрофага подвергаются первоначальному соединению с антигеном. Следующая стадия – распознавание антигена – основывается на синергических взаимодействиях обеих вовлеченных клеток. Эти взаимодействия могут быть следствием фактического клеточного контакта коммитированных макрофага и Т-лимфоцита или опосредованы растворимыми факторами, выделяемыми макрофагом. Имеются данные о плотном клеточном прилегании как при первичном, так и при вторичном иммунном ответе, которое общепризнано как важная стадия иммунного ответа

(М. Гилберто и соавт., 1980). Исследованиями показано, что в течение первых 60 мин взаимодействия макрофаг – лимфоциты иммунные Т-клетки имеют одну и ту же степень связывания с макрофагами, независимо от того, были ли эти клетки предварительно подвергнуты воздействию иммунизирующего агента или нет. После 24 ч Т-клетки остаются прикрепленными только к комиттированным макрофагам. При смешивании подвергшихся воздействию антигена макрофагов с неиммунными или иммунизированными к другому антигену лимфоцитами присоединение их друг к другу не обнаружено (Р.Е. Lipsky, А.С. Rosenthal, 1975).

Синергетическое взаимодействие между макрофагами и Т-клетками находится под строгим контролем со стороны МНС. Оптимальная активация Т-клеток растворимым белковым антигеном происходит только в том случае, если макрофаги и Т-лимфоциты имеют на своих поверхностях одинаковые продукты гена МНС. Т-клетки проявляют определенную зависимость от макрофагов как специфических или добавочных клеток при вызывании оптимальной активации. Нужда в макрофагах для активации Т-клеток, вызванной окислением остатков сахаров на поверхности лимфоцита, предполагает большое значение макрофаговой активации Т-клеток при взаимодействии разнородных лейкоцитов, а также важную роль макрофага в этом процессе. Они могут воздействовать посредством высвобождения в среду стимулирующих и ингибирующих факторов и на клетки всех типов в данной микросреде (М. Гилберто и соавт., 1980).

Лимфоциты сталкиваются с антигенами на территории периферийных лимфоидных тканей. До этого они пребывают здесь в виде наивных клеток, готовых к распознаванию антигенов. Для реализации своих эффекторных функций они должны пройти через индуктивную фазу, которая завершается разворачиванием реакций гуморального и клеточного иммунитета (антител и сенсibilизированных Т-лимфоцитов) и образованием клеток-памяти.

Вспомогательные сигналы, объединяемые в понятие «костимуляция», возникают внутри иммунной системы и по своей природе неоднородны. Это межклеточные (адгезивные) контакты, формирующиеся на основе взаимокплементарных пар CD-молекул (иммунный синапс), что не только закрепляет физическое сближение клеток, но и создает дополнительные возможности для взаимодействия между ними, расширяя число каналов

по обмену костимулирующими сигналами. Вторым механизмом основан на цитокинах. Они секретируются активированными клетками и включаются в регуляцию ключевых этапов иммуногенеза (А.Н. Маянский, 2003).

*Индукция хелперной линии Т-лимфоцитов (CD4<sup>+</sup>).* Итог дифференцировки CD4 Т-лимфоцитов – образование клеток, секретирующих цитокины, а также клеток памяти, способных к экстренной мобилизации своего секреторного потенциала при повторных контактах с антигеном. Наивные Т-хелперы воспринимают антигены в комплексе с молекулами МНС-II на поверхности профессиональных АПК, в сочетании с костимулирующими сигналами, исходящими от АПК и микроокружения, это ведет к созреванию различных вариантов Th-клеток (Th1, Th2).

Основные этапы индукции Т-хелперов (по А.Н. Маянскому, 2003):

1. Первичная стимуляция (преактивация) в системе TCR-рецепторного комплекса ( $\alpha$ - $\beta$ /CD3/CD4):

а) МНС-II-зависимое распознавание антигенных пептидов на поверхности АПК (вариабельные домены  $\alpha$ -,  $\beta$ -цепей TCR);

б) укрепление контактов с АПК на основе комплементарности МНС-II и CD4;

в) CD3/CD4-зависимая амплификация (усиление) антигенного сигнала.

2. Формирование костимулирующих контактов в системе комплементарных CD-молекул АПК и лимфоцита (CD80/86-CD28, CD58-CD2, CD54-CD11a и др.).

3. Секретция цитокинов, поддерживающих пролиферацию и дифференцировку CD4 Т-лимфоцитов. В этом участвуют активированные АПК (IL-1 и др.) и сами Т-хелперы (IL-2 и др.). Образование цитокинов сочетается с экспрессией цитокиновых рецепторов, создавая мишени для аутокринных и паракринных эффектов.

*Индукция В-лимфоцитов.*

Общие этапы и механизмы индукции В-лимфоцитов:

1. Первичная стимуляция (преактивация) в системе BCR-рецепторного комплекса (mIgM/CD79a/CD79b):

а) связывание свободных антигенов mIgM-рецепторами;

б) усиление и внутриклеточная трансляция антигенного сигнала через молекулы, ассоциированные с mIgM (CD79a и CD79b).

## 2. Контактное взаимодействие с CD4 Т-клетками:

а) реакция на основе антигенных пептидов, презентируемых В-лимфоцитами в комплексе с МНС-II. В этом случае В-лимфоцит, воспринявший антиген, выполняет функцию АПК, а костимулирующие сигналы формируются в системе CD-зависимых контактов. К ним добавляется важная в функциональном отношении связка, переключающая класс антител: CD40 (В-клетки) и CD 154 (CD40L) (Т-клетки);

б) взаимодействие с Т-хелперами, активированными соседними АПК.

3. Цитокинзависимая дифференцировка В-клеток (воздействие Th2-цитокинов – ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-10).

*Индукция CD8 Т-лимфоцитов.* Активация наивных CD8 Т-лимфоцитов завершается их превращением в клетки с биоагрессивным потенциалом – Т-киллеры. В результате активации они обретают способность к образованию факторов, вызывающих апоптоз и цитолиз клеток-мишеней. Основные этапы:

1. Первичная стимуляция в системе TCR-рецепторного комплекса ( $\alpha$ - $\beta$ /CD3/CD8):

а) распознавание антигенных пептидов, презентируемых АПК в комплексе с молекулами МНС-I;

б) укрепление контактов с АПК на основе комплементарности между CD8 и МНС-I;

в) СВ3/СВ8-опосредованная трансляция активирующего сигнала.

2. Формирование вспомогательных контактов (и соответственно костимулирующих сигналов) в системе взаимодействующих CD-молекул АПК и лимфоцита (особую значимость имеет связка CD80/86-CD28). Один из главных итогов – «созревание» рецепторов для ИЛ-2.

3. Цитокиновая поддержка активации клеток с помощью ИЛ-2 Th-клеток и Тк.

Индукция всех категорий лимфоцитов имеет ряд общих признаков. Ее основой является взаимодействие клеток иммунной системы, которой предшествует (а в случае Т-лимфоцитов сопутствует) селекция клона, подлежащего активации. Связывание антигена индуцирует первичный активационный сигнал, который усиливается молекулами-трансммитерами, ассоциированными с антигенраспознающим рецептором. Это вызывает

экспрессию дополнительных рецепторов (CD-молекул), которые укрепляют физическую стыковку между взаимодействующими клетками и обеспечивают обмен контактными ко-стимулирующими сигналами. При этом лимфоциты обретают рецепторы для цитокинов и сами начинают их секретировать. Это определяет второй (гуморальный) канал межклеточного общения. Итогом являются пролиферация и дифференцировка антигенчувствительного клона лимфоцитов, создающие основу для реализации иммунного ответа и более качественной реакции на повторное внедрение того же антигена (рис. 20).

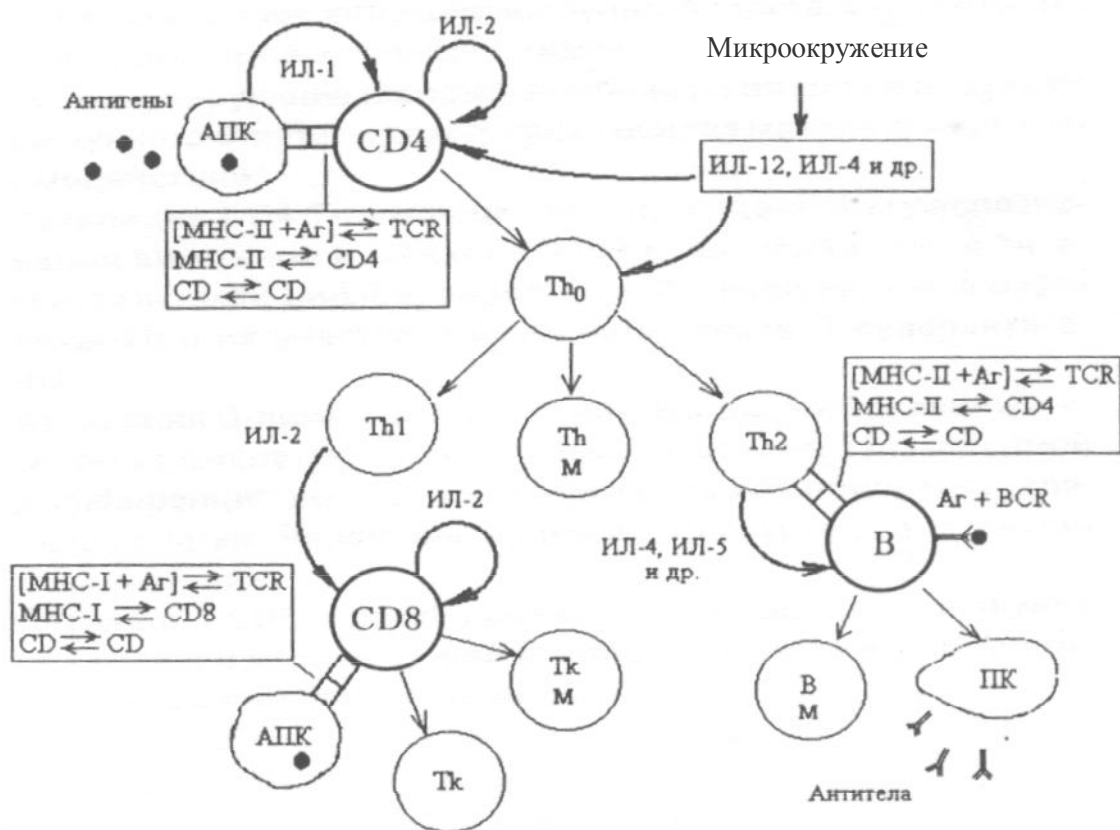


Рис. 20. Схема межклеточной кооперации в индукции иммунного ответа (А.Н. Маянский, 2003):

Аг – антигенный эпитоп;  $CD \leftrightarrow CD$  – контактное взаимодействие между комплементарными CD-рецепторами; CD4 – наивный CD4 Т-лимфоцит; CD8 – наивный CD8 Т-лимфоцит; М – клетка памяти; Th<sub>0</sub>, Th<sub>1</sub>, Th<sub>2</sub> – функциональные (дифференцировочные) варианты Th-клеток (наивных CD4 Т-хелперов); Тк – Т-киллер (цитотоксический CD8 Т-лимфоцит); ПК – плазматическая клетка

В- и Т-лимфоциты могут быть активированы, исключая антигенспецифичные структуры. Обычно лимфоциты находятся в G<sub>0</sub> фазе клеточного цикла и не синтезируют ДНК. Для их активи-

вазии, которая выражается в резком усилении транспорта питательных веществ в клетку, в синтезе РНК и белка, необходимых для синтеза ДНК, делении клетки, а затем синтезе РНК и белка (для В-клетки и ее потомков – иммуноглобулинов), *in vitro* применяют митогены В-клеток (липополисахарид *E. Coli*, очищенный белок – производное туберкулина, белок А золотистого стафилококка, декстрансульфат) или Т-клеток (конканавалин А, фитогемагглютинин). *In vivo* для активации лимфоцитов помимо антигенного стимула необходимо участие второго сигнала, который выделяется стимулированными Т-клетками (для В-клеток) и макрофагами или другими Т-клетками (для Т-клеток) (С.В. Комиссаренко, 1981).

В настоящее время выдвинуто предположение о трансмембранной регуляции в процессе активации лимфоцитов, при которой рецепторы плазматической мембраны могут быть связаны со структурными элементами клетки (цитоскелетом), включая ядро. По имеющимся экспериментальным данным, между рецепторами Кон А и внутриклеточными миозинсодержащими волокнами существует трансмембранная связь. Важную роль в стабильности этой связи связывают с ядерной мембраной (M. Bornes et al., 1976).

Связывание рецептора с лигандом (митогеном) приводит к серии быстрых и медленных метаболических процессов, происходящих в течение нескольких часов или суток. С первых минут происходит активация транспорта ионов  $K^+$  в лимфоциты  $Na^+$ ,  $K^+$ -АТФазой. При этом объем потока калия возрастает с 9,6 до 15,9 нмоль на  $10^6$  клеток за 3 ч (J. G. Kaplan, M.R. Quastel, 1975).

Несмотря на низкую концентрацию ионов  $Ca^{2+}$  в клетке ( $10^{-6}$ –  $10^{-8}$  М), они регулируют в ней большое количество биохимических реакций. При модификации плазматической мембраны и микротрубочек лектинами-митогенами происходит быстрый транспорт  $Ca^{2+}$  внутрь клетки. К ранним изменениям, связанным с активацией клетки митогеном, относится резкое ускорение обмена фосфатидилинозитола и синтеза полиненасыщенных жирных кислот плазматической мембраны, связь которых с транспортом  $Ca^{2+}$  интенсивно исследуется (В.А. Ляшенко и соавт., 1988; Т.Н. Баглаев и соавт., 1983; E. Bard et al., 1978; Z.Y.W. Bourguignon, W.G.L. Kerrik, 1983).

Более поздние метаболические процессы, происходящие в лимфоците после его активации, сопровождаются образованием на его поверхности «пятен» и «шапочки» вследствие локальной диффузии рецепторов на поверхности мембраны, а затем концентрации комплексов сгруппированных рецепторов на одном из полюсов клетки. Внутри клетки происходит перестройка, характерная для подготовки ее к делению – повышается активность хроматина, синтезируются РНК и белки, необходимые для инициации и синтеза ДНК (А.А. Нейфах, М.Я. Тимофеева, 1978), а затем синтезируется ДНК, с которой сразу же может транскрибироваться рРНК или мРНК.

Данные о регуляции синтеза ДНК и РНК неполны и противоречивы. Считают, что «активные» транскрибирующиеся гены имеют вид нуклеосом или подобных им структур, но это больше характерно для неактивного хроматина. Регуляция транскрипции осуществляется ядерными негистоновыми белками, которые, связываясь со специфическими последовательностями ДНК, мешают посадке на ДНК гистонов и определяют участки транскрипции (С.В. Комиссаренко, 1981).

Изменение содержания  $Ca^{2+}$  в клетке влияет на активность важнейших ферментативных систем в клетке – систему микротрубочек и микроволокон, так как для полимеризации тубулина необходим низкий уровень, а для взаимодействия миозин-актин – высокий уровень  $Ca^{2+}$  в микроволоконцах.

В качестве второго сигнального посредника в лимфоцитах выступают циклические нуклеотиды. Увеличение концентрации цАМФ тормозит синтез ДНК, активирует мРНК и ведет к дифференцировке клетки. Увеличение количества цГМФ способствует синтезу ДНК и пролиферации клетки. Связь между цГМФ и синтезом ДНК и РНК может осуществляться через систему связанных с циклическими нуклеотидами протеинкиназ. Такие протеинкиназы, фосфорилируя негистоновые белки хроматина, регулируют синтез ДНК и РНК.

Существуют данные о наличии трех независимых пулов цАМФ в лимфоцитах, из которых лишь один, связанный с плазматической мембраной, отвечает на митогенный стимул повышением содержания цАМФ и связан с фосфорилированием ядерных белков и синтезом ДНК. Подобный механизм возможен и с участием цГМФ, так как гуанилатциклаза присутствует в



плазматической мембране, эндоплазматическом ретикулуме, митохондриях, ядре и цитозоле клетки, где она обладает различными каталитическими и биологическими свойствами. Количество цГМФ в клетке зависит от активности гуанилатциклазы, участвующей в синтезе цГМФ, и фосфодиэстеразы цГМФ, гидролизующей 3'-фосфодиэстеразную связь. Регуляция уровня цГМФ может осуществляться через систему фосфодиэстераза цГМФ – кальцийзависимый регулятор, который, связываясь с  $\text{Ca}^{2+}$ , активирует фосфодиэстеразу. Действие цГМФ в клетке реализуется через систему цГМФ-зависимых киназ, фосфорилирующих гистоны и ряд негистоновых белков. Это приводит к пролиферации В- и Т-клеток, синтезу антител потомками В-клеток. Кроме того, цГМФ усиливает цитотоксичность сенсibilизированных лимфоцитов, активирует выделение макрофагами лимфоцитстимулирующего фактора. Уровень цГМФ коррелирует с митотической активностью тканей: он высок в быстро делящихся и опухолевых клетках (С.В. Комиссаренко, 1981).

Аналоги цАМФ стимулируют синхронизированные клетки при добавлении их в митозе и поздней  $G_1$  фазе и ингибируют клетки в  $G_2$  или ранней  $G_1$  фазе (I.H. Pastan et al., 1975). Установлено, что изменение количества внутриклеточного цАМФ после стимуляции лимфоцитов конканвалином А активируются клетки, находящиеся в  $G_0$  фазе. Динамика содержания цАМФ коррелирует во времени с динамикой токов  $\text{Ca}^{2+}$  в стимулированных конканвалином А лимфоцитах и указывает, что в S фазе предшествуют подъем и падение уровня цАМФ в клетке. Связь между изменением количества цАМФ и усилением синтеза РНК в лимфоцитах, который начинается через 2 – 4 ч после действия конканвалина А, не установлена. Таким образом, важнейшим регуляторным фактором в активации лимфоцитов является содержание цАМФ и цГМФ в определенной фазе клеточного цикла.

Дифференцировка лимфоидных клеток от стволовой полипотентной клетки до зрелых лимфоцитов осуществляется через дискретные этапы, проходящие с репрограммированием клетки и экспрессией соответствующих каждой стадии антигенов (рецепторов и маркеров) на поверхности клетки. Начальные этапы дифференциации клетки контролируются «начальной программой» генома клетки и не требуют взаимодействия ее рецепторов с эффекторными молекулами. В дальнейшем скорость диффе-

ренцировки и ее направление регулируются как активностью генов, продукты которых (рецепторы) представлены на поверхностной мембране клетки, так и взаимодействием этих рецепторов с различными лигандами. Сигнал о взаимодействии передается к ядру и вызывает репрограммирование клетки, активацию других генов, синтез новых рецепторов, которые определяют стадию дифференцировки клетки. Природа сигнала с поверхности клетки к ядру универсальна – это цепь биохимических реакций, запускаемых модификацией структуры поверхностной мембраны клетки и токами  $Ca^{2+}$  и  $K^+$ . Со структурным переходом мембраны и транспортом ионов связана система микротрубочек и микроволокон, соединяющая элементы клеточной мембраны с ядерными структурами. Этой системе отводится важное значение в процессах активации лимфоцитов и злокачественного перерождения клеток. При активации клетки изменяется уровень цПМФ, фосфорилируются регуляторные белки, которые активируют определенные участки ДНК, что ведет к пролиферации и/или дифференцировке клетки. Важную роль в регуляции процессов активации лимфоцитов отводят реакциям синтеза и превращения пуриновых нуклеотидов и их метаболитов, в первую очередь аденозина (С.В. Комиссаренко, 1981).

Для нормального функционирования системы иммунного гомеостаза важное значение имеет сеть клеток-супрессоров, где в настоящее время выделены специфические и неспецифические Т-супрессоры, специфические В-супрессоры и макрофаги с супрессивной активностью. Один и тот же макрофаг обладает способностью подавлять деление лимфоцитов и убивать опухолевые клетки (D. Sein, M.L. Lohmann-Matthes, 1982). Наличие супрессорной активности у макрофагов является тем свойством, которое позволяет ему участвовать в регуляции иммунного ответа.

Действуя на лимфоциты, активированные макрофаги блокируют переход клеток из  $G_1$  в S-фазу клеточного цикла, т.е. оказывают митостатический эффект. В случае синтеза макрофагами компонентов комплемента возможна блокада перехода из  $G_0$  в  $G_1$ , а из  $G_2$  в M-фазу. Иногда макрофаги служат необходимым клеточным компонентом для процесса накопления популяции клеток-супрессоров немакрофагального происхождения (В.А. Козлов, 1985). Супрессивный ответ макрофагов сказывается не только на процессе пролиферации клеток, но и на функции зре-

лых иммунокомпетентных клеток-эффекторов. Выделяемый макрофагами фактор ингибирует секрецию антител. Макрофаги подавляют продукцию лимфокинов зрелыми лимфоцитами (G. Forni et al., 1982). Механизм иммунодепрессивного эффекта макрофагов является цитостатическим, т.е. обусловлен блокадой митотического цикла клеточных элементов в  $G_1$ - и  $G_2$ -фазах.

Накоплены данные, свидетельствующие о роли макрофагов в системах регуляции функций и Т-нелимфоидных клеточных популяций (паренхиматозные клетки печени, СКК, комитированные предшественники гранулоцитарного и эритроцитарного ряда кроветворения). Установлено наличие в организме еще одного механизма регуляции иммунитета, направленного на модуляцию размера развивающегося клона иммунокомпетентных клеток-эффекторов. Запуск этого механизма осуществляют макрофаги, фагоцитарный антиген. Макрофаги индуцируют стимуляцию пролиферативных и дифференцировочных процессов среди СКК и внутри эритрона (В.А. Козлов с соавт., 1982). Представлены доказательства об иммунодепрессивном эффекте эритробластов и эритроцитов, мишенями которых являются предшественники антигенпрезентирующие клетки и зрелые формы антителопродуцентов.

Таким образом, макрофаги являются участниками межклеточных кооперативных взаимоотношений, обуславливающих накопление в организме иммунокомпетентных клеток-эффекторов, могут оказывать иммуномодулирующий (в частности, иммунодепрессивный) эффект косвенно – через другие гомеостатические системы. Это касается эритрона с иммунодепрессивным действием его отдельных клеточных популяций. Не исключено, что сигнал на эндокринную систему в процессе развития иммунного ответа исходит из макрофагов. Полагают, что в процессе фагоцитоза антигенного материала гормонметаболизирующая функция макрофагов снижается. Это является одним из механизмов повышения уровня глюкокортикоидов и включения их в многоуровневую организацию системы факторов, регулирующих процесс иммуногенеза (В.А. Козлов, 1985).

В межклеточных взаимодействиях участвует ряд медиаторов. Так, макрофаги вырабатывают интерлейкин 1 (IL-1), который выступает в роли дополнительного сигнала для клеток-индукторов и хелперов. Т-лимфоциты вырабатывают интерфе-

рон, активирующий макрофаги. Большинство антигенов становится иммуногенными только после переработки макрофагами и представления лимфоцитам. С другой стороны, антигены могут выступать в роли толерогенов, а именно – в том случае, если нарушена функция макрофагов (Л. Йегер, 1990).

Синергизм клеток тимусного и костномозгового происхождения присутствует в реакциях трансплантационного иммунитета. Кооперация Т- и В-клеток выявлена в феномене Симонсена и в цитотоксических реакциях сенсibilизированных лимфоцитов в культуре клеток. Гипотетически механизм такого взаимодействия возможен в нескольких вариантах (А.Е. Вершигора, 1980):

1) включающий сигнал возникает при связывании рецепторов В-клеток с гаптеном и рецепторов Т-клеток с носителем;

2) индукция пролиферации и дифференцировка происходят в результате непосредственного взаимодействия рецепторов Т- и В-клеток, сближению которых способствует антиген, при этом необходимо наличие рецепторов двух типов – распознающих детерминанты антигена и распознающих специфические структуры друг друга;

3) включающий сигнал для синтеза антител может возникнуть от «батареи» антигенных детерминант, сконцентрированных на В-клетке посредством специфических белков Т-лимфоцитов;

4) дополнительный сигнал может поступить в В-клетку от связавшей антиген свободной Т-клетки;

5) поступление сигнала от Т-клетки, сшитой с В-клеткой, в виде растворимого медиатора.

Функцию Т-лимфоцитов в клеточной кооперации может заменить растворимый фактор, продуцируемый ими в смешанной аллогенной культуре, выделяющийся при контакте с чужеродными антигенами гистосовместимости. Этот фактор получил название «фактор, замещающий Т-лимфоциты». Он стимулирует синтез как IgM-, так и IgG-антител.

В-лимфоцит – профессиональная АПК для Т-лимфоцита. Своим иммуноглобулиновым рецептором он связывает антиген, поглощает его путем эндоцитоза, подвергает внутри себя процессингу и экспонирует на поверхность пептидные фрагменты в составе комплексов с молекулами МНСII/I. В научной литературе описано два варианта Т-В-взаимодействий: при первом варианте TCR Т-лимфоцита свяжет антиген на поверх-

ности В-лимфоцита и установит все необходимые корцепторные взаимосвязи между Т- и В-лимфоцитами; при втором варианте В-лимфоцит распознает свой антиген, но недалеко от него окажется Т-лимфоцит, распознавший антиген на другой АПК. В этом варианте взаимодействие ограничится посредством цитокинов (Р.В. Петров, 1987). Для пролиферации клона В-лимфоцитов необходимо два воздействия со стороны Т-лимфоцита на В-лимфоцит: взаимодействие мембранными молекулами CD40 (В-лимфоцит) и CD40L (Т-лимфоцит) и связывание IL-4, продуцируемого Th2 с рецепторами IL-4R на поверхности В-лимфоцита. При этом Th2 продуцируют IL-5 и IL-6, которые продвигают дифференцировку размножившегося клона В-лимфоцитов в направлении плазматических клеток. Таким образом, Th2 стимулируют реакции гуморального иммунитета.

Под влиянием цитокинов, выделяемых Th, макрофагами и дендритными клетками, происходят распознавание антигенов и активация Тк. Деятельность этих клеток лежит в основе противоопухолевого и трансплантационного иммунитета. Вещества, необходимые для уничтожения клеток-мишеней, накапливаются в крупных цитоплазматических гранулах. При встрече с различными клетками Тк обследуют их поверхность в поисках антигенного эпитопа, при обнаружении которого Тк связывается с ней и оказывает на нее летальное цитотоксическое воздействие. Механизм цитотоксического действия Тк (Р.М. Хаитов и соавт., 2000):

1) образование пор в плазмолемме клеток-мишеней за счет секреции Тк особых белков перфоринов в присутствии межклеточного  $Ca^{2+}$ . Перфорины встраиваются в качестве трансмембранных белков в плазмолемму клеток-мишеней и образуют поры, формирование которых приводит к нарушению осмотического равновесия клетки-мишени, ее набуханию;

2) индукция апоптоза клеток-мишеней ферментами-гранзимами, которые синтезируют и накапливают в гранулах Тк. Гранзимы вводятся в цитоплазму клеток-мишеней через поры в плазмолемме;

3) индукция апоптоза клеток-мишеней, опосредованная поверхностными рецепторами на их плазмолемме, происходит в результате  $Ca^{2+}$ -независимого взаимодействия Fas на плазмолемме клеток-мишеней с Fas-L на поверхности Тк.

*Гипотетические варианты распознавания антигенов Т-лимфоцитами.* Вариант 1. Располагающийся на поверхности клетки свободный антиген распознается антигенраспознающими рецепторами Т-лимфоцитов, в результате чего клетка получает сигнал 1. Необходимый для осуществления процесса активации дополнительный сигнал 2 клетка получает в результате взаимодействия комплементарных структур продуктов МНС.

Вариант 2. Предполагается наличие на цитомембране антигенраспознающих Т-лимфоцитов специфических рецепторов для собственных антигенов гистосовместимости. Чужеродный антиген распознается специфическими рецепторами для антигена, продукты генов МНС распознаются рецепторами для собственных антигенов гистосовместимости.

Вариант 3. В цитотоксических реакциях гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) и реакциях трансплантат против хозяина (РТПХ) Т-лимфоциты распознают комплекс чужеродного антигена с белками Ia, а в реакциях против клеток, пораженных вирусами против клеток опухолей и чужеродных трансплантатов, Т-лимфоциты распознают комплекс чужеродного антигена с продуктами генов H-2K и H-2D (А.Е. Вершигора, 1980).

Основными клеточно-опосредованными реакциями являются реакции ГЗТ, отторжения трансплантатов и опухолей, реакции трансплантат против хозяина, цитотоксические реакции.

Клеточно-опосредованный иммунный ответ реализуется посредством основных феноменов: замедленная гиперчувствительность, резистентность к ряду возбудителей, резистентность к опухолям, отторжение трансплантата, реакция трансплантат против хозяина, грибковая аллергия, некоторые аутоиммунные заболевания.

**3.3.3.3. Регуляция иммунного ответа.** *Иммунный ответ гуморального типа.* Различают антитела, синтезированные непосредственно после контакта с антигеном (преимущественно это IgM), и антитела, которые вырабатываются в более отдаленные сроки. Так, антитела класса IgM и низкоаффинные IgG синтезируются в начале иммунного ответа, кроме того, сами могут вызвать усиленную продукцию антител. Этот факт был экспериментально доказан в опыте с пассивным введением антител того же класса Ig. Биологический эффект заключается в ускорении иммунной реакции. В ходе иммунного ответа увеличивается аффинность антител, поэтому обнаруженные через некоторое время

после начала реакции IgG характеризуются большим сродством к антигену. Эти иммуноглобулины оказывают уже ингибирующее действие на синтез антител. Высокоаффинные IgG во многих случаях позволяют предотвратить нежелательные проявления иммунных реакций. Помимо регуляторного действия на синтез антител по методу обратной связи, антитела, отличающиеся высокой аффинностью, могут быстро связывать антиген и быстро элиминироваться.

T-лимфоциты также могут регулировать течение иммунных реакций при гуморальном ответе. Индукция реакции во многом зависит от наличия T-хелперных клеток; для «запуска» реакции необходимо участие макрофагов, при этом ее окончание контролируется особой субпопуляцией T-лимфоцитов – клетками-супрессорами. Они появляются значительно позже T-хелперов – через несколько недель после начала реакции иммунного ответа. T-супрессоры выделяют медиаторы, действующие либо на T-хелперные клетки, либо на сами B-лимфоциты. Регуляция иммунного ответа гуморального типа может происходить следующим образом: сначала клетки-хелперы усиливают и ускоряют синтез антител, затем активируются клетки-супрессоры, ограничивающие этот процесс (Л. Йегер, 1990).

T-супрессоры действуют на разных уровнях. Описаны лимфоциты, способные ограничивать, например, синтез иммуноглобулинов в целом, выработку антител определенного класса иммуноглобулинов, уникального аллотипа и т. д. Это свидетельствует о наличии целой системы регуляторных факторов, вырабатываемых различными популяциями клеток (макрофагами, АПК, T- и B-лимфоцитами), а также многочисленных молекулярных факторов (например, антигенов, антител, иммунных комплексов, макрофагов, индукторов и других АПК, клеток-хелперов и супрессоров). Важную роль играют и генетические факторы.

Лимфоидная система регулирует свою функциональную активность при помощи иммунных реакций против аутологичных антигенраспознающих рецепторов – гипотеза иммунной сети. В современной иммунологии сформировано положение об элементарной базовой ячейке иммунного ответа, которая состоит из лимфоцитов двух уровней (идиотип- и антиидиотип-лимфоциты). Взаимодействие клеток внутри каждого уровня и между уровня-

ми обеспечивается реакцией лимфоцитов первого уровня на антиген и идиотип – антиидиотипвзаимодействием (В.Г. Нестеренко, 1985).

Некоторые субпопуляции Т-клеток распознают чужеродный антиген совместно с продуктами МНС. Было установлено существование Ig-специфических (идиотип-, аллотип-, изотип-специфических) Т-помощников и Т-супрессоров и на основе ряда экспериментальных данных высказана идея об идиотипической рестрикции взаимодействия клеток в иммунногенном ответе. Согласно этой гипотезе, предполагается, что антигенраспознающие рецепторы Т-лимфоцитов представлены двумя несвязанными друг с другом молекулами (dual recognition theory) или одной сложной (altered self recognition theory). Эти рецепторы распознают две разные, физически не связанные структуры, или одну комплексную структуру клеточной поверхности и кодируются двумя отличающимися V-генами. Активация и последующая пролиферация лимфоцитов, распознающих аутологичные структуры, индуцируют процессы адаптивной дифференцировки или увеличивают частоту мутаций в V-генах антигенраспознающих рецепторов. В результате появляется лимфоцит, у которого один из двух рецепторов (или часть сложного рецептора) остается комплементарным к аутологичному антигену. Реакция такого лимфоцита на новый антиген рестриктирована данным аутологичным антигеном. С этой точки зрения: а) идиотип непосредственно участвует в генерации разнообразия антигенраспознающих рецепторов как рестриктирующий элемент; б) МНС-рестрикция наиболее выражена, так как рестриктирующие элементы представлены на всех клетках организма. В ряде работ выявлена морфогенетическая функция лимфоцитов, то есть способность их влиять на пролиферацию и дифференцировку аутологичных (сингенных) соматических нелимфоидных клеток. В качестве клеток-мишеней для Т-лимфоцитов описаны ГСК, клетки печени, почек, сердца, кожи, костной ткани, поджелудочной железы (В.Г. Нестеренко, 1980). Таким образом, сетевые взаимодействия не ограничиваются лимфатической тканью, а охватывают большое число тканей.

Важная роль в регуляции иммунного ответа принадлежит интерлейкинам, являющимся медиаторами межклеточных взаимодействий. IL-1 вырабатывается всеми АПК, для его синтеза



требуется наличие протеазы. Он представляет собой пептидную цепь с молекулярной массой 12 000 – 15 000. Установлено, что существуют IL-1a и IL-1p. Первый из них обладает кислыми, второй – щелочными свойствами, хотя им присущи одинаковые функции. Функции IL-1 разнообразны: под его влиянием осуществляется синтез других интерлейкинов в Т-лимфоцитах, он оказывает митогенный эффект на клетки-мишени, способствует образованию IgE<sub>2</sub> и лейкотриенов (ЛТ), стимулирует выработку антител, усиливает кроветворение в костном мозге и синтез прокоагулянта эндотелиоцитами, увеличивает продукцию амилоида А, фибриногена, С-реактивного белка, коллагеназы, принимает участие в развитии воспаления, способствует выбросу нейтрофилов из костного мозга (Б. И. Кузник, Н.В. Васильев, 1989).

IL-2 образуется активированными Т-хелперами (амплифайерами). Это соединение с молекулярной массой 13000 – 16000 выполняет в иммунном ответе роль неспецифического медиатора. IL-2 стимулирует пролиферацию зрелых цитотоксических и супрессорных Т-лимфоцитов, увеличивает синтез антител против тимусзависимых антигенов. Рецепторы к IL-2 могут присутствовать на Т-, В- и НК-клетках. Они обладают высокой аффинностью и специфичностью связывания и по своим свойствам напоминают рецепторы для гормонов. На Т-лимфоцитах рецепторы для IL-2 обнаруживаются уже через 6 ч после стимуляции; максимальное количество их образуется на 3 – 7-е сутки, после чего прогрессивно уменьшается. Под влиянием IL-2 интерлейкинчувствительные клоны Т-хелперов способны продуцировать факторы роста и дифференцировки В-лимфоцитов. IL-2 активирует Т-киллеры, НК-клетки и стимулирует гемопоэз. Согласно экспериментальным данным, под влиянием IL-2 происходит активизация Т-лимфоцитов (киллеров), способных проникать в глубь опухоли и уничтожать раковые клетки.

IL-3 продуцируется активированными Т-хелперами. Это регуляторный гликопротеид с молекулярной массой 28 000, являющийся бластогенным фактором. При добавлении в культуру костного мозга IL-3 стимулирует процессы кроветворения, оказывая действие на пролиферацию и дифференцировку различных гемопоэтических клеток (М.С. Ломакин, Г.М. Бочко, 1987). Выявлено, что IL-3 в соответствующих системах усиливает рост гранулоцитарно-макрофагальных, эритроидных и мегакарио-

цитарных колоний, хотя для каждого типа этих колоний описаны свои ростовые факторы – лимфокины.

IL-4 продуцируется в очень небольших концентрациях клоном Т-хелперов, стимулированных антигеном через рецепторы МНС. IL-4 состоит из 140 аминокислот и имеет молекулярную массу около 140 000. Он способствует экспрессии IL-2 чувствительных рецепторов на неактивированных Т-лимфоцитах, а также пролиферации и дифференцировке В-лимфоцитов. С его функцией связано формирование цитотоксических Т-лимфоцитов, а также НК-клеток. IL-4 влияет на рост клеток, его мишенью является рецептор для эритроцитов барана T11.

Имеются сведения о том, что цитокины продуцируются Th-клетками (Th1 и Th2). Цитокины типа 1 (ИЛ-2, ИЛ-12,  $\gamma$ -интерферон) нацелены на развитие Т-клеточных реакций; цитокины типа 2 (ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-10) содействуют дифференцировке В-лимфоцитов. Задерживая образование Th-клеток противоположной группы, Th1- и Th2-цитокины взаимно ослабляют развитие клеточных и гуморальных реакций. В известной мере это объясняет природу супрессорных эффектов внутри иммунной системы, проецируя их на регуляторные функции активированных Т-клеток (А.Н. Маянский, 2003).

В цитокинсинтезирующих функциях участвуют эритроидные ядросодержащие клетки (ЯК). Установлены экспрессия мРНК IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, ТРФ- $\beta$ , INF- $\gamma$ , IL-2, L1-34, ГМ-КСФ и продукция IFN- $\gamma$ , ГМ-КСФ эритрокариоцитами селезенки и костного мозга мышей после эритропоэзвозмущающих воздействий (S.V. Sennikov et al., 1996; 2001). До настоящего времени цитокинсинтезирующая функция эритроцитарных клеток у человека остается малоизученной. Имеются единичные работы, в которых показана продукция IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, ТРФ- $\beta$ , IL-2, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-10 и VEGF эритроидными клетками эмбриональной печени, костного мозга человека и клетками линии эритролейкемии K562 (S.V. Sennikov et al., 2001; S.M. Jacobs-Helber et al., 2003).

Между эритропоэзом и иммуногенезом существуют тесные взаимоотношения. Существуют три объяснения этого феномена:

- 1) иммунодепрессия на фоне повышенной активности эритроцитоза является следствием конкуренции между двумя взаимосвязанными направлениями дифференцировки предшественников стволовых кроветворных клеток;

2) селезенка у мышей – орган активного гемопоэза и иммуногенеза; эти процессы протекают одновременно, т.е. происходит конкуренция этих двух ростков кроветворения в условиях территориально-пространственных ограничений;

3) элементы различных дифферонов активно взаимодействуют в процессе созревания. Клетки эритроидного ряда обладают способностью изменять функциональную активность иммунокомпетентных клеток (И.Г. Цырлова, В.В. Чеглякова, 1985).

Подавление иммуногенеза при гипоксии связано не только с конкурентными отношениями между эритропоэзом и иммуногенезом, но и активным иммуносупрессорным действием предположительно незрелых эритроидных форм на ранние этапы индукции гуморального иммунного ответа, а также зрелых эритроцитов и частично их предшественников – на продуктивную фазу антителогенеза. Это подтверждено результатами экспериментов по коррелированию накопления эритробластов, в селезенке мышей, получавших эритропоэтин, с иммунодепрессивным эффектом спленоцитов (A.J.L. Macario et al., 1980). Установлена зависимость ранних этапов формирования гуморального иммунного ответа от незрелых эритроидных форм.

Важную роль в реализации реакции клеточного иммунитета играют медиаторы, обеспечивающие локализацию клеток вблизи чужеродной субстанции, факторы, усиливающие или подавляющие физиологическую активность клеток. К первой группе относится фактор, угнетающий миграцию макрофагов или лимфоцитов, агглютинирующий макрофаги, хемотоксические факторы (табл. 13).

*Таблица 13*

**Основные гормоны и медиаторы иммунной системы**

(Р.В. Петров, 1987)

Наименование	Функциональная активность	Условия выработки	Химическая природа и Mr
1	2	3	4
Гормональные факторы тимуса	Обеспечивают дифференцировку предшественников Т-клеток в зрелые Т-лимфоциты. Влияют на уровень цГМФ и цАМФ	Вырабатываются эпителиальными клетками тимуса, не требуя антигенной стимуляции	Полипептиды от 1000 до 17000

1	2	3	4
<i>Факторы, усиливающие функциональную активность</i>			
Фактор переноса	Переносит состояние сенсibilизации на интактные лимфоциты	Вырабатывается сенсibilизированными Т-лимфоцитами под влиянием специфических антигенов	Нуклеотиды с пептидной цепью 10000
Фактор, активирующий макрофаги	Повышает метаболическую активность макрофагов, усиливает фагоцитоз	Вырабатывается сенсibilизированными Т-лимфоцитами под влиянием специфических антигенов	Белок 50000–80000
Фактор, содействующий росту Т-лимфоцитов и НК-клеток	Содействует культивированию Т-лимфоцитов и НК-клеток	Вырабатывается селезеночными Т-клетками под влиянием конканвалина А- и Т-гибридомой	Белок 40000
Митогенный (бластогенный) фактор	Повышает пролиферативную активность лимфоцитов, вызывает их бластотрансформацию	Вырабатывается Т-лимфоцитами под влиянием антигенов, митогенов и в микст-культуре лимфоцитов	Белок 20000-30000
Колониестимулирующий фактор	Усиливает рост гранулоцитарных колоний	Вырабатывается Т-лимфоцитами под влиянием митогенов и макрофагов	Гликопротеид 30000

1	2	3	4
Интерферон	Усиливает развитие и функцию NK- и Т-киллеров, регулирует силу иммунного ответа	Вырабатывается сенсibilизированными Т-лимфоцитами под влиянием антигена в присутствии макрофагов, а также другими клетками под влиянием вирусов, антигенов, нуклеиновых кислот	Белок 18000-100000
<i>Факторы, обеспечивающие локализацию клеток</i>			
Фактор, угнетающий миграцию макрофагов и лейкоцитов	Тормозит миграцию макрофагов и полиморфноядерных нейтрофилов	Вырабатывается сенсibilизированными Т-лимфоцитами под влиянием специфического антигена	Белок 12000-80000
Фактор, агглютинирующий макрофаги	Склеивает макрофаги	Вырабатывается сенсibilизированными Т-лимфоцитами под влиянием специфического антигена	Гликопротеид 70000
Фактор хемотоксина макрофагов и лейкоцитов	Вызывает хемотаксис	Вырабатывается лимфоцитами под влиянием антигенов или митогенов	Полипептиды и белки 1500-150000
Факторы кожной реактивности	При внутрикожном введении вызывают воспаление, мононуклеарную инфильтрацию	Вырабатываются сенсibilизированными Т-лимфоцитами под влиянием антигена, а также при митогенной стимуляции	Природа не выяснена

1	2	3	4
<i>Факторы, подавляющие функциональную активность клеток</i>			
Лимфотоксины	Опосредуют кил- лерную активность Т-лимфоцитов, вы- зывают лизис кле- ток-мишеней	Вырабатываются Т-лимфоцитами под влиянием ан- тигена, митоген- нов и микст- культуры	Комплексные молекулы, со- держащие белки 100000- 150000
Фактор, угне- тающий про- лиферацию клеток и рост колоний	Подавляет рост ко- лоний гемопоэтиче- ских и других кле- ток, угнетает раз- множение клеток	Вырабатывается лимфоцитами и макрофагами под влиянием антиге- нов и митогенов	Полипептиды 10000-100000
Факторы, по- давляющие синтез ДНК	Ингибируют синтез ДНК в различных клетках	Вырабатываются лимфоцитами и макрофагами под влиянием антиге- нов и митогенов	Гликопротеид 80000
<i>Гуморальные факторы макрофагов (монокины)</i>			
Фактор, подав- ляющий синтез ДНК	Повышает пролифе- ративную активность тимоцитов, содейст- вует созреванию Т-лимфоцитов	Вырабатывается макрофагами под влиянием митоген- нов и активирован- ных лимфоцитов	Природа не установлена 13000-85000
Факторы, спо- собствующие иммунному от- вету	Заменяют макрофаги при индукции антите- логенеза, способст- вующие появлению Т-помощников	Вырабатываются макрофагами в присутствии сти- мулированных лимфоцитов	Гликопроте- иды 150000- 55000
Факторы, по- давляющие им- мунный ответ	Подавляют гумо- ральный и клеточ- ный ответы	Вырабатываются макрофагами под влиянием антигенов	Природа не установлена 1400
<i>Факторы Т-клеток, регулирующих антителогенез</i>			
Специфические факторы Т-помощников	Участвуют в вы- полнении функции Т-помощников при включении иммун- ного ответа	Вырабатываются под влиянием ан- тигена в присут- ствии макрофагов	Белок 60000

1	2	3	4
Неспецифический фактор Т-помощников	Участвует в выполнении функции Т-помощников	Вырабатывается под влиянием антигенов, митогенов, действует на клетку без участия макрофага	Белок 20000-60000
Специфический фактор Т-супрессоров	Участвует в выполнении функции Т-супрессоров, подавляет развитие иммунного ответа	Вырабатывается под влиянием антигенов	Белок 70000
Неспецифический фактор Т-супрессоров	Участвует в выполнении функции Т-супрессоров	Вырабатывается под влиянием антигенов и митогенов	Гликопротеид 48000-67000
<i>Гуморальные факторы костного мозга</i>			
Стимулятор антителопродукторов	Усиливает продукцию антител на пике иммунного ответа	Вырабатывается клетками костного мозга, не требуя антигенной стимуляции	Рибонуклеопротеид 13000
Фактор, супрессирующий антителогенез	Подавляет индукцию иммунного ответа	Вырабатывается В-клетками при контакте с интенсивно пролиферирующими клетками	Природа не установлена 1000-10000

**3.3.3.4. Медиаторы иммунного ответа.** Основные медиаторы иммунной системы – цитокины – разнообразные биологически активные молекулы, секретируемые клетками «с целью» воздействия через специфические рецепторы для каждого из цитокинов на рядом расположенную клетку (Р.М. Хаитов и соавт., 2000). В отличие от гормонов внутренней секреции в норме цитокины практически не попадают в системную циркуляцию и действуют локально в тканях в месте их выработки.

Цитокины выступают главными посредниками в межклеточном общении. Одноименные цитокины продуцируются клетками разной тканевой дифференцировки. Рецепторы для одноименных цитокинов экспрессированы на клетках различной тканевой дифференцировки.

Эффекты цитокинов подразделяют на аутокринные (на саму клетку, секретировавшую цитокин), паракринные (на рядом расположенные клетки), эндокринные (дистантные или системные), при этом цитокин достигает клетки-мишени, циркулируя с кровью.

Цитокины синтезируются импульсно, не депонируются в клетках. Они вырабатываются вскоре после получения «запроса» на их продукцию и недолго, что связано с короткоживущей мРНК цитокинов.

Цитокиновый каскад реализуется по типу «передай другому».

Основные функциональные группы цитокинов (Р.М. Хаитов и соавт., 2000):

- медиаторы доиммунного воспаления – продуцируются клетками покровных тканей (тканевые макрофаги) в ответ на прямое раздражение микробными продуктами (TNF- $\alpha$ , IFN- $\alpha$  и IFN- $\beta$ , IL-1, 6 и 12, хемокины);
- регуляторы активации, пролиферации и дифференцировки лимфоцитов – продуцируются лимфоцитами (IL-4, 13 и 2, TGF- $\beta$ );
- регуляторы иммунного воспаления – продуцируются зрелыми иммунными Т-лимфоцитами, посредством которых они «нанимают» лейкоциты общего воспалительного назначения на деструкцию распознанного лимфоцитами антигена (IFN- $\gamma$ , LT (активатор нейтрофилов), IL-5, 9, 10, 12);
- факторы роста клеток – предшественников гемопоэза – продуцируются клетками стромы костного мозга, активированными лимфоцитами и макрофагами (IL-3, 7, 11, GM-CSF (гранулоцит-моноцит-колониестимулирующий фактор), M-CSF (фактор роста моноцитов/макрофагов); SCF (stem-cell growth factor) основной фактор роста для тучных клеток).

Данные о биологических эффектах цитокинов представлены в табл. 14.



**Биологические эффекты цитокинов**  
(И.В. Меньшиков, Л.В. Бедулев, 2001)

Название цитокина	Клетки-продуценты	Биологические эффекты
1	2	3
IL-1	Макрофаг, моноцит	Повышает температуру тела, стимулирует и активирует стволовые клетки, лимфоциты, нейтрофилы. На пике иммунного ответа усиливает продукцию АКТГ, запускает ограничение иммунного ответа эндокринной системой.
IL-2	Активированные Th1	Стимулирует пролиферацию и дифференцировку Т- и В-лимфоцитов. Препятствует IL-4-зависимому синтезу Ig E.
IL-3	Th2, базофилы, тучные клетки	Стимулирует рост и дифференцировку тучных клеток, базофилов.
IL-4 (BSF-1)	Активированные Th2, базофилы, тучные клетки	Первый фактор роста В-лимфоцитов. Вызывает их активацию, пролиферацию, дифференцировку, переключение В-лимфоцитов на синтез Ig E. Является ростовым фактором для Th2, базофилов.
IL-5	Активированные Th2, базофилы, тучные клетки	Стимулирует созревание эозинофилов, базофилов, их хемотаксис. Усиливает индуцированный IL-44, синтез IgE. Активирует в В-клетке переключение с IgM на IgA, IgG <sub>2</sub> .
IL-6	Th2, макрофаги	Тормозит пролиферацию В-лимфоцитов и вызывает их превращение в плазматические клетки.
IL-7	Стромальные клетки костного мозга, тимуса, селезенки	Основной лимфопоэтин В-клеток, вовлеченный в процесс роста и дифференцировки про- и пре-В-клеток. Активирует пролиферацию и дифференцировку Т-клеток.
IL-8	Т-лимфоциты, моноциты, эндотелий	Активирует миграцию, адгезию, Т-лимфоцитов, нейтрофилов, дегрануляцию базофилов.
IL-9	Th	Активирует Th, является фактором роста тучных клеток.

1	2	3
IL-10 (CSIF)	Моноциты, Th2, В-лимфоциты, макрофаги, тучные клетки	Подавляет образование IL-11, IL-2 макрофагами и Th1, определяет развитие иммунного ответа по гуморальному типу. Подавляет образование IL-6, ФНО. Усиливает синтез IgE, IgM.
IL-11	Стромальные клетки костного мозга	Сходны с IL-6. Стимулирует гемопоэз, образование колоний мегакариоцитов.
IL-12	Макрофаги, дендритные клетки, В-лимфоциты	Посредник между макрофагами и лимфоцитами. Вызывает пролиферацию активированных Т-лимфоцитов и естественных киллеров, усиливает действие IL-2, стимулирует Th1 и продукцию $\gamma$ -интерферона, ингибирует синтез Ig E.
IL-13	Th2	Активирует дифференцировку моноцитов и их миграцию. Имитирует эффект ИЛ4 на синтез IgE. Является фактором роста В-лимфоцитов.
IL-14		Стимулирует рост и дифференцировку В-клеток.
IL-15	Макрофаги	Активирует пролиферацию Th1 и Т-клеток и дифференцировку их в киллеры; активирует натуральные киллеры.
IL-16	CD8 <sup>+</sup> - клетки	Хемоаттрактант для CD4 <sup>+</sup> -клеток. Повышает адгезивность этих клеток, усиливает экспрессию CD25.
ФНО $\alpha$	Макрофаги, моноциты, Th1	Стимулирует воспалительный процесс, синтез белков острой фазы, повреждает клетки.
$\gamma$ ИФ	ЦТК, Th1, НК	Ингибирует Th2, участвует в выборе формы иммунного ответа по клеточному типу. Подавляет IL-4-зависимый синтез IgE. Стимулирует синтез Т-хелперами Ig E-связывающего фактора (рецепторы к Fc-фрагменту IgE). Стимулирует макрофаги (презентацию ими антигена, синтез цитокинов, генерацию активных форм кислорода).

По структуре рецепторы для цитокинов делят на 3 семейства: рецепторы для гематопоезинов представляют собой гетеродимерные молекулы ( $\beta$ - и  $\gamma$ -цепи рецептора для IL-2; 3, 4, 5, 6, 7,

9 и 15; рецептор для GM-CSF; рецептор для эритропоэтина; рецептор для гормона роста); рецепторы для фактора некроза опухоли (TNFR) представляют собой одну трансмембранную полипептидную цепь (TNFR-I и II, молекулу CD40, Fas (CD95), CD30 и CD27, рецептор для фактора роста нервов); рецепторы для хемокинов представляют собой трансмембранную 7-слойную «гармошку» (IL-8, MIP-1, MCP-1 и NAP-2).

На интенсивность иммунного ответа оказывает влияние нервная система. Раздражение (таламуса и гипоталамуса) может сопровождаться как усилением, так и угнетением иммунной реакции на введение АГ. Вероятно, влияние межоточного мозга на напряженность иммунитета осуществляется через вегетативную нервную систему. Установлено, что возбуждение симпатического отдела ВНС, как и введение адреналина, усиливает фагоцитоз и интенсивность иммунного ответа. Противоположные реакции наблюдаются при повышении тонуса парасимпатического отдела ЦНС. В последние годы показано влияние на иммунитет эпифиза и гипофиза. Так, аденогипофиз является регулятором преимущественно клеточного, а нейрогипофиз – гуморального иммунитета. Эффекты гипофиза реализуются через продукцию особых пептидных биостимуляторов – цитомединов, контролирующих функцию тимуса. Стресс угнетает иммунитет; повышается восприимчивость к различным заболеваниям и создаются предпосылки для развития злокачественных новообразований. В последнее время установлено активное вмешательство иммунокомпетентных клеток в морфогенез и регуляцию течения физиологических функций. Так, Т-лимфоциты играют важную роль в регенерации тканей; макрофаги и Т-лимфоциты осуществляют «хелперную» и «супрессорную» функции в отношении эритропоэза и лейкопоэза; лимфокины и монокины, продуцируемые лимфоцитами, моноцитами и макрофагами, способны активно влиять на ЦНС, сердечно-сосудистую, дыхательную и пищеварительную системы, воздействовать на сократительную функцию гладкой и поперечнополосатой мускулатуры. Особая роль в регуляции физиологических функций принадлежит интерлейкинам. Их образно называют «семьей молекул на все случаи жизни» – так велико их «вмешательство» во все физиологические процессы, протекающие в организме. Выработывая аутоантитела, связывающие активные ферменты, факторы свертывания крови и избыток гор-

монов, иммунная система выполняет функцию регулятора гомеостаза. Активное регулирующее влияние иммунной системы на физиологические функции позволило ученым выделить иммунологическую регуляцию как самостоятельную, в дополнение к нервной и гуморальной. Большинство исследователей предлагают именовать иммунологическую регуляцию клеточно-гуморальной. Иммунологическая регуляция является неотъемлемой частью гуморальной, но особенностью биологически активных веществ, продуцированных иммунокомпетентными клетками. Например, лимфоциты и моноциты, участвующие в иммунном ответе, отдают гуморальный посредник непосредственно органу-мишени. Особую роль в клеточно-гуморальной регуляции играют популяции Т-лимфоцитов, осуществляющих «хелперные» и «супрессорные» функции по отношению к различным физиологическим процессам.

### **3.3.4. Эффекторные механизмы иммунитета**

Эффекторные механизмы иммунитета состоят в том, что распознавшие антиген рецепторы – TCR на поверхности Т-лимфоцитов и/или иммуноглобулины в растворе подводят связанный антиген к таким клеткам или ферментам, которые предназначены для расщепления, окисления антигена до мелких метаболитов. В соответствии с 2 типами антигенсвязывающих рецепторов существуют 2 типа эффекторных механизмов: антигензависимые (гуморальный иммунитет) и Т-лимфоцитзависимые (клеточный иммунитет).

Антигензависимых механизмов выделяют шесть:

- 1) нейтрализация антителами патогенных свойств антигена;
- 2) элиминация и деструкция комплексов антиген – антитело фагоцитами;
- 3) деструкция комплексов антиген – антитело активированной системой комплемента;
- 4) антигензависимая клеточная цитотоксичность НК и эозинофилов;
- 5) сосудистые и гладкомышечные реакции, инициируемые комплексом антиген – антитело с привлечением тучных клеток и базофилов (гиперчувствительность немедленного типа ГНТ);
- 6) реликтовые свойства антител (собственная протеазная и нуклеазная активность антител).

Комплексы антиген – антитело должны расщепляться до мелких метаболитов. Для этого антитела в составе комплексов антиген – антитело фиксируют компоненты комплемента и активируют его. Комплексы антиген – антитело – компоненты комплемента фиксируются на эритроцитах рецепторами для компонентов комплемента, и эритроциты уносят их в синусоиды селезенки и печени, где их фагоцитируют и расщепляют макрофаги. Кроме того, комплексы с антителами IgG1 и IgG3 через рецептор FcγRII на макрофагах и нейтрофилах будут связаны и фагоцитированы (расщеплены) до мелких метаболитов.

К Т-лимфоцитзависимым эффекторным механизмам иммунитета относят три:

1) убийство клеток-мишеней цитотоксическими CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитами;

2) иммунное воспаление тканей, называемое гиперчувствительностью замедленного типа (ГЗТ), которое организуют CD4<sup>+</sup> Т-лимфоциты (субпопуляции Th1), а клетками-исполнителями являются активированные макрофаги;

3) иммунное воспаление тканей, вызываемое токсичными продуктами эозинофилов, активированных лимфоцитами Th2 (II-5). Такое воспаление характерно для аллергических заболеваний, встречается при отторжении трансплантатов чужеродных органов.

Изучение реакций повышенной чувствительности (гиперчувствительности) – предмет аллергологии. Впервые одна из реакций гиперчувствительности была описана Ш. Рише и П. Портье (1902) у собак. Все реакции гиперчувствительности (аллергии), обусловленные антителами, распадаются на два основных типа: анафилаксии, развивающиеся при попадании антигена у всех особей, и реакции атопии, которые проявляются только у некоторых индивидов, имеющих соответствующую предрасположенность. Среди атопий различают аллергическую астму, аллергические рениты, атопические дерматиты (экземы).

**3.3.4.1. Аллергия. Развитие аллергической реакции.** Аллергия (от греч. allos – иной, ergos – действую) – иммунная реакция организма на какие-либо вещества антигенной или гаптенной природы, сопровождающаяся повреждением структуры и функции клеток, тканей и органов. Под аллергией понимают специфически извращенную реактивность организма, возникающую в результате предшествовавшего контакта с чужеродным агентом (аллергеном). Аллергены – вещества белковой или небелковой

природы, способные вызвать состояние сенсibilизации. Аллергической реакцией называют ответ сенсibilизированного организма на повторное введение данного аллергена. Аллергены разделяют на экзогенные, то есть попадающие в организм извне, и эндогенные, возникающие в организме под влиянием повреждающих факторов или при комплексации собственных тканей с неантигенными чужеродными веществами.

Среди экзогенных веществ выделяют: 1) инфекционные аллергены – могут вызвать аллергические реакции замедленного и немедленного типа (бактериальные, вирусные, грибковые); 2) неинфекционные аллергены: аллергены растительного происхождения (вызванные пылью), аллергены животного происхождения (клетки различных тканей), пылевые аллергены, лекарственные аллергены (антибиотики), пищевые аллергены (молоко, яйца, мед).

По химической структуре аллергены могут быть белками, белково-полисахаридными комплексами (сывороточные, тканевые, бактериальные аллергены), полисахаридами или их соединениями с липоидами (аллерген домашней пыли, бактериальные аллергены).

Различают несколько классов аллергенов:

– бытовые (неорганические и органические вещества микробного, растительного и животного происхождения; домашняя пыль, шерсть и перхоть домашних животных, пух домашних птиц и др.);

– грибковые (микроаллергены: кандиды, трихофиты, эпидермофиты, актиномицеты);

– животного происхождения (эпидермальные, яды перепончатокрылых, клещи, корм для рыб);

– лекарственные (вакцины, сыворотки, инсулин, препараты мышьяка, йода, ртути, витамины, антибиотики);

– микробные (возбудители туберкулеза, вирусы кори, гриппа, герпеса);

– пищевые (коровье молоко, белки куриных яиц, мясо, рыба, ракообразные, цитрусовые, кофе, мед);

– растительные (пыльца, сок растений).

В 1930 г. Сооке предложил выделять аллергические реакции немедленного типа и замедленного. Аллергия немедленного типа обусловлена антителами, циркулирующими в крови или фиксированными на клеточных элементах. Особенность аллергических

реакций немедленного типа – быстрота развития их после взаимодействия с аллергеном и повреждение тканей комплексом аллерген – антитело или вторичными продуктами этой реакции с высвобождением биологически активных веществ. Аллергические реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) связаны с сенсibilизированными лимфоцитами – основными иммунокомпетентными клетками. Деление аллергических реакций на 2 типа условно, так как в организме возникают оба вида гиперчувствительности с преобладанием какого-либо.

В 1962 г. Gell и Coombs предложили иную классификацию, включающую 4 типа аллергических реакций по характеру тканевого повреждения:

1. Анафилактические и атопические реакции. В этом случае реакция между антителом и аллергеном (без участия компонента), происходящая на поверхности клеток (базофилов крови или тканевых макрофагах), ведет к их дегрануляции и высвобождению медиаторов (гистамина, серотонина), уровень которых в крови резко повышается. В зависимости от распространенности реакции этого типа могут быть подразделены на генерализованные (анафилактический шок, лихорадочные состояния) и локализованные (бронхиальная астма, крапивница, атопический дерматит).

2. Цитологические или цитотоксические реакции, при которых антитела, циркулирующие в крови, соединяются с антигеном или гаптеном, фиксированным на клетке. Участие компонента в этих реакциях ведет к лизису клеток. Примером могут быть реакции при переливаниях крови (резус-несовместимость), аутоиммунные заболевания (гемолитические анемии), некоторые лекарственные аллергии, когда комплекс гаптен – лекарственный препарат фиксируется на клетках крови и вызывает осложнения типа анемии, лейкопении, тромбоцитопении.

3. Тканевые повреждения, вызванные комплексом, образованным антигеном с преципитирующими антигенами. Эти комплексы оседают вокруг кровеносных сосудов мелкого калибра, повреждают их эндотелий, вызывая местные тромбозы. При избытке антигена могут образовываться растворимые комплексы, обуславливающие токсическое поражение сосудистой стенки. Этот вид реакции наблюдается при введении сывороточных аллергенов или лекарственных аллергенов (например, сывороточная болезнь, феномен Артюса).

4. ГЗТ характеризуется развитием клеточного воспалительного инфильтрата через 10-12 ч после введения аллергена. Этот вид развития при инфекционных заболеваниях, воздействии растительных, промышленных и лекарственных аллергенов. Пример, туберкулиновая аллергия, контактный дерматит. При ГЗТ главную роль играют сенсibilизированные Т-лимфоциты, которые получают информацию об аллергене от макрофагов. Сенсibilизированные Т-лимфоциты вовлекают в очаг аллергической реакции новое количество Т-лимфоцитов, выделяют вещества, притягивающие макрофаги, осуществляют распознавание специфических детерминант аллергена, конъюгированного с собственными белками организма, выполняют функцию киллеров по отношению к клеткам-мишеням. Антитела в развитии аллергии замедленного типа существенной роли не играют. Она формируется в основном лимфоцитами, но благодаря лимфокинам в реакцию включаются и другие клеточные элементы – макрофаги, моноциты, эозинофилы и т.д.

Предложенная классификация также условна, так как все типы тканевых повреждений могут возникать одновременно или следовать друг за другом.

А.Д. Адо (цит. по: Патологическая физиология, 1994) предлагает выделять истинные и ложные аллергические реакции. К ложным автор относит те реакции, которые по внешним признакам напоминают аллергический шок, феномен Артюса, однако по механизмам не связаны с реакцией антиген – антитело. К истинным аллергическим реакциям отнесены реакции, в основе которых лежит специфическая иммунная реакция между аллергеном и антителами (химерические реакции) или сенсibilизированными лимфоцитами (китергические реакции). Нет четкой зависимости между видом аллергии и характером аллергической реакции.

Аллергия сформировалась как одна из форм защиты организма против определенных видов антигенов, отличающихся особенностью вызывать реакции клеточного типа и продукцией особого вида антител. Отличительной особенностью аллергических реакций является высокая скорость развития.

Развитие аллергического заболевания во многом определяется особенностями реактивности организма. Аллергическая реактивность в значительной мере обусловлена наследственными



особенностями организма. Так, в родословных больных бронхиальной астмой (наиболее тяжелое аллергическое заболевание) наследственное предрасположение к аллергии составляет более 50%. Переходу от предрасположенности к аллергическому заболеванию способствуют ухудшение экологической обстановки, широкая обязательная вакцинация населения, применение сывороток в лечебных целях, увеличение потребления лекарственных средств, появление новых химических материалов, снижение реактивности организма. Аллергические реакции, с позиции целесообразности, можно рассматривать как защитные для организма, способствующие его освобождению от чужеродных веществ, обеспечивая, таким образом, антигенный гомеостаз. Например, в результате аллергической воспалительной реакции при туберкулезе, создается барьер, препятствующий распространению туберкулезной палочки по лимфатическим путям и развитию туберкулезного воспаления.

В зависимости от механизма иммунной реакции (П. Джелл, Р. Кумбус (1969) выделяют четыре основных типа аллергических реакций (цит. по: Патологическая физиология, 1994). I тип включает аллергические реакции немедленного типа двух подвидов: региональный, связанный с выработкой антител Ig E - класса и лежащий в основе атопических заболеваний, и анафилактический, обусловленный в основном Ig G-антителами и наблюдающийся при анафилактическом шоке. II тип – цитотоксический, связан с образованием Ig G- (кроме Ig G) и Ig M-антител к детерминантам, имеющимся на собственных клетках. По этому типу протекают некоторые гематологические, например, аутоиммунная гемолитическая анемия, заболевания. III тип – иммунореактивный – связан с образованием комплексов аллергенов и аутоаллергенов с Ig G- и Ig M-антителами и с повреждающим действием этих комплексов на ткани организма. По этому типу реакции развиваются сывороточная болезнь, анафилактический шок и др. IV тип – клеточно-опосредованный или гиперчувствительность замедленного типа, связан с образованием сенсibilизированных лимфоцитов. По этому типу развиваются, например, реакции отторжения трансплантата.

В развитии аллергической реакции выделяют три стадии.

I. Иммунологическая (стадия иммунных реакций). Начинается с первого контакта организма с аллергеном и заключается в

образовании и накоплении в организме специфических антител и sensibilizированных лимфоцитов. В результате организм становится sensibilizированным, или повышенно чувствительным к специфическому аллергену. При повторном его попадании в организм происходит образование иммунных комплексов АГ-АТ (Ig M, Ig G , Ig G), которые обуславливают следующую стадию аллергической реакции.

II. Патохимическая (стадия биохимических реакций). Заключается в выделении готовых и образовании новых биологически активных веществ (медиаторов аллергии).

III. Патофизиологическая. Представляет ответную реакцию клеток, органов, тканей организма на медиаторы аллергии.

Аллергическая реакция I типа (региональный подвид) запускается введением антигена (1-й сигнал), который активирует макрофаги и секрецию в них факторов (интерферона, интерлейкина), стимулирующих синтез Т-лимфоцитами Ig E-связывающего фактора (Ig E-СФ). Клетками-мишенями для Ig E-СФ служат В-лимфоциты. Они начинают интенсивно секретировать антитела класса Ig E, которые фиксируются преимущественно на базофилах крови и тучных клетках (клетки-мишени I порядка), а также на макрофагах, моноцитах, эозинофилах, тромбоцитах и лимфоцитах (клетки-мишени II порядка). Повторная встреча организма с этим аллергеном приводит к образованию комплекса АГ-АТ, вызывающего нарушения структуры мембран клеток-мишеней (базофилов и тучных клеток), активацию, секрецию и выведение ими медиаторов: гистамина (повышает проницаемость сосудов); факторов хемотаксиса эозинофилов и нейтрофилов (вызывают хемотаксис эозинофилов и нейтрофилов); гепарина (обладает антикомплементарной активностью); простогландинов (D, F, E – вызывают сокращение и повышение проницаемости гладкой мускулатуры сосудов, стимуляцию (F) и торможение высвобождения медиаторов тучными клетками (E)); серотонина (повышает проницаемость сосудов, спазм сосудов почек, сердца, мозга, легких и расширяет сосуды скелетных мышц); брадикинина и лейкокинина (повышают проницаемость сосудов, расширяют артериолы и прекапилляры, стимулируют хемотаксис нейтрофилов, моноцитов, эозинофилов) и др.

Под влиянием тучных клеток и базофилов активируются нейтрофилы и эозинофилы, которые начинают секретировать

биологически активные вещества и ферменты. Часть из них является медиаторами повреждения (лейкотреины), другая часть – ферментами, разрушающими некоторые медиаторы повреждения (гистаминаза, фосфолипаза и др.). Образующиеся простагландины группы E снижают высвобождение медиаторов из тучных клеток и базофилов и таким образом контролируют процесс по механизму саморегуляции. Повышение проницаемости микроциркуляторного русла под влиянием медиаторов аллергии сопровождается выходом жидкости из сосудистого русла, развитием отека и серьезного воспаления. При локализации процессов на слизистых оболочках возникает гиперсекреция. В органах дыхания возникает бронхоспазм, одновременно развивается отек стенки бронхиол и гиперсекреция мокроты, что обуславливает резкое затруднение дыхания. Клинически эти эффекты проявляются в виде приступов бронхиальной астмы, ренита, конъюнктивита, крапивницы (волдырь + гиперемия), кожного зуда, местного отека и др. Стадия патофизиологических проявлений завершается удалением повреждающего начала – аллергена. Антитела и комплемент обеспечивают инактивацию и удаление аллергена; кроме того, ферменты, выделяемые эозинофилами, разрушают медиаторы аллергической реакции.

Особенностью аллергической реакции второго типа является повреждение клеток и даже лизис (цитолитическое действие) под влиянием антител. Причина цитотоксических реакций – приобретение клетками аутоаллергенных свойств при действии химических, чаще лекарственных, веществ, попадающих в организм. Повреждающее действие на клетку могут оказывать лизосомальные ферменты фагоцитирующих клеток, бактериальные энзимы, вирусы. Поэтому многие бактериальные, паразитарные и вирусные инфекции сопровождаются образованием аутоантител к различным клеткам тканей и развитием гемолитической анемии, тромбоцитопении и др.

Повреждения при аллергических реакциях III типа (реакции иммунных комплексов) вызываются иммунными комплексами АГ-АТ (Ig G и Ig M-классов), которые образуются в организме вследствие постоянного контакта человека с каким-либо антигеном. В отличие от защитной иммунной реакции, не сопровождающейся повреждением тканей, при определенных условиях комплекс АГ – АТ может вызывать повреждение и развитие за-

болеваний. Иммунные комплексы могут образовываться местно, в тканях либо в кровотоке, в зависимости от путей поступления или места образования антигенов (аллергенов). Причиной иммунокомплексных заболеваний являются экзо- и эндоантигены и аллергены. Среди них – лекарственные препараты (пенициллин, сульфаниламиды), антитоксические сыворотки, пищевые продукты (молоко, яичные белки и др.), бактериальные и вирусные антигены, ингаляционные аллергены (домашняя пыль, грибы и др.), ДНК и т.д. Под влиянием иммунных комплексов и в процессе их удаления образуются медиаторы, основная роль которых заключается в обеспечении условий, способствующих фагоцитозу комплекса и его перевариванию. Основными медиаторами являются:

- комплемент, компоненты и субкомпоненты которого оказывают цитотоксическое действие;
- лизосомальные ферменты, освобождающиеся при фагоцитозе и усиливающие повреждение базальных мембран, соединительных тканей и т.д.;
- кинины – брадикинин, гистамин, серотонин и др.

Действие всех перечисленных медиаторов проявляется в усилении протеолиза. Медиаторы вызывают реакцию воспаления с алитерацией, экссудацией и пролиферацией.

Третий тип аллергической реакции – ведущий в развитии сывороточной болезни, некоторых случаев лекарственной и пищевой аллергии, аутоиммунных заболеваний (ревматоидный артрит) и др.

Аллергические реакции IV типа опосредуются Т-лимфоцитами и направлены на распознавание и ограничение действия аллергена. Гиперчувствительность IV замедленного типа лежит в основе многих аллергических и инфекционных заболеваний, отторжения трансплантата, контактного дерматита, противоопухолевого иммунитета. Типичное ее проявление – туберкулиновая реакция, которая в клинической практике используется в виде реакции Манту. По механизму – это тип реакции клеточного иммунитета; осуществляется он сенсibilизированными лимфоцитами. Воспаление, составная часть гиперчувствительности замедленного типа, которое подключается в качестве защитного механизма к иммунной реакции и способствует фиксации, разрушению и элиминации аллергена.

Распространенными аллергическими заболеваниями человека являются бронхиальная астма, поллиноз (от лат. *pollen* – пыльца), сывороточная болезнь, крапивница, лекарственная аллергия, некоторые виды экземы, анафилактический шок.

**3.3.4.2. Анафилаксия – реакция гиперчувствительности немедленного типа.** Первичный контакт организмов с такими антигенами, как сывороточные белки другого вида животного, приводит к развитию сенсibilизации. Сенсibilизированные животные реагируют резкоповышенной чувствительностью к антигенам. Крайняя степень такой гиперчувствительности в виде анафилактического шока проявляется после внутривенного введения второй дозы антигена. Состояние сенсibilизации развивается при введении чрезвычайно малого количества чужеродных антигенов. Инъекция, создающая состояние гиперчувствительности, называется сенсibilизирующей. Реакция анафилаксии иммунологически специфична – шок вызывается только тем антигеном, к которому установилась сенсibilизация. Инъекция, сопровождающаяся развитием анафилактического шока, называется разрешающей. Состояние гиперчувствительности развивается через 7-14 дней после первичного введения антигена. Сохраняться это состояние может годы и месяцы.

Анафилаксия (от греч. *ana* – обратный, *phylaxis* – защита) – реакция повышенной чувствительности к чужеродному белку. Возникновение анафилактической реакции возможно только в сенсibilизированном организме. Причем доза антигена должна быть значительно выше той, которая вызвала сенсibilизацию. Одним из частных проявлений анафилаксии является анафилактический шок, в основе которого лежит реакция соединения введенного антигена с циркулирующими и тканевыми антителами. Внутри сосудов образуются флоккуляры (комплексы), повреждающие сосудистую стенку, ведущие к выделению гистамина, брадикинина, серотонина. Биологически активные вещества оказывают общее и местное влияние на организм. Так, гистамин расширяет капилляры, повышает проницаемость сосудов, вызывает раздражение сосудодвигательного центра, сокращение гладкой мускулатуры. Это способствует снижению кровяного давления, развитию отека тканей, удушью. Предупредить развитие анафилаксии можно введением антигистаминных веществ. У некоторых лиц анафилактические явления наблюдаются при первом контакте с антигеном вследствие незамеченных предшествовавших контактов с антигеном или сенсibilизацией аутоантигенами. Аутоантигены – вещества собственных нормальных тка-

ней, лишенных в эмбриональном периоде контакта с иммунокомпетентными клетками, – головного мозга, хрусталика, яичек, щитовидной железы, спермы, а также любая ткань организма, изменившая свои физико-химические свойства.

В 1907 г. А.М. Безредка обнаружил феномен десенсибилизации. Он состоит в том, что организм, перенесший анафилактический шок в тяжелой или легкой форме, на несколько дней утрачивает гиперчувствительность к данному антигену и следующее его введение не сопровождается анафилактическим шоком.

Механизм развития анафилактического шока: циркулирующие в крови антитела адсорбируются на клетках тела. Повторные введения антигена приводят к взаимодействию антигена с антителами на поверхности клеток. В результате высвобождается большое количество гистамина и других биологически активных веществ. Картина анафилактического шока складывается из общего и местного действия этих веществ. Если сенсibilизированному животному ввести соответствующий антиген не внутривенно, а подкожно, то развивается местная анафилаксия, или феномен Артюса. На месте инъекции через 30-60 мин развиваются отек и резкая гиперимия. В течение последующих нескольких часов отечность нарастает, воспалительный очаг уплотняется, кожа приобретает черно-красную окраску. При гистологическом исследовании обнаруживается острое экссудативно-геморрагическое воспаление. Основной клеточный инфильтрат – полиморфноядерные лейкоциты. При малой дозе антигена через несколько часов начинается обратное развитие процесса, при массивной дозе местные явления нарастают. В более поздние сроки очаг может подвергнуться некрозу с последующим рубцеванием.

Основной механизм анафилаксии – адсорбция антител на поверхности клеток и последующая реакция антигена с этими антителами, приводящая к высвобождению биологически активных веществ. Для реализации этого процесса необходимы два условия: 1) антитела должны обладать цитотильностью; 2) должны существовать специальные клетки, выбрасывающие такие вещества, под влиянием которых на поверхности клеток образуется комплекс антиген – антитело; 3) введенный в кровь антиген должен иметь возможность достичь поверхности этих клеток, т.е. в крови не должно быть такого большого количества антител, которое полностью нейтрализовало бы введенные антигенные молекулы.

Выраженной цитофильностью обладают иммуноглобулины класса E. Они вырабатываются при участии T-лимфоцитов-помощников. Гиперчувствительность немедленного типа не может быть вызвана тимуснезависимыми антигенами, так как IgE не вырабатываются, а именно с этими антителами связано развитие анафилаксии и других реакций гиперчувствительности немедленного типа у человека, собак, кроликов, мыши. Цитофильные свойства называют гомоцитотропностью, т.е. сродство к клеткам собственного вида, или гетероцитотропностью – сродством к клеткам другого вида животного.

Пассивный перенос реакции гиперчувствительности немедленного типа возможен на животных другого вида. На этом основан феномен обратной анафилаксии. Если морской свинке ввести  $\gamma$ -глобулины другого вида животного, то цитофильные молекулы адсорбируются на соответствующих клетках. Последующее введение антител (через 4-5 ч) против данного антигена вызывает анафилактическую реакцию. Обратная анафилаксия развивается, когда в качестве антигена используются чужеродные  $\gamma$ -глобулины.

Специальными клетками, выделяющими медиаторы данного типа гиперчувствительности, являются базофилы и тучные клетки, которые рассеяны в соединительной ткани фактически всех органов. Тучные клетки и базофилы активируются следующими сигналами:

- 1) гомотипной реакцией (комплексом IgE с антигеном);
- 2) активированными компонентами комплемента – анафилотоксинами C5a-C4a-C3a;
- 3) медиаторами, выделяемыми активированными нейтрофилами;
- 4) нейротрансмиттерами (норадреналин).

Реакция антиген – антитело на их поверхности ведет к разрушению клеток. Выделяются гистамин, гепарин, серотонин, брадикинин и липопротеидная субстанция (SRS-A). Действие гистамина на сосудистые, мышечные и секреторные клетки связано с наличием на их поверхности специальных рецепторов G1, G2. G1 представлен на клетках гладкой мускулатуры и кровеносных сосудов; G2 опосредует действие гистамина в отношении желудочной секреции и сердечного ритма. Вазоактивные эффекты гистамина состоят в следующем: эндотелиальные клетки претерпевают констрикцию, и плазма выходит из сосуда в ткани; гистамин стимулирует синтез в клетках эндотелия простаглицина и

радикала окиси азота, которые вызывают расслабление гладких мышц сосудистой стенки и, следовательно, вазодилатацию. Если процесс происходит в коже, то клинические симптомы связаны с появлением пузырей и покраснением (крапивница). При аллергической патологии симптомы снимают при помощи препаратов, блокирующих рецепторы Г1 для гистамина. Если гистамина выделяется слишком много, то он вызывает сокращение гладких мышц кишечника (перистальтику) и бронхов (бронхоспазм), но эти влияния кратковременные, так как гистамин быстро распадается во внеклеточной среде.

У морских свинок главным «шоковым» органом при анафилактики являются легкие, у человека – легкие, гортань и сосудистая система. Основными медиаторами служат гистамины и SRS-A. У мышей и крыс – «шоковые» органы: кишечник, сосуды, у кроликов – легочные артерии, у собак – печеночные вены. Определяющие медиаторы – гистамин и серотонин.

Антитела, обусловившие развитие аллергий много лет назад, когда еще не знали о существовании IgE, называли реагинами.

Впервые ГЗТ была описана в 1890 г. Р. Кохом у больных туберкулезом при подкожном введении туберкулина. Механизмы ГЗТ: 1) этот тип повышенной чувствительности не связан с циркулирующими в крови антителами; 2) ГЗТ не может быть перенесена другому животному пассивно (с помощью введения сыворотки от сенсibilизированного организма); 3) кожные реакции, выявляющие повышенную чувствительность при ГЗТ, не характеризуются немедленностью (они развиваются в течение многих часов – не ранее 6-8 ч, расцвет – через 24-48 ч); 4) местные проявления при ГЗТ и реакция немедленного типа различаются по гистологической картине. При ГЗТ реакция развивается в виде плотной инфильтрации, имеющей длительное течение, клеточную основу инфильтрата составляют мононуклеары – лимфоциты, моноциты, макрофаги. Мононуклеарная инфильтрация особенно резко выражена вокруг малых кровеносных сосудов. При ГЗТ характерно развитие лимфопении; 5) как и другие иммунологические реакции, ГЗТ характеризуется специфичностью.

Положительные кожные пробы возникают в ответ на введение тех антигенов, которыми был сенсibilизирован организм. При внутривенном введении причинного антигена развивается системная реакция ГЗТ. Для нее типичны лихорадки, моноцитоз



пения и различные кожные сыпи. Реакции ГЗТ, как защитная форма реагирования организма, обеспечивают клеточный антиинфекционный иммунитет, в отличие от гуморального, опосредуемого антителами. Реакции ГЗТ являются ведущим механизмом трансплантационного иммунитета, приводящего к отторжению чужеродных органов и тканей.

Рецепторы лимфоцитов-эффекторов способны комплементарно взаимодействовать с сенсибилизирующим антигеном. При взаимодействии с антигеном выделяются гуморальные факторы – медиаторы клеточного иммунитета. Одна из основных функций медиаторов – вовлечение макрофагов в процесс разрушения антигена, против которого сенсибилизированы лимфоциты. Для иммунной активации макрофага необходимы два воздействия на него со стороны лимфоцитов:

- 1) контактное – молекула CD40L на Th1-лимфоците вступает в связь с молекулой CD40 на макрофаге;
- 2) цитокиновое – IFN- $\gamma$ , продуцируемый Th1, CD8<sup>+</sup>, НК связывает рецептор на макрофаге.

Макрофаг, активированный взаимодействием с Th1, приобретает следующие признаки и функциональные способности:

- 1) на макрофаге увеличивается число иммунорецепторов Fc $\gamma$ R, которыми он связывает комплексы антиген – антитело и фагоцитирует их;

- 2) IFN- $\gamma$  в макрофагах индуцирует биосинтез ферментов, генерирующих радикалы активных форм кислорода, которые окисляют фагоцитированный антиген;

- 3) в макрофагах под воздействием IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  (фактор некроза опухолей) повышается активность NO-синтазы, продуцирующей радикал NO $\cdot$ , который окисляет фагоцитированный материал;

- 4) в макрофагах индуцируется синтез липидных медиаторов воспаления – PAF (фактор, активирующий тромбоциты), простагландинов и лейкотриенов;

- 5) макрофаг синтезирует тканевый фактор коагуляции, ускоряющий процесс коагуляции. В начавшемся процессе коагуляции активируется сывороточный тромбин – протеаза, которая стимулирует клетки эндотелия сосудов и нейтрофилы к синтезу PAF, что еще больше способствует прогрессированию воспаления;

6) IFN- $\gamma$  индуцирует синтез и экспрессию молекул МНС-II на макрофагах;

7) активированные макрофаги продуцируют свои цитокины и среди них факторы роста, которые изменяют состояние прилегающих к очагу тканей. В защитном режиме возникает очаг воспаления по типу ГЗТ, а в патологическом режиме цитокины из активированных макрофагов вызывают фиброзное перерождение тканей в результате пролиферации фибробластов и повышенной продукции ими коллагенов. Пролиферацию фибробластов стимулирует вырабатываемый макрофагами тромбоцитарный фактор роста, а синтез коллагена – вырабатываемый макрофагами трансформирующий фактор роста. Кроме того, факторы роста, вырабатываемые макрофагами, вызывают миграцию и пролиферацию клеток эндотелия, что приводит к образованию дополнительных кровеносных сосудов – к ангиогенезу. Если такой воспалительный процесс затягивается и распространяется, то наступает замещение функциональной паренхимы органа на фиброзную ткань, т.е. фиброз;

8) активированные макрофаги отличаются большими размерами, содержат повышенное количество лизосом, имеют усиленную фагоцитарную и микробицидную активность. Повышенная активность этих макрофагов неспецифична, она распространяется не только на агент, вызывающий реакцию, но и на другие агенты микробного или иного происхождения;

9) существуют два компонента реакции – специфический (распознавание агента лимфоцитами) и неспецифический (рекрутирование макрофагов), – обеспечивающих элиминацию и разрушение причинного агента.

Свежий очаг ГЗТ в коже представляет собой следующее. Цитокины активированных макрофагов создают очаг воспаления в виде плотных на ощупь узелков разного размера. Плотность очага обусловлена выпотом из сосудов фибриногена и полимеризацией его в фибрин. Среди клеток, присутствующих в очаге, в первые 6-8 ч преобладают нейтрофилы, затем макрофаги и Th1. Плотность свежих клеток в очаге ГЗТ невелика. Существенно, что среди Т-лимфоцитов в очаге доля антигенспецифичных клеток составляет 1/500-1/5000. Такие соотношения характерны для нормального иммунного ответа: на месте любого иммунного воспаления большинство лимфоцитов представлено антигеннеспецифич-

ной «толпой», «сбежавшейся» в очаг по «зову» хемокинов и молекул адгезии и по инициативе антигенспецифичных лимфоцитов. Активированные макрофаги продуцируют интерлейкин-12, который является главным «промотором» дифференцировки Th1.

ГЗТ названа замедленной, т.к. между моментом попадания антигена в ткань и развитием характерного плотного очага воспаления проходит не менее 24-48 ч. После связывания антигена TCR Th1 около 1 ч требуется для синтеза первых цитокинов и экспрессии на мембране молекулы CD40L. Инфицированный макрофаг имеет больше шансов вступить во взаимодействие с иммунным Th1, т.к. Th1 своим рецептором TCR свяжет антиген именно на поверхности макрофага и на него же направит интерферон и CD40L.

Если макрофаг по каким-либо причинам не в состоянии расщепить внедрившийся в ткани антиген, то процесс иммунного ответа по типу ГЗТ затягивается и формируются гранулемы. Образование гранулем характерно для инфекций, вызванных, например, *Mycobacterium tuberculosis*: при легочной форме туберкулеза гранулемы образуются в легких. В центре гранулемы – фиброзная ткань, по периферии – макрофагальный инфильтрат, возможен и синцитий из макрофагов. Гранулемы могут размягчаться, и наблюдается некроз. По мере накопления нерасщепленного груза на макрофагах возможен летальный исход.

Характеристика основных типов гиперчувствительности представлена в табл. 15.

*Таблица 15*

**Особенности реакций гиперчувствительности**  
(Р.В. Петров, 1981)

Признак	Гиперчувствительность	
	немедленного типа	замедленного типа
1	2	3
Клинические проявления	Анафилаксия, сывороточная болезнь, сенная лихорадка, астма, феномен Артюса	Туберкулез, туляремия, бруцеллез, трансплантационные реакции.
Антиген	Сывороточные и другие растворимые белки, различные аллергены	Вирусы, некоторые бактерии, трансплантационные антигены, гаптены

1	2	3
Антитела в крови	Присутствуют	Отсутствуют или не играют роли
Сроки появления	Несколько минут	Не ранее 6-8 ч
Гистология	Полиморфноядерная инфильтрация, экссудация	Мононуклеарно-клеточная инфильтрация
Пассивный перенос	Возможен	Невозможен
Токсичность антигена для сенсibilизированных лимфоцитов	Отсутствует	Резко выражена
Десенсибилизация	Успешна	Невозможна

Первая гуморальная форма ответа (ГНТ) связана с В-иммунной системой, вторая (ГЗТ) – с Т-клеточной системой. В-система обуславливает иммунитет при многих бактериальных инфекциях, антитоксический иммунитет, анафилаксию, аллергии немедленного типа, ряд аутоиммунных заболеваний. Т-система обеспечивает иммунитет при большинстве вирусных инфекций, некоторых бактериальных инфекциях, аллергии замедленного типа, трансплантационный иммунитет, противоопухолевый иммунитет, некоторые виды иммунопатологии и старения.

### 3.4. РЕОЛОГИЯ КРОВИ

*Реология* (от греч. rheos – течение, поток и ... логия) – совокупность методов исследования течения и деформации реальных сред, например, жидкостей, обладающих структурной вязкостью, дисперсных систем, обладающих пластичностью (Советский энциклопедический словарь / под ред. А.М. Прохорова. – М.: Советская энциклопедия, 1983. – С. 1116). Гемореология изучает деформацию и текучесть клеточных и плазматических компонентов крови. Интерес к гемореологическим исследованиям клиницистов, биологов, биофизиков обусловлен ролью нарушений реологических свойств крови в патогенезе многих заболеваний и слабой разработкой проблемы.

#### 3.4.1. Роль реологии в клиническом исследовании крови

*Гемореология* изучает свойства потока крови и ее компонентов, реологию структур сосудистой стенки, с которыми кровь

или ее составляющие непосредственно контактируют, а также реологию жидкостей и структур, включая лимфу в периваскулярном (интерстициальном) пространстве, обозначенную термином «перигемореология» (из материалов Первого международного симпозиума по биореологии, Москва, 1963).

В последние годы исследования в области биореологии концентрируются на клеточном уровне, определяя таким образом направление развития биологии и клинической медицины в XXI веке. Цель биореологических исследований – изучение реологии материалов, биологических сред и процессов на всех уровнях организации живой системы. Биореология, как пограничная область знания, простирается от реологии макромолекул и их соединений до реологии клеток, тканей и органов. Во всех этих областях изучаются взаимодействия реологических и структурно-функциональных свойств систем (и материалов) при напряжениях разного уровня, направленных на движение и/или создание потока, в котором отражены функциональные свойства каждой составляющей биологической системы.

Классификация исследований в области биореологии:

- клиническая гемореология;
- реология циркуляции;
- клеточная реология;
- молекулярная реология;
- реология биологических жидкостей;
- реология твердых биотканей (в логике их отличие от крови также является тканью организма, но только жидкой).

Предметом исследования клинической гемореологии являются синдром гипервязкости крови, клеточная гемореология, гемореологические аспекты микроциркуляции, патогенеза диабетической микроангиопатии, сдвиговые эффекты продукции вазоактивных субстанций из эндотелиальных клеток, вязкоупругость при коагуляции крови, тромбозы, гемореология при космических полетах и биомеханика тромбоцитов (Е.В. Ройтман, 2001).

Реология гемоциркуляции обеспечивает транспорт респираторных газов, питательных веществ, метаболитов, химических агентов, тепла и иммунных комплексов. Степень ее активности зависит от реологических свойств как самой крови, так и сосудов (сосудистой стенки). Реологические характеристики клеток влияют на их поведение и функцию в различных ситуациях. Пас-

сивная деформация эритроцитов и лейкоцитов необходима для их прохождения через микрососуды с диаметром, значительно меньшим диаметра самих клеток. Ответ таких клеток на прилагаемые к ним силы является предметом исследования клеточной реологии.

Лейкоциты активно покидают микроциркуляторное русло за счет локомоций после начальной адгезии к клеточной стенке и вновь адгезируют к определенным структурам. Физиологические основы этого феномена в настоящее время являются предметом интенсивного изучения. Наименее изучен процесс миграции клеток, в частности, метастатических клеток опухолей в системе циркуляции. Эндотелиальные клетки, выстилающие внутреннюю поверхность сосуда, находятся под постоянным действием напряжения сдвига, во многом модулирующих их секреторную функцию.

Реология исследует течение и деформации реальных сплошных сред. Рассмотрим некоторые физические модели сплошных сред.

*Течение Куэтта.* Примером может служить течение жидкости, формирующееся между двумя параллельными пластинами, из которых нижняя закреплена, а верхняя движется с постоянной скоростью –  $U$ . Реальная жидкость оказывает сопротивление этому «сдвигу», поэтому для поддержания движения необходимо, чтобы на верхнюю пластину действовала постоянная сила, и тем большая, чем выше скорость. Движение жидкости в зазоре создает линейное распределение скорости:

$$V_{xy} = \frac{Uy}{h},$$

т. е. скорость движения жидкости пропорциональна расстоянию от нижней пластины.

В сдвиговом потоке возникает *деформация* ( $\gamma$ ) – изменение относительного положения частиц тела, связанное с их перемещением, или изменением взаимного расположения частиц среды.

$$\gamma = dy/dx.$$

Изменения деформаций во времени характеризуются их скоростями:  $\varepsilon = dy/dt$  (с<sup>-1</sup>).

*Скорость сдвига* – наклон  $dv/dy$ , равный в конкретном случае отношению  $U/h$ , или различие скоростей слоев в радиальном

направлении, носит название «скорости сдвига» и обозначается  $\dot{\gamma}$  (гамма с точкой). Единица измерения скорости сдвига –  $\text{с}^{-1}(\text{s}^{-1})$ :

$$\dot{\gamma} = \frac{dV_y}{dx}$$

Скорость сдвига представляет собой меру деформации в единицу времени или градиент скорости двух смежных слоев жидкости при наличии их смещения относительно друг друга, т. е. быстроту изменения скорости перпендикулярно ее направлению.

*Напряжение сдвига* – тангенциальная касательная сила, приложенная к единичной площадке (участку), которая обуславливает скольжение слоев жидкости друг за другом и, следовательно, создает поток:

$$\tau = dF / dS$$

Напряжение сдвига обозначается  $\tau$ , реже –  $\sigma$ , единица измерения – Паскаль ( $\text{Па} = \text{Н}/\text{м}^2$ ).

*Вязкость* обозначается  $\eta$  и измеряется в  $\text{Па}\cdot\text{с}(\text{Pa} \cdot \text{s})$ , для крови –  $\text{мПа}\cdot\text{с}(\text{mPa}\cdot\text{s})$ .

$$\eta = \frac{\tau}{\dot{\gamma}}$$

Вязкость – характеристика внутреннего трения («связанности») – материальное свойство жидкости, мера сопротивления элементов жидкости скользящему (ламинарному) течению.

*Деформируемые среды* подразделяют на *жидкости* и *твердые тела*. В жидкостях при приложении к ним касательных напряжений, постоянных во времени, происходит течение, т. е. деформация неограниченно возрастает.

Различают *изотропные* и *анизотропные деформируемые среды*. В изотропной среде нет преимущественных направлений, анизотропия реологических свойств связана с ориентацией структурных элементов. В жидкостях возможна спонтанная анизотропия, вызываемая молекулярными механизмами, анизотропия за счет внешних факторов и анизотропия, индуцированная течением.

Деформируемые среды подразделяют на *сжимаемые* и *несжимаемые*. Все реальные среды обладают хотя бы минимальной, но конечной сжимаемостью. В общем случае движение несжимаемой жидкости представляется в виде суммы двух слагае-

мых, одно из которых связано с распределением скоростей, а другое – только с условиями для давления на границе жидкости.

Несжимаемая жидкость называется *ньютоновской*, для нее справедлив закон вязкого трения Ньютона, где вязкость зависит только от температуры, а для жидких смесей – от температуры и концентрации компонент (В.А. Левтов и соавт., 1982).

Все остальные жидкости называются *неньютоновскими*, или *нелинейновязкими*. Причины неньютоновости обусловлены наличием в жидкости взвешенных частиц, крупных молекул или молекулярных агрегатов, с собственными свойствами структурных элементов: деформабельностью, способностью объединяться в агрегаты и особенностями движения структурных компонентов – вращение и ориентация в потоке.

Жидкости, в которых эти процессы протекают не настолько быстро, чтобы можно было пренебречь начальным и промежуточными состояниями, обладают свойством *тиксотропии* – зависимостью вязкости жидкости от параметра, который характеризует ее внутреннюю структуру, изменяющуюся во времени вследствие распада и образования агрегатов (в крови – эритроцитов). Тиксотропия проявляется в виде петли гистерезиса – несовпадения кривой течения, полученной при увеличении скорости сдвига ( $\dot{\gamma}$ ), с кривой течения, регистрируемой при уменьшении скорости сдвига ( $\tau$ ).

В некоторых неньютоновских жидкостях наблюдается скачкообразный переход от почти упругих деформаций при малых напряжениях к вязкому течению, когда напряжение превышает определенный порог, называемый предельным напряжением сдвига, *предел текучести*, обозначаемый как  $\tau_0$  (мПа), а жидкости, обладающие пределом текучести, называют бингамовскими.

Условия потока (условия, при которых существует течение жидкости) определяются геометрией сосуда и прилагаемыми усилиями. Факторы, определяющие условия потока крови:

- диаметр сосуда и его изменение при вазоконстрикции и вазодилатации;

- прилагаемое (движущее) давление крови: например, разница давлений на артериальном и венозном концах кровеносного сосуда;

- взаимодействие клеток крови, которое зависит от величины гематокрита, скорости потока, близости к сосудистой стенке, физических свойств соседних клеток.



*Текучность (fluidity)* – качественная характеристика крови, свойство, обратное вязкости, т. е. «легкость», с которой течет жидкость. Безъядерные эритроциты также способны к течению. Текучность эритроцитов зависит от их способности адаптироваться к условиям потока в разных регионах сосудистого русла (т. е. от способности деформироваться). Текучность измеряется в единицах, обратных вязкости  $(\text{Па}\cdot\text{с})^{-1}$ . Предел текучности  $\tau_0$  крови не превышает  $0,022 \text{ Н/м}^2$ .

### **3.4.2. Методы гемореологического исследования**

Реологические свойства крови являются посредниками между физиологическими системами: гемодинамикой и гемокоагуляцией. На практике изменения реологических свойств крови становятся звеном патогенеза, которое реализует клинические проявления внутрисосудистых нарушений кровотока. Клиническая гемореология связана с такими сторонами патогенеза, как синдром гипервязкости крови, гемореологические аспекты нарушения микроциркуляции, патогенез диабетической микроангиопатии, вязкоупругость при коагуляции крови и тромбозе, сдвиговые эффекты продуцирования (высвобождения) вазоактивных субстанций из эндотелиальных клеток сосудов, биомеханика тромбоцитов и др.

Конечной целью гемореологических исследований является изучение роли реологических нарушений в патогенезе различных заболеваний и состояний и их влияния на протекание патологического процесса и клиническую картину. Коррекция гемореологических нарушений обуславливает характер и выбор методов терапии.

Использование гемореологических методов терапии рекомендуется проводить в режиме лабораторного мониторинга и требует обязательного контроля. Диагностическое значение реологических исследований наиболее явно проявляется в ситуациях, связанных с развитием тромботических и/или геморрагических осложнений, включая активации диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови. Прогностические свойства гемореологических показателей обусловлены тем, что вязкость крови является первичным регулятором кровяного давления (Е.В. Ройтман, 2001).

Основной метод гемореологии – вискозиметрия – измерение вязкости крови; будучи неньютоновской жидкостью, ее кажущаяся вязкость зависит от сдвиговых усилий (напряжение сдвига и скорость сдвига). Измерение кажущейся вязкости крови потенциально чувствительно к гематокриту (Hct), вязкости плазмы ( $\eta_p$ ), агрегации эритроцитов и способности их к деформации. Однако зависимость вязкоупругости цельной крови от Hct может рассматриваться с позиций сравнения патологических (опытных) образцов крови с условно нормальными (контрольными).

Для составления полноценной гемореологической картины все более широкое распространение в клинике (и лабораторном эксперименте) приобретают методы исследования агрегометрии и деформируемости (деформабельности) эритроцитов.

Для полноценного включения гемореологических исследований в клиническую практику и научные исследования необходимы: унификация методов и оборудования; использование единых терминов, понятий и единиц измерения; внедрение методов контроля качества; использование формализованных протоколов записи результатов гемореологического обследования; разработки по классификации гемореологических нарушений (Е.В. Ройтман, 2001).

*Вискозиметрия.* В качестве материала для исследования обычно используются венозная кровь, стабилизированная гепарином (10-20 ЕД/мл крови), трилоном Б (0,3 мл 7%-ного раствора на 10 мл крови) или ЭДТА (3,4-4,8 ммоль/л), а также плазма и сыворотка крови. Кровь получают через иглу или канюлю (с широким просветом для предотвращения сдвигового повреждения эритроцитов) в шприц или пробирку, обработанные или содержащие антикоагулянт. Для исключения гемодилуции пробы крови целесообразно использовать сухие антикоагулянты. По этой же причине не рекомендуется применять в качестве стабилизатора крови 3,8%-ный раствор цитрата натрия, поскольку соотношение кровь / антикоагулянт (9:1) сопровождается 10%-ной гемодилуцией и искажает результаты.

Вискозиметрию гепаринизированной крови проводят в течение первых 1,5-2 часов, а стабилизированной трилоном Б – не позднее 6 часов после взятия крови.

Исследование вязкости цельной крови выполняют при нативном и стандартном (40%) гематокрите.

Правила исследования в вискозиметрии: 1) перед измерением проба крови должна быть аккуратно (без образования пузырей) перемешана для исключения влияния на результаты спонтанной агрегации эритроцитов в процессе хранения пробы; 2) определение вязкости крови проводят в диапазоне скоростей сдвига от 1 до  $500 \text{ с}^{-1}$  (наиболее целесообразно – при скоростях сдвига 1, 5, 10, 25, 50, 75, 100, 150, 200, 250, 300 и  $500 \text{ с}^{-1}$  для вискозиметров с дискретной установкой скоростей сдвига), поскольку полная дезагрегация клеточных конгломератов, например, при гиперагрегационном синдроме, может наступить при скоростях сдвига, больших, чем  $300 \text{ с}^{-1}$  (в системах, в которых задаются напряжения сдвига, следует использовать диапазон  $\tau = 0,002-2,5 \text{ Н/м}^2$ . Начинают измерение с высоких скоростей сдвига к низким; желательно проводить измерение также в обратном порядке – от низких скоростей сдвига – к высоким; 3) при определении величины кажущейся вязкости крови необходимо результат подкреплять значением скорости сдвига. Результаты вискозиметрии можно выражать графически (рис. 21, 22).

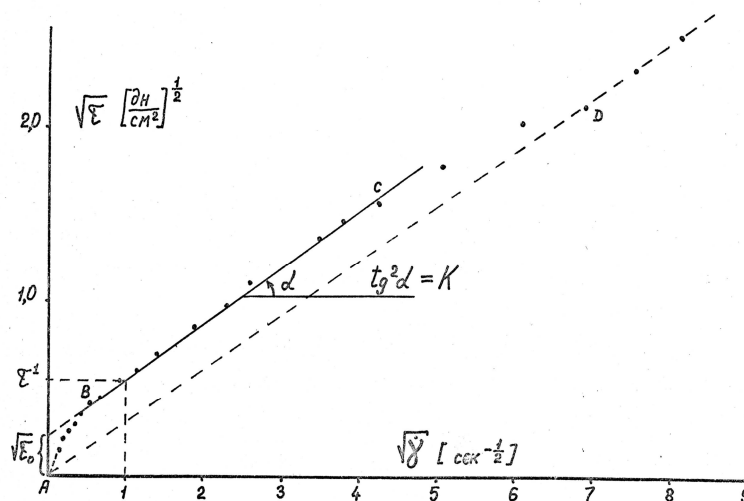


Рис. 21. Зависимость напряжения сдвига ( $\tau$ ) от скорости сдвига ( $\gamma$ ) (Е.В. Ройтман, 2001)

Исходное требование к оборудованию – определение для каждого (типа) прибора референтных величин – выполняется на основе анализа реологических свойств крови внутри референтной популяции, которая составляется из здоровых мужчин в возрасте

20-30 лет, без хронических заболеваний, не курящих, не употреблявших алкоголь или лекарства перед исследованием и обладающих Hct, MCV в пределах нормального диапазона. Следует учитывать, что климатические и географические факторы существенно влияют на диапазон референтных величин.

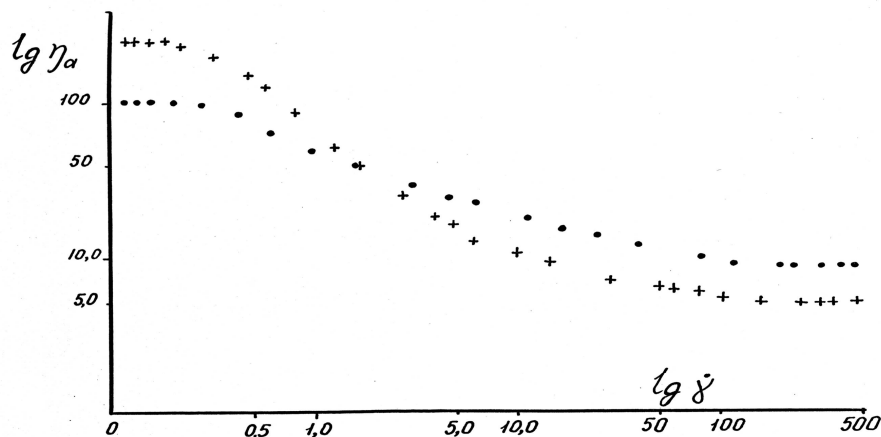


Рис. 22. Зависимость вязкости от скорости сдвига (кривая вязкости – *viscosity curve*). В координатах: вязкость ( $\eta$ , мПа·с) как функция от скорости сдвига ( $\dot{\gamma}$ , с<sup>-1</sup>) (Е.В. Ройтман, 2001)

Для корректного проведения гемореологических исследований (вискозиметрии и агрегатометрии) аппаратура должна соответствовать следующим требованиям:

- в основу инженерного решения конструкции прибора положена общепринятая общая реологическая теория (например, куэттовское течение для вискозиметров типа «цилиндр – цилиндр»);

- в системах «цилиндр – цилиндр» зазор между цилиндрами должен быть порядка 1 мм; в капиллярных вискозиметрах диаметр капилляра не должен превышать 1 мм;

- кривая течения процесса строится в диапазоне скоростей сдвига от 1 с<sup>-1</sup> до 500 с<sup>-1</sup> в режиме увеличения и снижения скорости сдвига;

- обладать возможностью термостатирования образца крови в диапазоне 25-40°С.

Для клинической агрегатометрии исходная кровь стабилизируется гепарином или трилоном Б, так же, как и для вискозиметрии.

Приведение к стандартному Нст также необходимо в клинической агрегатометрии, поскольку агрегационные характеристики зависят от Нст нелинейно и разнонаправленно; сравнение результатов исследований при произвольных значениях этого параметра невозможно.

Если нативный Нст выше 0,4 (выше 40%), то после centrifugирования из пробы удаляется определенный объем эритроцитов, рассчитываемый как:

$$\Delta V_{\text{эритроцитов}} = V_0 \left( \frac{0,4 - \text{Нст}_{\text{нат}}}{0,6} \right),$$

где  $V_0$  – объем пробы крови.

Если нативный Нст ниже 0,4 (ниже 40%), из пробы крови необходимо удалить плазму в объеме:

$$\Delta V_{\text{пл}} = V_0 \left( 1 - \frac{\text{Нст}_{\text{нат}}}{0,4} \right),$$

где  $V_0$  – объем пробы крови.

Материалом для исследования *деформабельности эритроцитов* служит цельная кровь, разведенная буфером в соотношении 1:400.

Наиболее распространен метод лазерной дифракционной эллипсометрии (эктацитометрия). Результаты эктацитометрии выражаются как зависимость: отношения длины к ширине клетки или эллиптичности, от напряжения сдвига или от величин осмотического давления. Устойчивость эритроцитарных мембран к сдвиговому или осмотическому разрушению выражают как время полужизни  $T_{1/2}$  от момента достижения максимальной деформации до момента разрушения.

Фильтрационные тесты наиболее распространены, но требуют использования фильтров с диаметром пор 3-5 мкм и длиной не менее 10 мкм (В.Л. Сигал, 1989; Г.И. Козинец и соавт., 1990; Л.Н. Катюхин, 1995).

Материалом для исследования служит суспензия трижды отмытых буфером эритроцитов (Нст=5–15%). Буфер (рН –  $7,40 \pm 0,05$  и осмоляльность – 295 ммоль/кг): для отмывания ее предварительно пропускают через фильтр с порами диаметром не более 1 мкм. Предпочтительнее применение фосфатного или HEPES-буфера.

Применяемое оборудование измеряет фильтрационное давление при прохождении через фильтр эритроцитарной взвеси с постоянным потоком или поток при постоянном давлении. Результаты выражаются в виде отношения потокового сопротивления суспензии клеток к потоковому сопротивлению среды (буфера). Это отношение должно быть выражено как функция времени фильтрации и отнесено к  $H_{ct}$  суспензии.

### 3.4.3. Агрегометрия и микрореология

Зрелые эритроциты не обладают подвижностью, но механически неинертны. Форму эритроцита и ее трансформации определяют мембрана и строма. Поверхность эритроцитов несет отрицательный электрический заряд, создающий разность потенциалов – дзета ( $\zeta$ )-потенциал – между эритроцитами и плазмой;  $\zeta$ -потенциал в значительной мере обеспечивает ориентацию клеток в потоке и суспензионную способность крови (А.Л. Чижевский, 1951). В сдвиговом потоке эритроциты вращаются и ориентируются вдоль направления движения крови. Одновременно происходит аксиальная миграция – передвижение эритроцитов от стенки сосуда к его центру под влиянием быстрого кровотока с одновременным формированием вблизи стенок сосуда слоя плазмы, практически не содержащего клеток. Вследствие аксиальной миграции средняя скорость движения эритроцитов по сосуду выше средней скорости движения плазмы. Соответственно средняя по сечению сосуда концентрация эритроцитов в потоке (динамический гематокрит) ниже, чем в крови, вступающей в него из приводящего сосуда (или в отводящем сосуде), – эффект Фарреуса, объясняющий одну из причин образования плазматических, т. е. свободных от эритроцитов, капилляров в микроциркуляторном русле. В сдвиговом потоке также происходит вытягивание эритроцита вдоль направления движения и проворачивание мембраны, сопровождаемое течением цитоплазмы в эритроците (О.К. Гаврилов, А.О. Гаврилов, 2001).

*Агрегация эритроцитов* – способность создавать в цельной крови или модельной среде «монетные столбики» и их трехмерные конгломераты и сети. Агрегация эритроцитов зависит от условий кровотока, состояния и состава крови, уровня плазменных протеинов, рН, ионной силы суспензионной среды и непосредственно от состояния эритроцита – поверхностного заряда мембра-

ны и гликокаликса (С.М. Бычков, С.А. Кузьмина, 1993). В настоящее время предложены фундаментальные модели, объясняющие этот феномен, например, механизм агрегации посредством макромолекулярного связывания (J.F. Stoltz, 1991) или агрегация в условиях генерации активных форм кислорода в клетках и накопления продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) (А.В. Тимошенко, С.Н. Черенкович, 1991).

Движущаяся кровь содержит как одиночные эритроциты, так и их агрегаты. Среди агрегатов различаются отдельные цепочки эритроцитов («монетные столбики»), которые могут изгибаться и закручиваться в потоке, и цепочки с выростами, формирующие крупные трехмерные структуры. Активное агрегатообразование происходит при скоростях сдвига ниже  $46 \text{ с}^{-1}$ . С увеличением скорости сдвига агрегаты постепенно разделяются на более мелкие глыбки клеток, при этом цепочки, связывающие две и более единицы, вытягиваются.

Для реализации агрегации эритроцитов необходим фибриноген (или другой высокомолекулярный белок или полисахарид), адсорбция которого на поверхности клеток приводит к образованию мостиков между ними. В «монетных столбиках» эритроциты располагаются параллельно друг другу на постоянном межклеточном расстоянии: для фибриногена – 25 нм; его уменьшению препятствуют силы электростатического отталкивания, возникающие при взаимодействии одноименных зарядов поверхностей эритроцитов; увеличению расстояния сопротивляются мостики – молекулы фибриногена. Прочность агрегатов, структура и скорость их формирования зависят от концентрации фибриногена или природы высокомолекулярного агрегата. Так, при взаимодействии с фибриногеном и декстранами (декстран-80, декстран-40) эритроциты сшиваются своими плоскими поверхностями, при взаимодействии с глобулинами ( $\alpha_2\text{M}$ -глобулины) мостики формируются между торцами соседних клеток. Причем первые агрегаты распадаются в потоке, вторые, напротив, уплотняются. Установлено, что агреганты адсорбируются своими концами на соседних эритроцитах, образуя мостики-сшивки. Адсорбция может осуществляться за счет ионных взаимодействий (например, с полилизинном), либо – слабых ван-дер-ваальсовых взаимодействий (с декстранами или отрицательно заряженными молекулами глобулинов и фибриногена) (В.А. Левтов и соавт., 1982).

Начальная агрегация эритроцитов связана с действием гидродинамических сил, формирование собственно агрегатов осуществляется с участием фибриногена. Агрегация эритроцитов обратима: агрегаты клеток способны деформироваться и разрушаться при достижении определенной величины напряжения сдвига.

При выраженных нарушениях гомеостаза нередко развивается сладж – генерализованное нарушение микроциркуляции, вызванное патологической агрегацией эритроцитов, как правило, сочетающейся с повышением гидродинамической прочности эритроцитарных агрегатов.

Процесс агрегации эритроцитов зависит от многих факторов, ведущие из них следующие:

1) ионный состав среды: при повышении общего осмотического давления плазмы эритроциты сжимаются и утрачивают способность формировать агрегаты;

2) величина поверхностного заряда мембраны клеток; он может изменяться под влиянием поверхностно-активных веществ, производных пентоксифилина, лекарственных средств;

3) концентрация в плазме фибриногена, иммуноглобулинов.

Агрегатометрия включает определение способности эритроцитов к агрегации и количественную оценку прочности образованных агрегатов.

Скорость образования агрегатов определяется посредством регистрации интенсивности обратного светорассеяния от слоя крови при спонтанной агрегации эритроцитов после остановки вискозиметрического течения, т. е. при переходе, например, от  $u = 1000 \text{ с}^{-1}$  до  $u = 0 \text{ с}^{-1}$ .

Гидродинамическая прочность эритроцитарных агрегатов  $r(\text{с}^{-1})$  оценивается фотометрически – регистрируется скорость сдвига, при которой размер агрегатов уменьшается в 2,7 раза. Нормальные величины:  $28,5 \text{ с}^{-1}$  ( $\sigma = 6,1$ ).

Клиническое значение параметра гидродинамической прочности состоит в том, что в норме при скорости сдвига  $u = 2,5 \text{ с}^{-1}$  разрушается 20-21% агрегатов. При патологических состояниях разрушается меньшее количество агрегатов, в тяжелых случаях агрегаты могут укрупняться.

Важная форма клеточного поведения – обратимая агрегация (L. Dipienfass, 1986; P. Johnson et al., 1994; B. Lim et al., 1997). Причины инициации процессов агрегации эритроцитов и дезагрегации, их роль, интенсивность и механизмы в настоящее время



глубоко исследуются. Установлено, что механическое поведение эритроцитов существенно изменяется под влиянием клеточных факторов, сигнальных молекул, в том числе  $\text{Ca}^{2+}$ , катехоламинов (И.А. Тихомирова и соавт., 2005; А.В. Муравьев, В.С. Шинкаренко, 2003; А.В. Муравьев, А.А. Муравьев, 2005; А.В. Муравьев и соавт., 2007; Е.В. Голубкова и соавт., 2007), лекарственных средств.

Деформабельность (деформируемость) эритроцитов (*erythrocytes deformability*) – свойство деформироваться в сдвиговом потоке, при прохождении через капилляры и поры, а также их способность к плотной упаковке.

Основные внешние факторы, влияющие на деформабельность эритроцитов:

- осмоляльность окружающей среды;
- соотношение вне- и внутриклеточного кальция и магния;
- продолжительность и интенсивность приложенных к эритроциту внешних воздействий (механических и химических), изменяющих липидный состав мембраны или нарушающих структуру спектриновой сети.

Жесткость (*rigidity*) – утрата эритроцитами способности деформироваться, например, при воздействии на их мембраны кислых метаболитов или глутаральдегида.

Гемоагрегатология изучает закономерности агрегатного состояния крови, его изменений и регуляцию. В физике агрегатное состояние определяется как основное свойство вещества, которое может изменяться при изменении энергетического баланса. Нарушения агрегатного состояния крови могут быть первичными и вторичными. К первичным относятся гемофилия, холестериноз, тромбофлебия: они могут возникать под влиянием различных воздействий внешней среды. Вторичные нарушения в системе регуляции агрегатного состояния лежат в основе патогенеза таких заболеваний, как ишемическая болезнь сердца, атеросклероз, токсикозы, инфекционные болезни. Общими особенностями, объединяющими значительное число заболеваний системы агрегатного состояния крови, являются снижение энергетического баланса структурных компонентов крови, рост гемоагрегационного потенциала крови в целом и отдельных ее составляющих, относительное преобладание гемоагрегационного потенциала крови над антиагрегационными потенциалами.

В основу современной гемоагрегатологии положена теория системной организации функций регуляции агрегатного состояния крови:

– система регуляции агрегатного состояния крови (РАСК) – включает комплекс избирательно вовлеченных морфофункциональных компонентов, различающихся по структуре, тканевой принадлежности, биохимической и биофизической специфике (центральные органы, периферические образования, местные и центральные регуляторы), взаимосвязанных в получении гемоагрегационного потенциала, соответствующего потребностям организма;

– РАСК обуславливает создание гемоагрегационного потенциала, способного обеспечить оптимальное агрегатное состояние крови в различных условиях существования организма;

– гемоагрегационный потенциал, будучи конечным результатом деятельности РАСК, способен реорганизовать систему, создавая наиболее благоприятную форму взаимодействия между ее компонентами для получения запрограммированного результата;

– РАСК объединяет иерархию подсистем, которые контактируют на уровне результатов действия каждой из подсистем предыдущего уровня;

– важнейшее свойство РАСК – ее способность к саморегуляции: отклонение параметров агрегатного состояния крови от оптимального уровня обеспечивает включение регуляторных механизмов, направленных на устранение отклонений по принципу отрицательной обратной связи;

– элементы функциональной системы регуляции агрегатного состояния крови в процессе эволюции живых систем появились с возникновением вторичной внутренней среды, что открыло возможность к переходу от водного к наземному существованию и более совершенному метаболизму;

– РАСК обладает высокой лабильностью за счет возможности перегруппировок ее структурных компонентов в соответствии с функциональными потребностями организма, направленных на получение адаптивного гемоагрегационного потенциала (О.К. Гаврилов, А.О. Гаврилов, 2001).

Значительная часть энергии, которую продуцирует организм, расходуется на поддержание жидкого агрегатного состоя-

ния крови, поскольку жизненно важные процессы в организме осуществляются исключительно в жидких средах. В коллоидной системе крови в процессе гелеобразования участвуют белки плазмы, в том числе белки свертывающей системы – фибрин и фибриноген. Фибрин – линейный полимер. Его синтез изменяет агрегатное состояние плазмы крови в сторону геля. Гель имеет вязкость, в 1000 раз превосходящую вязкость жидкой крови. Он проявляет высокую адгезионную способность. На фоне гелеобразования формируются сгустки различной плотности, изменяющие свойства крови.

В клеточной суспензии крови в процессах агрегации ведущая роль принадлежит эритроцитам и тромбоцитам. В условиях любого агрессивного воздействия на организм уязвимое звено в системе эритрона – разрушение старых эритроцитов макрофагами. Старые эритроциты в ситуации общего стресса первыми формируют агрегаты, часть из них гемолизируется и выделяет в плазму тромбопластические субстраты. Формирование эритроцитарных агрегатов начинается в посткапиллярных венулах и может привести к внутрисосудистой гиперагрегации (развиваются состояния по типу тромбгеморрагического синдрома, синдрома полиорганной недостаточности, инфаркта легких, сердечной мышцы, мозга).

Мощным регулятором агрегатного состояния крови являются тромбоциты, обладающие свойствами адгезии, агрегации и реакции высвобождения. Возможность очень быстро изменять величину гемоагрегационных потенциалов в любом участке кровотока с помощью тромбоцитов позволяет системе агрегатного состояния крови выполнять защитные функции крови.

#### **3.4.4. Реология и электрические свойства клеток крови**

Агрегатное состояние крови зависит от электрохимических свойств клеток крови и белков плазмы. Различные формы агрегатного состояния крови связаны с неодинаковыми электрическими зарядами мембран клеток, молекул гемоглобина и молекул белков плазмы. Электрические заряды расположены на поверхности или вокруг морфологических структур крови, стабилизируют эритроциты и другие клетки крови во взвешенном состоянии в кровеносном русле, а также обеспечивают устойчивость дисперсной белковой фазы в дисперсионной среде плазмы. Кор-

пускулярные элементы крови имеют на поверхности двойной слой электрических зарядов. Внутри клеток крови на внутренней поверхности мембран и на мембранах органелл также распределены электрические заряды. Весь клеточный комплекс пронизывают силовые линии электрического поля, а между клетками действуют силы электрического распора, предотвращающие их агрегацию. В токе крови электростатический вектор удерживает частицы крови в соответствии с силами гидродинамики и обеспечивает определенную их ориентацию.

Взаимодействие полярных молекул создает устойчивость коллоидов плазмы, а водородные связи играют важную роль в обеспечении геометрической конфигурации молекул белков, формируют вторичную структуру молекул, обеспечивают стабилизацию молекулярных структур и их перестройку при возникновении функциональных запросов, связанных с изменением метаболизма и воздействием внешних факторов. Эритроциты со сниженной деформабельностью и повышенной способностью к агрегации ухудшают реологические свойства крови, равномерная суспензия клеток в кровотоке обогащается агрегатами клеток различной величины.

Важное направление современной гемоагрегатологии – комплексное изучение взаимодействия различных сил, действующих на клетки крови в сосудистом русле: гравитационные, электромагнитные и инерционные, направленные на сближение клеток в потоке крови; электростатические и силы поверхностного натяжения мембран разводят клетки; силы гидродинамики (механические) перемещают клетки в направлении тока крови. Электрические силы в системе агрегатного состояния крови возникают в результате движения электрических зарядов на формах элементов и других компонентах крови. Электрические процессы при этом регулируют жизнедеятельность и несут информацию о функциях органов и систем. Поток крови в сосудах представляет собой движение заряженных частиц (ионов), заряженных клеток крови, белковых фракций. Пульсирующий кровоток рождает пульсирующий электрический ток и пульсирующее магнитное поле, которое приводит к появлению вихревого электрического тока и ЭДС индукции, препятствующей росту силы тока. ЭДС в пульсирующем токе изменяет свое направление в зависимости от скорости кровотока на каждом из участков сосуда. В связи с этим между двумя точками по ходу кровеносного сосу-

да формируются переменные разности потенциалов и постоянное электрическое поле.

В покоящейся крови формируются непрерывные структуры, не позволяющие развиваться течению. Предел прочности этих структур, состоящих из агрегатов и комплексов клеток, может быть преодолен только приложением внешних сил, которые разрушают сложившуюся пространственную структуру, и кровь начинает течь.

Силы, позволяющие преодолеть гемоагрегационные потенциалы и предел прочности покоящейся структуры крови, называют силами предельного напряжения сдвига, или пределом текучести. Предел текучести крови служит показателем структурной прочности образующихся в ней клеточных и белковых агрегатов. Он может быть также показателем кажущейся вязкости крови (истинная вязкость может быть измерена только с учетом скоростей сдвига).

Кровь преодолевает предел текучести за счет предельного напряжения сдвига, создающегося силами сердечного сокращения. В зависимости от диаметра сосуда величина скорости сдвига колеблется от 0 до  $600 \text{ с}^{-1}$ . В таких параметрах изменяется и вязкость крови при ее течении по сосудам различного диаметра. При этом изменяются агрегатное состояние крови, ее пространственная структура, которая создается не только скоростями сдвига, но и временем распада и образования этих структур. Таким образом, в движущейся по кровеносным сосудам крови постоянно идут процессы структурообразования и структуроразрушения, непрерывные процессы изменения фаз ее агрегатного состояния.

Нарушения клеточного метаболизма независимо от их вида и происхождения приводят к дефициту энергии и изменению агрегатного состояния крови: формируются синдром повышенной вязкости крови, внутрисосудистой коагуляции, уменьшаются деформабельность и электрофоретическая подвижность эритроцитов, увеличивается их агрегационная способность. Снижается также электрофоретическая подвижность тромбоцитов, и они необратимо агрегируют. В плазме накапливаются грубодисперсные белки, уменьшается содержание альбуминов. Если энергетический дефицит соединяется с интоксикацией (сепсис, гнойные заболевания легких), то состояние крови изменяется в сторону повышения гемоагрегации, особенно это характерно для тестов вяз-

кости крови, агрегабельности тромбоцитов и эритроцитов и деформабельности эритроцитов.

### **3.5. РЕЗИСТЕНТНОСТЬ И РЕАКТИВНОСТЬ КЛЕТОК КРОВИ**

Резистентность (лат. *re* – вновь, *resistentia* – сопротивление, противодействие) – устойчивость биосистемы к воздействию различных повреждающих факторов среды, реализуемая на основе общебиологического принципа гомеостаза (Словарь физиологических терминов / отв. ред. О.Г. Газенко. – М.: Наука, 1987. – С. 316). Резистентность эритроцитов определяется их способностью противостоять различным разрушительным воздействиям: осмотическим, механическим, химическим, физическим и др. (Е.Д. Гольдберг, В.В. Новицкий, 1994), обусловлена свойствами эритроцитарной мембраны и служит выражением ее важнейшей функции – создание барьера для прохождения веществ и осуществления избирательного их транспорта.

Реактивность (лат. *re* – вновь + *activus* – действенный, деятельный) – свойство живой системы отражать (реагировать) воздействия внешней среды (Словарь физиологических терминов / отв. ред. О.Г. Газенко. – М.: Наука, 1987. – С. 311). Реактивность живой системы проявляется в виде цепной реакции, выражающейся в форме нарастающих, затухающих или фазовых колебаний состава, физико-химических и биологических свойств крови, элиминации метаболитов, гормонов, изменения проницаемости гистогематических барьеров, а также в изменении тонуса регуляторных систем (Г.Н. Кассиль, 1981).

С усложнением организации животных существенно эволюционировали формы и механизмы реактивности. Реактивность простейших и многих беспозвоночных ограничивается изменением метаболизма и смыкается с проблемами их экологии – температура, влажность, содержание в среде кислорода, обеспеченность кормом /пищей.

Экспериментальное исследование неспецифической реактивности и резистентности у высших организмов к различным экстремальным факторам выявило колебания физиологических и физико-химических параметров в достаточно узких гомеостатических границах, оптимальных для конкретной жизненной ситуации.

Реактивность клетки, как структурной единицы живой системы, оценивается диапазоном ее функциональной активности, в том числе лабильностью биохимических процессов и способностью к ауторегуляции. Ауторегуляция (авторегуляция) – местная, не зависящая от эфферентной иннервации и действия приносимых с кровью веществ, способность клетки (ткани) обеспечивать адекватный, соответствующий воздействию, уровень метаболической активности и адаптации благодаря наличию универсальных филогенетически древних мембранных рецепторных структур. На клеточном уровне процесс адаптации к изменению средовых факторов, действию сигнальных молекул реализуется с участием ионтранспортирующих систем. При этом реакция клеток зависит от типа и соотношения рецепторов, экспрессированных на мембране, вторичных посредников, субстратов, киназ и пр. (Дж. Теппермен, Х. Теппермен, 1989).

Изучение механизмов, оценки и прогнозирования индивидуальной реактивности организма и его резистентности к действию различных экстремальных факторов не утратило актуальности и связано с решением ряда как теоретических, так и сугубо практических вопросов. При исследовании неспецифической реактивности и резистентности млекопитающих животных и человека к экстремальным физическим факторам обнаружена ведущая роль в формировании их регуляторных систем, главная из которых – центральная нервная система (Г.Н. Кассиль, 1981; И.Б. Ушаков, А.С. Штемберг, 2007). Однако если в условиях физиологической нормы нервная регуляция является ведущей, то при возмущающих воздействиях, стрессовых ситуациях и сопутствующих существенных нарушениях гомеостатических механизмов состояние самой нервной системы становится зависимым от химических сдвигов в составе и свойствах как общей внутренней среды, так и непосредственной – микросреды клеток.

Исследование свойств клетки – реактивность и резистентность – актуально, поскольку на основе гипотезы о функциональной надежности регуляторных систем при применении интегративного показателя клетки позволяет разрабатывать методы прогнозирования индивидуальной (и видовой) резистентности организма.

В наших исследованиях, на основе генетически детерминированных геометрических характеристик эритроцита – объем, площадь поверхности мембраны и толщина (высота) – разработа-

на модель оперативного выявления качественных изменений в эритроцитарной популяции, происходящих при физиологической и репаративной регенерации системы красной крови, что дает возможность прогнозировать развитие адаптационных или патологических процессов в организме (патент РФ на изобретение № 2224235, 2004; патент РФ на изобретение № 2234701, 2004).

Особого внимания заслуживают способы оценки функционального состояния организма по степени реактивности и резистентности клеток крови к гемолитикам различной природы, основанные на скорости вовлечения в гемолитический процесс разновозрастных субпопуляций эритроцитарной системы. Установлено, что скорость клеточного ответа на воздействия зависит от функционального состояния системы эритрона. Использование точных математических параметров, отражающих клеточную морфологию (патент РФ на изобретение № 2234701, 2004), позволило нам создать высокоспецифичный и информативный способ оценки активности эритропоэза (патент РФ на изобретение № 2268463, 2006).

Изучая с помощью метода лазерной дифракции распределение клеток, в том числе и крови, по размерам и форме, А.В. Сыроешкин и соавт. (1999, 2002) разработали новые подходы к исследованию патофизиологии клетки для диагностики и мониторинга заболеваний и сформулировали общую теорию клеточного формообразования.

Для клеток крови интегральным и регулируемым показателем служит объем. При изменении осмоляльности цитоплазмы или интерстициальной жидкости возрастает скорость ионных потоков, ответственных за восстановление объема клетки после первичного сжатия – регуляторное увеличение объема (regulatory volume increase – RVI), или набухания – регуляторное уменьшение объема (regulatory volume decrease – RVD) (С.Н. Орлов, Т.Г. Гурло, 1991).

Время восстановления клеточного объема зависит от активации ионтранспортирующих систем (B.D. Cherksey et al., 1980; A.A. Mongin, S.N. Orlov, 2001) и абсолютных величин неттопотоков ионов (S. Eskelinen, W.T. Coakley, 1986; M. Berenbrink et al., 1997). В проведенных нами исследованиях по изучению кинетических характеристик объемзависимых транспортных систем



эритроцитов лягушек в гипоосмотической среде установлено регуляторное восстановление объема клеток после первичного набухания в 0,2% растворе хлорида натрия через 50 с инкубации (М.Ю. Скоркина и соавт., 2004).

Регуляция структурно-функционального состояния эритроцитов основана на взаимосвязи процессов трансмембранного транспорта ионов, изменения формы, объема и механических свойств клеток. Благодаря высокоорганизованной динамической мембране эритроциты способны регулировать объем и сохранять свою жизнеспособность (Е.А. Липунова и соавт., 2004а).

### **3.5.1. Объем клеток и его регуляция**

Живая клетка – подвижная саморегулирующаяся система, ее внутренняя организация поддерживается активными процессами, направленными на устранение, предупреждение или сглаживание сдвигов, вызванных стимулами из внешней или внутренней среды. Способность возвращаться к исходному состоянию (объему) после отклонений от некоторой величины, вызванных возмущающим фактором, – особое преимущество клетки (Г.Н. Касиль, 1981). Объем эритроцита – структурно-функциональная характеристика, отражающая его поведение и способная изменяться соответствующим образом при различных воздействиях благодаря способности клетки к ауторегуляции. Объем клетки служит относительным показателем эффективности ее метаболизма и функционирования конкретных транспортных систем, активирующихся при сжатии и набухании. Одна из ведущих причин, вызывающих колебания объема, – изменение тоничности цитоплазмы и внеклеточной среды. Флуктуации тоничности цитоплазмы возникают вследствие модификации активности мембранассоциированных ионных каналов, вовлеченных в транспорт основных осмотически активных катионов (С.Н. Орлов и соавт., 1988). Степень тоничности цитоплазмы зависит от метаболизма клетки – ферментически регулируемого процесса. Как показали исследования (Д. Мецлер, 1980; Э. Бойтлер, 1981), эритроцит содержит более 140 ферментов, контролирующих синтез и распад внутриклеточных макромолекул.

Наиболее полно исследована способность к регуляции объема клеток мозгового вещества почек, в филогенезе адаптирован-

ных функционировать в условиях физиологической гипо- и гипертоничности и адекватно реагировать на флуктуации осмоляльности в достаточно широком диапазоне величин (Ю.В. Наточин, 2000; Физиология водо-солевого обмена..., 1993; M.V.Burg, 1995). Способность регулировать объем свойственна всем растительным и животным клеткам – от бактерий до клеток млекопитающих и человека (R. Kinne, 1993).

В последние годы в зоне внимания исследователей – изучение механизмов, позволяющих клеткам крови изменять и регулировать объем. Эти вопросы непосредственно взаимосвязаны с раскрытием кинетики объемзависимых транспортных систем, механизмов внутриклеточной сигнализации, выявлении специализированного или специфического сенсора, воспринимающего информацию об изменении объема клетки, и последующего его усиления и трансмиссии на соответствующую ионтранспортную систему (С.В. Конев, 1987; В.А. Ткачук, 1987; С.Н. Орлов, Т.Г. Гурло, 1991; С.Н. Орлов, К.Н. Новиков, 1996; А.Г. Камкин и соавт., 2006). При изменении осмоляльности экстрацеллюлярной жидкости возрастает скорость объемчувствительных ионных потоков: при уменьшении объема клетки активируются  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $2\text{Cl}^-$ -котранспорт,  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -обмен,  $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ -обмен; при увеличении объема – активируются  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ -котранспорт,  $\text{K}^+$ - и  $\text{Cl}^-$ -каналы и  $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ -обмен (С.Н. Орлов, Т.Г. Гурло, 1991; K. Strange et al., 1996; J.A. Hernandez, C. Ernesto, 1998). В последнее десятилетие были открыты белки аквапорины, формирующие в липидном слое клеточной мембраны каналы для движения воды по осмотическому градиенту (Л.Н. Иванова, Е.И. Соленов, 2005). Распространенность этого типа каналов в биологических мембранах животных различных уровней организации пока не установлена.

Исследованиями, выполненными на эритроцитах человека, показано участие  $\text{K}^+$ -( $\text{Ca}^{2+}$ )-каналов в изменении объема клеток (И.В. Петрова и соавт., 2005). Основной системой поддержания постоянного клеточного объема выступает  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $2\text{Cl}^-$ -котранспорт, который в зависимости от соотношения градиентов  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  обеспечивает их поток в клетку (и вызывает набухание) или наружу (сжатие клетки).

Скорость проникновения ионов через мембрану определяется такими ее свойствами, как толщина, значение диэлектриче-

ской проницаемости, наличие фиксированных диэлектрических зарядов на поверхности, знак и плотность их расположения на мембране, размеры и число пор в мембране, наличие фиксированных зарядов в канале (Г.А. Исаева и соавт., 2004). В объемную регуляцию интранспортирующих систем вовлечены системы внутриклеточной сигнализации, гормоны, биологически активные вещества, метаболиты. Особая роль отводится ионам кальция (А.А. Галкин, В.С. Демидов, 2007). В литературе обсуждается информация об увеличении и уменьшении концентрации внутриклеточного кальция в эритроцитах *Amphiuma* соответственно при набухании и сжатии клеток (P.M. Cola et al., 1986).

Экспериментами, направленными на изучение неспецифических механизмов клеточного ответа на кальциевую сигнализацию, выполненных в нашей лаборатории, установлено регуляторное возрастание объема (RVD) эритроцитов в гипотонической среде после кальциевой нагрузки ( $5 \cdot 10^{-6}$  ммоль·л<sup>-1</sup>) через 30 с инкубации. Интенсивность перестроек морфологического профиля эритроцитов, оцениваемая по коэффициенту резервной поверхности, лежит в пределах 300 с, когда между клетками опытной и контрольной аликвот зафиксированы достоверные различия. Мы отмечаем высокую реактивность эритроцитарной системы лягушек на кальциевые сигналы. Ионы  $Ca^{2+}$ , как древние регуляторы внутриклеточных процессов, выступают посредниками в передаче сигналов от внешних факторов, одновременно генерируя внутриклеточную перестройку биохимических систем, адекватную воздействиям и направленную на реализацию адаптивных механизмов (Е.А. Липунова, М.Ю. Скоркина, А.С. Зеленцова, 2007; М.Ю. Скоркина, 2007).

Основной механизм ауторегуляции клеточного объема – изменение внутриклеточного метаболизма, ведущее к сдвигам концентрации внутриклеточных компонентов (M.M. Garner, M.V. Burg, 1994; J.C. Summers et al., 1997). В объемной регуляции участвуют ферменты, контролирующие уровень циклических мононуклеотидов, диацилглицерола, инозитолфосфатов (А.А. Abdel-Latiff, 1986). Рост внутриклеточной концентрации циклических мононуклеотидов или диацилглицерола активирует протеинкиназы А (В.А. Ткачук, 1987) и С (А.А. Abdel-Latiff, 1986), а повышение концентрации инозитолтрифосфата высвобождает  $Ca^{2+}$  из внутриклеточных депо, что стимулирует ( $Ca^{2+}$ +кальмодулин)-

зависимую протеинкиназу (J.L. Eveloff, D.G. Warnock, 1987), участвующих в фосфорилировании мембранных белков с характерным сдвигом функциональной активности клетки. В.А. Галенок и соавт. (1987), С.Н. Орлов, Т.Г. Гурло (1991), Е. Лапетина (E.G. Lapetina et al., 1981) отмечают роль метаболитов архидонозой кислоты (простагландины, простаглицлины, лейкотреины) как вторичных месенжеров в регуляции клеточного объема.

Роль гормонов в регуляции клеточного объема обуславливается их способностью модифицировать работу ионных переносчиков и изменять состояние цитоскелета (С.В. Конев, 1987; С.Н. Орлов, К.Н. Новиков, 1996; Я.Ю. Комиссарчик, 1998; Н.Н. Мелиди и соавт., 1998; Ю.В. Наточин, 1998). Макромолекулы цитоскелета обеспечивают высокую чувствительность клетки к изменению объема (Н. Venter et al., 1991; J. Chen et al., 1994; M.V. Burg, 1994; B.R. Doctor et al., 1997) и препятствуют свободному току воды в клетку (Е.А. Смирнова, 1988; Е.А. Смирнова и соавт., 1987). Для объемной регуляции клетки потенциально важны белки цитоскелета: они придают мембране свойства напряженности и метастабильности, кроме того, актин и актиноподобные белки, обладая сократимостью, могут маскировать и модифицировать осмотическое поведение клетки (J.W. Milis, 1987). Следовательно, нормализация объема зависит не только от концентрации ионов, создаваемой работой соответствующей транспортной системы, но также от упруго-эластических характеристик мембраны и подмембранных белков (А.А. Галкин, Б.И. Ходоров, 1988; С.Н. Орлов, Т.Г. Гурло, 1991).

В физиологических условиях осмотическая стойкость клеток – величина относительно постоянная, но понижается при старении клетки, повышении ее функциональной активности, в условиях патологии или экстремальных воздействиях (А.А. Болдырев, 1985, 1990). При измененных условиях основная причина мембранного разрыва – биохимические повреждения (J. Chen, L.J. Mandel, 1997).

При повышении осмоляльности среды происходит гипертоническое сжатие клетки. В этих условиях как регуляторы клеточного объема выступают осмолиты – органические молекулы, не влияющие на электрические характеристики клеток. Это полиолы (сорбитол, миоинозитол), аминокислоты (аланин, таурин), метиламины (бетаин, глицерофосфохолин) (С.Н. Орлов, К.Н. Новиков, 1996).

Повышение осмоляльности цитоплазмы ведет к набуханию и увеличению объема эритроцитов. Так, у больных сахарным диабетом нарушен метаболизм глюкозы; интенсификация полиолового пути приводит к синтезу и накоплению сорбитола в клетках вследствие малой для него проницаемости мембраны. Концентрация этого осмотически активного вещества в эритроцитах может возрастать в 3–5 раз, что приводит к резкому снижению фильтруемости клетки. Кроме того, при сахарном диабете активируется альдозоредуктаза, катализирующая восстановление глюкозы до сорбитола (В.А. Галенок и соавт., 1987; Биохимия человека, 1993; Е.И. Соколов, 2002; O. Carandente et al., 1982; J.V. Munt et al., 1990). Поскольку реакция идет с поглощением энергии, высвобождающейся при расщеплении АТФ, усугубляется дефицит макроэргов в клетках. Такие изменения в эритроцитах снижают реологические свойства крови, нарушают кислородный режим (E. Altomaze et al., 1992) и усугубляют гипоксию (А.С. Ефимов и соавт., 1984).

В последние годы ученые все чаще используют методики экспозиционных нагрузок (гипо- и гипертонические растворы электролитов и неэлектролитов) в качестве функциональных проб, характеризующих способность клеток к реализации потенциальных нагрузок (В.И. Медведев, 1982; М.З. Федорова, 2001; М.З. Федорова, В.Н. Левин, 2001; А.В. Муравьев и соавт., 2005, 2007; Е.А. Липунова и соавт., 2004, 2005; И.А. Тихомирова и соавт., 2005).

### **3.5.2. Резистентность клеток крови**

Высокие барьерные свойства эритроцитарных мембран определяются липидным бислоем (Е.А. Черницкий, А.В. Воробей, 1981). Непрерывность липидного бислоя мембраны в процессе жизненного цикла клетки может нарушаться с образованием структурных дефектов типа сквозных гидрофильных пор. Примером дестабилизации мембраны эритроцитов выступает гемолиз, при котором мембрана растягивается и в ней появляются гидрофильные поры вследствие латеральных флуктуаций плотности поверхности. При определенном пороговом уровне натяжения мембраны гидрофильные поры обеспечивают выход гемоглобина и низкомолекулярных веществ. Превращение поры в гидрофильную обусловлено переориентацией липидных молекул

(Ю.А. Чизмаджев, 2000). Выход веществ сопровождается снижением разности осмотического давления, натяжение мембраны уменьшается, и поры залечиваются. Однако, если размер поры выше критического значения, происходит нарушение целостности мембраны (В.Ф. Антонов, 1998). При гипоосмотическом «шоке» полного механического разрушения клетки не происходит, поскольку белки цитоскелета обеспечивают клетке способность сохранять форму, при этом образуется «тень» эритроцита (В.Ф. Антонов, 1996).

Резистентность отражает структурно-функциональное состояние мембраны, имеет важное диагностическое значение, что связано с решением одной из важнейших задач физиологии и патологии системы крови – изучение качественного состава функционирующих гемоцитов.

Резистентность эритроцитов оценивают методом постановки тестов на механический, перекисный, мочевиный, глицериновый гемолиз, а также в модельных опытах с экспозицией клеток в гипо- и гипертонических средах.

В клинической гематологии и научных исследованиях наиболее распространено определение осмотической и кислотной резистентности – устойчивости эритроцитов в гипотонических растворах и растворах кислых гемолитиков. Выбор методики определяется целью исследования и решаемыми задачами, поскольку каждый из названных видов гемолиза обусловлен функционированием одной или нескольких транспортных систем клетки.

Методы дисперсионного анализа, характеризующие качественный состав эритроцитов, были разработаны И.И. Гительзоном и И.А. Терсковым. Принцип метода состоит в фотоэлектрической регистрации убыли числа эритроцитов в процессе гемолиза, развивающегося в стабильных условиях. Опыты, проведенные с гемолитиками различного механизма действия, позволили авторам предложенного метода сформулировать следующие представления о кинетике гемолиза. Стойкость клетки, определяемая по выходу гемоглобина, является результирующей трех процессов: 1) времени, необходимого для преодоления гемолитиком барьера мембранной непроницаемости; 2) скорости распада внутриклеточных структур; 3) времени, в течение которого механическая прочность мембраны противостоит нарастающему осмотическому давлению внутри клетки (И.И. Гительзон, И.А. Терсков, 1959).

Осмотический тип гемолиза не приводит к химическим изменениям содержимого эритроцита. При осмотическом гемоглобинолизе диффундирует лишь свободная фракция гемоглобина; при усилении гипотонии приостанавливается его выход, т. к. при радиусе молекулы около 3,25 нм свободный выход из клетки возможен только в условиях образования дефектов в мембране. Установлено, что при осмотическом типе гемолиза по мере выхода гемоглобина размеры разрыва мембраны уменьшаются, что указывает на ее способность к самовосстановлению (З.И. Кружецкая, А.В. Лонский, 1994).

Химический (кислотный) тип гемолиза включает ряд последовательно протекающих стадий: предгемолитическая, гемоглобинолиза, строматопороза, строматолиза. Главный критерий предгемолитической стадии – выход ионов калия в окружающую среду и сферуляция эритроцитов. Гемоглобинолиз протекает в зависимости от свойств гемолитика. Так, при химическом гемоглобинолизе происходит нарушение физико-химических свойств связанного гемоглобина вследствие распада гемолипостроматинного комплекса. На стадии строматопороза под влиянием, например, концентрированного сапонина происходит нарушение морфологической целостности эритроцита. Полная дегградация клеточных структур (строматолиз) наступает при действии холево-, дезоксихолево-, олеиновокислого натрия.

Гемолитическое влияние на клетку сильных кислот и оснований обусловлено действием высокореакционных ионов  $H^+$  и  $OH^-$ , вызывающих повреждение мембраны, повышение внутриклеточного осмотического давления, которое приводит к сферуляции эритроцита; при достижении критического объема клетка подвергается гемолизу.

В настоящее время активно исследуются динамика формы, разрушения мембраны и кинетика гемолиза эритроцитов в гипосмолярной и кислой среде методами микрореоскопии (В.В. Усынин и соавт., 2005).

Наиболее полно явление резистентности эритроцитов изучено у человека и млекопитающих животных. Метод построения эритрограмм достаточно активно используется для диагностики различных заболеваний (Л.Н. Катюхин, М.Н. Маслова, 1984; Клиническая гематология, 1985; Исследование системы крови в клинической практике, 1997; А.В. Трикуленко, У.В. Панишко,

1999; Е.В. Ройтман и соавт., 2001; Д.Ф. Шакиров и соавт., 2003; М.М. Фазлыев, А.Ж. Гильманов, 2005).

Термин «эритрограмма» и методика ее построения были введены И.И. Гительзоном и И.А. Терсковым, ими же впервые была описана архитектоника (форма) эритрограммы. Типичная эритрограмма человека и млекопитающих животных представлена одновершинной кривой с максимумом у человека на 0,50-0,44 % NaCl (у кролика – от 0,60 до 0,5% NaCl) и крутыми спусками в стороны бóльшей или меньшей стойкости (И.И. Гительзон, И.А. Терсков, 1956). Форма эритрограммы в норме постоянна в пределах небольших физиологических вариаций и отражает, таким образом, закономерное количественное соотношение между группами эритроцитов различной стойкости, сохраняющееся при нормальной жизнедеятельности организма.

Многочисленными экспериментами установлена зависимость между физиологическим состоянием организма и стойкостью эритроцитов к гемолитикам разного генеза, не исключая метаболиты.

Наиболее характерное изменение эритрограмм в ходе регенерации крови – распад на две вершины и их дальнейшая эволюция. Появление максимумов связывают с выбросом костным мозгом в кровоток молодых форм эритроцитов.

Отмечены внутривидовые и межвидовые различия кислотной резистентности (С.Ю. Балакирева, М.М. Яшина, 1969), изменения резистентности клеток в условиях гипоксии, гипотермии и гиперкапнии (Г.Н. Акоева и соавт., 1977), получены эритрограммы метгемоглобиновых эритроцитов (В.В. Овчинников, 1967), установлена роль липидов в распределении эритроцитов на кислотной эритрограмме (М.Д. Бриллиант, А.И. Воробьев, 1967).

В современной клеточной биологии активно исследуются цитофизиологические особенности устойчивости эритроцитов к коллоидно-осмотическому лизису у представителей различных филогенетических групп животных. Ученые приходят к выводу о снижении осмотической стойкости эритроцитов в ряду земноводные – птицы – человек. Причем реактивность клеток к порообразующему гемолитику в этом ряду обратная, т. е. эритроциты лягушки более чувствительны к воздействию порообразующего гемолитика, чем клетки птиц и человека (С.В. Бессонова и соавт., 2004). Полученные результаты ученые объясняют несовершен-



ством гомеостатических регуляторных механизмов у животных более низких ступеней эволюционного развития. Повышенную реактивность красных клеток крови этой группы животных увязывают также с превалированием во внутренней среде факторов, способствующих дисбалансу объема клетки над внешними факторами. К их числу можно отнести бактериальные и вирусные инфекции; образующиеся токсины, как известно, способны нарушать осмотический баланс клеток посредством формирования пор в клеточной мембране. Вероятно в эволюции животных параллельно с усовершенствованием иммунных механизмов защиты формировалась высокая устойчивость собственных клеток к экзо- и эндогенным факторам, потенциально способным нарушать их осмотический баланс.

Резистентность клеток к различным воздействиям обуславливается также уровнем формирования цитоскелета клеток. Доказано, что клетки разной степени зрелости цитоскелета по-разному реагируют на действие гипотонии. В клетках, в которых цитоскелет выражен слабо, адаптивная реакция связана с регуляторным уменьшением клеточного объема; хорошо развитый цитоскелет, выполняя функцию внутриклеточного каркаса, удерживает клетку в жестком состоянии (Е.А. Смирнова и соавт., 1987).

### ***3.5.2.1. Резистентность эритроцитов крови амфибий.***

Собственные исследования осмотической и кислотной резистентности эритроцитов крови лягушек *Rana ridibunda Pall.* в физиологических условиях позволили отметить многоочаговость эритропоэза (рис. 23).

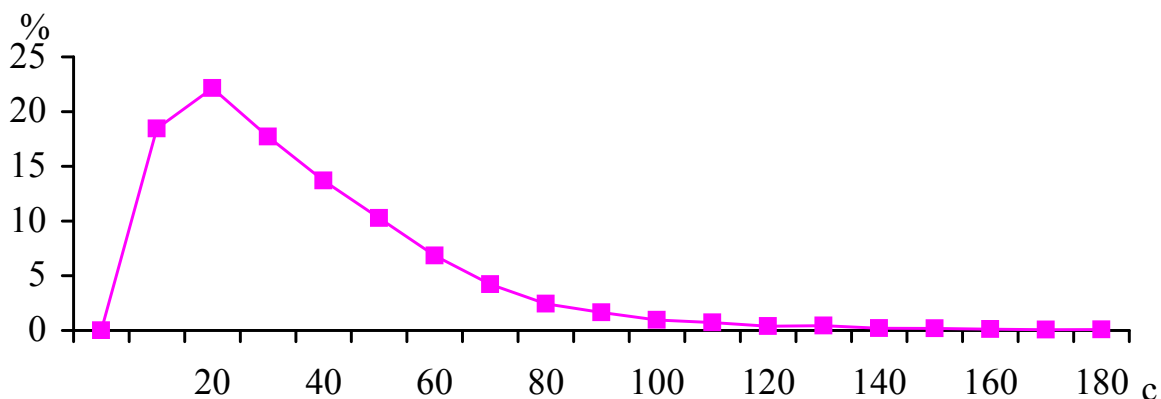


Рис. 23. Кислотная эритрограмма лягушек *R. ridibunda Pall.* в физиологических условиях

Максимальная скорость гемолиза наблюдалась на 20-й с и составила  $22,15 \pm 1,76\%$  гемолизированных клеток. По функциональным свойствам отчетливо выделились три популяции клеток: популяция низкостойких клеток составила  $93,31 \pm 1,25\%$  с продолжительностью гемолиза 70 с, среднестойких –  $6,58 \pm 0,20\%$  с длительностью гемолиза 130 с и высокостойких –  $0,66 \pm 0,06\%$  и гемолизом до 180 с. Среднее время гемолиза – 170 с; эритрограмма асимметричная; до 30-й секунды скорость гемолиза максимальная. Присутствие в периферическом русле трех разностойких популяций эритроцитов свидетельствует об их функциональной неоднородности.

Анализ научной литературы показывает, что для кроветворения лягушек характерна многоочаговость. В эритропозе помимо костного мозга участвуют также селезенка, краевая подкапсульная зона печени, кишечник. Гемопоз может протекать также в периферическом русле (Ж.А. Медведев, 1972; Д.Х. Хамидов и соавт., 1978).

Как показали наши исследования, основную часть клеток составила низкостойкая популяция (быстроразрушающаяся), что связано, вероятно, со структурно-функциональными особенностями эритроцитарной мембраны лягушек (М.Ю. Скоркина и соавт., 2004; М.Ю. Скоркина, А.С. Зеленцова, 2004а; М.Ю. Скоркина, А.С. Зеленцова, 2006). Полученный экспериментальный материал не противоречит существующему мнению о том, что эритроцитам лягушек свойствен динамический тип старения, характерный для старения обновляемых клеток (Ж.А. Медведев, 1973). По сравнению с эритроцитами других видов, жизненный цикл эритроцитов лягушки более продолжительный и превышает 230 сут (Ж.А. Медведев, 1972); у жаб до 800-1400 сут и почти совпадает с продолжительностью жизни самих животных (P.D. Atland, K.C. Grace, 1962). Следовательно, старение эритроцитов по своему характеру приближается к старению неделящихся специализированных клеток организма. Эритроциты лягушек способны к обновлению белков ядра и негемоглобиновых белков цитоплазмы. О высокой биохимической и биологической «полноценности» эритроцитов земноводных косвенно свидетельствует их участие в иммунологических реакциях, в частности, установлена способность клеток к фагоцитозу бактерий, проникающих в кровь (А.А. Заварзин, 1953; P. Prunesco, 1971).

У отдельных особей многоочаговость кроветворения и функциональная гетерогенность эритроцитарной популяции подтверждаются наличием на кислотной эритрограмме двух пиков: первый – на 20-й с, отражающий популяцию низкостойких клеток (23,3%) с явно выраженным периодом сферуляции; второй – на 70-90-й с, включающий популяцию среднестойких клеток (40,0%). Популяция высокостойких клеток составила 37,3% с максимумом гемолиза на 100-й с (рис. 24, особь № 1).

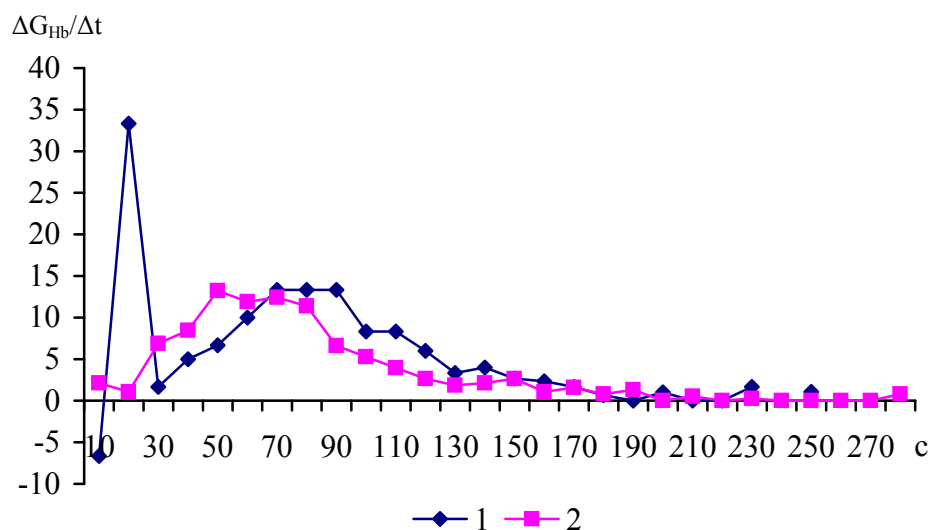


Рис. 24. Индивидуальные особенности кислотной резистентности эритроцитов крови лягушек (объяснение в тексте)

Нами отмечена активация эритропоэза у отдельных лягушек, находящихся в состоянии анабиоза (см. рис. 24, особь № 2) – пик гемолиза низкостойкой популяции клеток смещен вправо (50 с), эритрограмма уплощена и растянута. Среднее время гемолиза у особей № 1 и № 2 составило соответственно 120 и 145 с.

Характер изменения осмотической устойчивости эритроцитов крови лягушек соответствовал возрастным особенностям клеток эритроцитарной популяции, установленным нами методом построения кислотных эритрограмм. Эритроциты обладают повышенной осмотической устойчивостью. Критическая точка резистентности соответствовала осмоляльности 0,2% раствора хлорида натрия (рис. 25).

Точка минимальной устойчивости отмечалась при концентрации раствора хлорида натрия 0,60%, при которой 96,8% клеток резистентны. В точке максимальной гипотонии (0,2% раствор

хлорида натрия) устойчивы 43,1% клеток (Е.А. Липунова, М.Ю. Скоркина, А.С. Зеленцова, 2004б; Е.А. Липунова и соавт., 2005; М.Ю. Скоркина, А.С. Зеленцова, 2004).

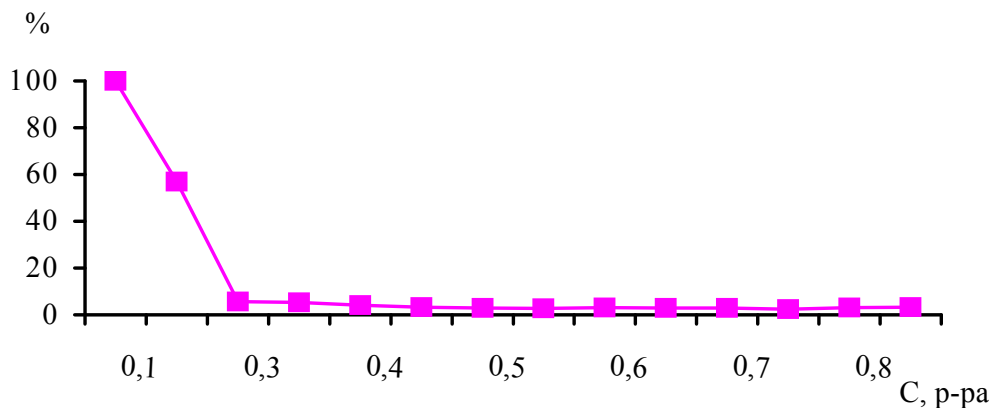


Рис. 25. Осмотическая эритрограмма лягушек (физиологические условия)

В основе осмотической резистентности эритроцитов лежат их устойчивость к гипотоническому набуханию и способность клеток красной крови к регуляторному восстановлению объема, контролируемого сигнальными молекулами, в том числе катехоламинами (А.В. Муравьев, В.С. Шинкаренко, 2003; S. Tuvia et al., 1999; S. Hilario et al., 1999; D.W. Knowles et al., 1999). Установлено присутствие на мембране эритроцитов  $\alpha$ - и  $\beta$ -адренорецепторов (R.J. Lef-kowitz, 1978; G. Sager, S. Jacobsen, 1985; J. Sundquist et al., 1992). Мембрана земноводных содержит систему  $\beta$ -адренорецепторов, и активность некоторых ионтранспортирующих систем контролируется катехоламинами (Н.И. Агалакова, 1996; Г.П. Гусев, Т.И. Иванова, 2003).

Инкубация эритроцитов с адреномиметиком адреналином ( $4,5 \cdot 10^{-7}$  ммоль·л<sup>-1</sup>, 15 мин,  $t = 25^\circ\text{C}$ ) привела к снижению гемолитической стойкости клеток. Анализ кислотных эритрограмм, отражающих липидную разнокачественность мембран популяции эритроцитов, позволяет заключить, что  $93,8 \pm 1,02$  и  $93,31 \pm 1,25\%$  в популяции составляют клетки пониженной стойкости (с гемолизом до 70 с);  $9,02 \pm 0,14$  и  $6,58 \pm 0,20\%$  – средней стойкости (гемолиз до 130 с) и  $0,31 \pm 0,05$  и  $0,66 \pm 0,06\%$  – эритроциты повышенной стойкости (время гемолиза – до 180 с) соответственно в опытной и контрольной пробах. Эритрограммы асимметричны, скорость гемолитического процесса максимальна на 20-й с, кото-

рой соответствует разрушение большей части низкостойких клеток; в опытной пробе эритроциты менее резистентны. В обеих пробах гемолиз начинается через 10 с и заканчивается на 160 с в опытной и на 180 с – в контрольной. Ширина интервала гемолиза в опытной и контрольной пробах – соответственно 150 и 170 с. Сужение интервала гемолиза происходит преимущественно вследствие увеличения скорости гемолитического процесса на 20-й с: высота максимума эритрограммы лягушек опытной пробы на 7,4% выше, чем в контрольной (А.С. Зеленцова, 2004) (рис. 26).

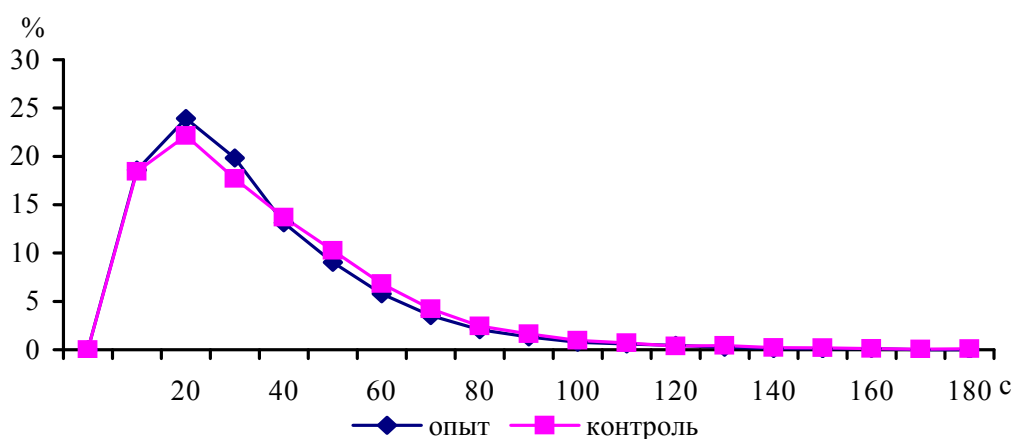


Рис. 26. Кислотные эритрограммы лягушек при сочетанной адреналиновой и гипотонической нагрузках

Полученные данные отражают одноочаговость эритропоза у лягушек в состоянии анабиоза и преобладание в периферической крови зрелых форм клеток. Снижение стойкости эритроцитов под влиянием адреналиновой нагрузки в наших опытах связано с особенностями организации адреналового регуляторного механизма. В исследованиях *in vivo*, проведенных Н.А. Троицкой (1967) на кроликах, установлены две стороны в эффектах гормона на красные клетки крови при разовом (однократном) воздействии в дозе  $0,20 \text{ мг} \cdot \text{кг}^{-1}$ : повышение стойкости эритроцитов в первые 30 мин после инъекции и уменьшение – в более позднее время наблюдения. Продолжительное введение гормона (в той же дозе в виде эмульсии с 0,5 мл масла) вызывало увеличение стойкости эритроцитов. Анализируя эти данные, автор приходит к выводу, что метод кислотных эритрограмм позволяет характеризовать свойства эритроцитов, циркулирующих в кровяном русле: так же, как и при осмотическом гемолизе, устойчивость красных клеток крови к ки-

слотному гемолизу зависит от свойств мембраны и особенностей внутриэритроцитарных метаболических процессов.

Косвенно адреналин может влиять на проницаемость мембраны эритроцита через изменение концентрации глюкозы в крови. Избыток глюкозы, как известно, приводит к гликозилированию белков мембраны эритроцита (спектрина, гликофорина и белка полосы 3) и гемоглобина. При этом меняется конформация гемоглобина (повышается доля HbA<sub>1c</sub> от общего гемоглобина крови), что снижает деформабельность красных клеток. Снижению пластичности эритроцитов способствует также интенсификация полиолового пути метаболизма глюкозы, приводящая к накоплению в клетках сорбитола. Изменение внутриэритроцитарного метаболизма приводит к осмотическому дисбалансу, нарушению барьерной функции мембраны, увеличению ее проницаемости для липидов, кислых мукополисахаридов, катионов (В.А. Галенок и соавт., 1987).

У некоторых подопытных лягушек обнаружена активация эритропоэза: появление на эритрограмме нескольких пиков, отражающих наличие в периферической крови разностойких клеток, и увеличение до 200 с времени гемолиза (рис. 27). Наблюдаемые эффекты мы связываем с особенностями функционального состояния эритрона и эритропоэза у отдельных особей.

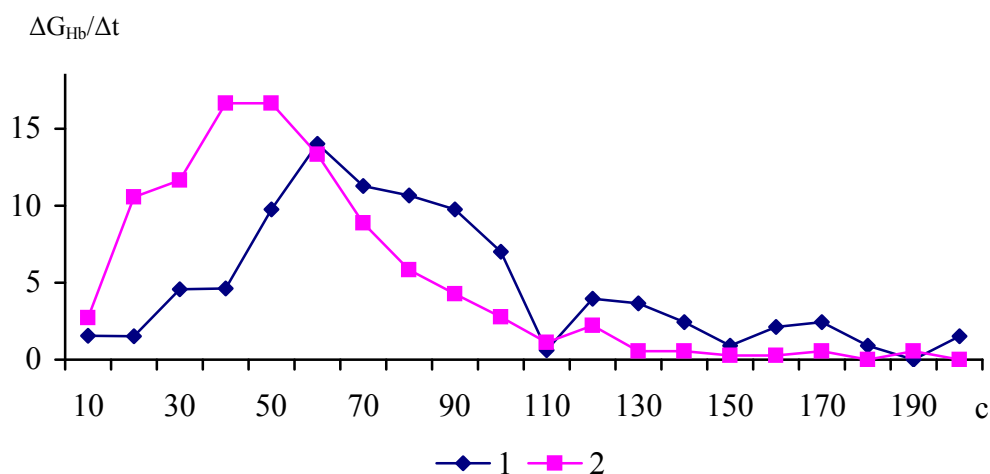


Рис. 27. Индивидуальные особенности кислотной резистентности эритроцитов крови лягушек *R. ridibunda* Pall. (особи № 1 и №2)

Осмотическая стойкость эритроцитов крови лягушек опытной пробы в точке максимальной гипотонии (0,2% раствор NaCl) на 20,9% выше, чем в контрольной (рис. 28).

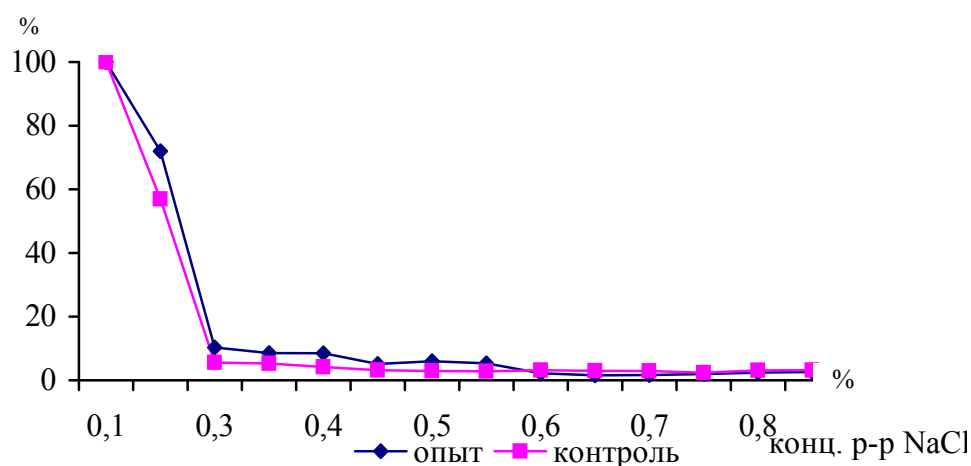


Рис. 28. Осмотическая резистентность эритроцитов крови лягушек под влиянием адреналиновой и гипоосмотической нагрузок

Ускорение гемолитического процесса мы связываем со структурно-функциональными изменениями мембран под влиянием адреналина, ростом в эритроцитарной популяции процентной доли широкоэллиптических клеток (*magnulocytus*), имеющих большую площадь поверхности и обладающих значительным количеством сквозных гидрофильных пор, по которым вода диффундирует в клетку (Е.А. Липунова, М.Ю. Скоркина, 2004; 2006; М.Ю. Скоркина, А.С. Зеленцова, 2004; Е.А. Липунова, М.Ю. Скоркина, А.С. Зеленцова, 2006; 2007).

Адреналин посредством эффекта «растекания на мембране» приводит к изменению физико-химического состояния липидной фазы в сторону большей ее жидкостности, а следовательно, и подвижности как липидных, так и белковых молекул мембраны (М.Н. Перцева, 1989).

Феномен «обволакивания» эритроцитов катехоламинами при стрессе описывают П. Резницкий и соавт. (P. Resnitzky et al., 1972).

Увеличение проницаемости мембраны и изменение механизмов трансмембранного переноса ионов отражается на морфометрических и биометрических индексах клеток и их устойчивости к гипотонии (Е.А. Липунова, М.Ю. Скоркина, А.С. Зеленцова, 2005).

После инкубации суспензии эритроцитов с адреналином ( $4,5 \cdot 10^{-7}$  ммоль·л<sup>-1</sup>, 15 мин,  $t=25^{\circ}\text{C}$ ) клетки помещали в гипоосмотическую среду (0,2 % раствор хлорида натрия). В ходе часовой экспозиции через каждые 30 с осуществляли видеорегистрацию и компьютерный анализ морфологического профиля клеток, ис-



пользуя анализатор изображений «Видео-Тест-Мастер-Морфология» (Санкт-Петербург, 2000). Определяли максимальную и минимальную оси клетки, рассчитывали коэффициент элонгации (эксцентricности), средний объем, толщину и площадь поверхности мембраны. Биометрические индексы определяли по предложенному нами способу (патент № 2234701, 2004). Контролем служили эритроциты, также помещенные в 0,2% NaCl, но не инкубированные с адреналином.

Через 30 с экспозиции при незначительном увеличении объема эритроцита прирост поверхности мембраны составил 57,9% ( $p < 0,001$ ); характер отклонения резервных возможностей мембраны (RVM) и регуляторные свойства /возможности клеток (RVK) в опыте и контроле отличались незначительно; коэффициент резервной поверхности (KRS) был выше в опыте на 58,1% ( $p < 0,001$ ). Через 180 с прирост RVM составил 53,0%, KRS понижился на 17,5% ( $p < 0,001$ ), а RVM – возросли на 94,1% ( $p < 0,05$ ). Увеличение RVM составило 7,2; 8,4; 10,0 и 48,8 % , а понижение KRS – на 14,8; 13,5; 9,3 и 5,4% ( $p < 0,001$ ) соответственно через 270, 600, 900 и 3600 с. Объем клетки и площадь поверхности мембраны снижались, и только через один час отмечено повышение объема на 5,5 % и площади поверхности – на 6,7%. Адреналин способствовал повышению каталазного числа (на 12,0%) на фоне ингибиции перекисной резистентности. Следовательно, мембранотропные эффекты адреналина проявлялись в стабилизации и снижении устойчивости мембран к гипоосмотическим нагрузкам и кислотным гемолитикам на фоне активации антиоксидантных систем (А.С. Зеленцова, 2007; Е.А. Липунова, М.Ю. Скоркина, А.С. Зеленцова, 2004; 2005; 2007).

**3.5.2.2. Резистентность эритроцитов крови птиц.** Тесты на резистентность, проведенные нами на птицах (петухи кросса «Иза Браун»), показали качественную разнородность эритроцитарной системы, обусловленную возрастными особенностями клеток. Кривая распределения эритроцитов по их стойкости в физиологических условиях (рис. 29) отражает одновременное присутствие в крови нескольких принципиально различающихся между собой популяций клеток.

В приведенной эритрограмме можно выделить три максимума (пика), которые отражают скорость гемолитического про-



цесса и соотносятся со стойкостью клеток: максимум высокостойких клеток выявлен на 5,5-й мин, их процентная доля в общей популяции клеток составляет  $12,89 \pm 2,74\%$ ; среднестойких – на 4-й мин ( $13,67 \pm 2,74\%$ ); низкостойких – на 2,5-й мин ( $12,36 \pm 2,16\%$ ) гемолиза. Начинается процесс через 1,5 мин, заканчивается – на 6,5-й мин. Ширина интервала гемолиза составляет 5,0 мин. Появление нескольких максимумов – признак двойственного и неравномерного кроветворения (И.И. Гительзон, А.И. Терсков, 1959), что мы связываем с особенностями новообразования эритроцитов у птиц и сохранением у взрослых особей черт эмбрионального кроветворения. Кроме того, для костномозгового эритропоэза птиц свойственно интраваскулярное происхождение. Основным источником образования эритроцитов – эндотелиальные клетки синусов костного мозга. Процессы созревания и дифференцировки эритроцитов происходят в просвете сосудов костного мозга (И.А. Болотников, Ю.В. Соловьев, 1980).

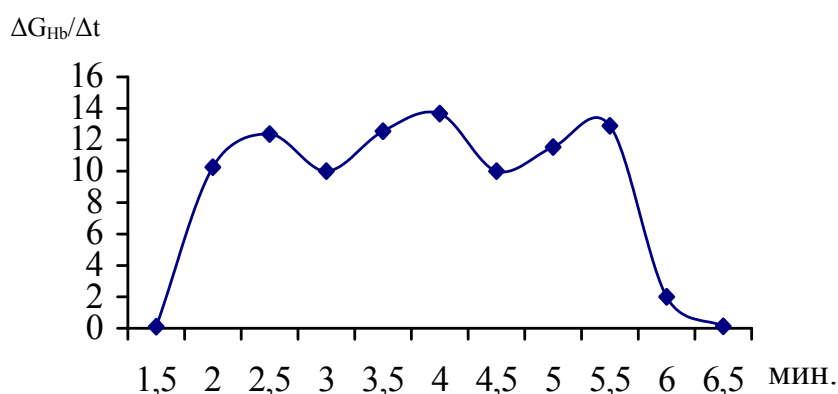


Рис. 29. Дифференциальная кислотная эритрограмма крови петухов в физиологических условиях

Сравнительное изучение возрастной динамики эритроцитарной популяции птиц и млекопитающих методом построения эритрограмм выявило их общность, несмотря на морфологические различия клеток эритроидного ряда.

В наблюдаемой нами разновозрастной кинетике эритроцитарной популяции в физиологических условиях тест на осмотическую резистентность эритроцитов дополняет показатели кислотных эритрограмм (рис. 30). Установлено, что критическая точка резистентности крови птиц, т. е. концентрация NaCl, при которой еще не наблюдается полного лизиса клеток, как и у млекопитающих,

соответствует осмоляльности 0,55% раствора NaCl и отражает группу среднестойких эритроцитов. Границу минимальной резистентности определяют старые эритроциты, а максимальной – молодые (Л.М. Фридман, 1957; Я.Д. Ужанский, 1968).

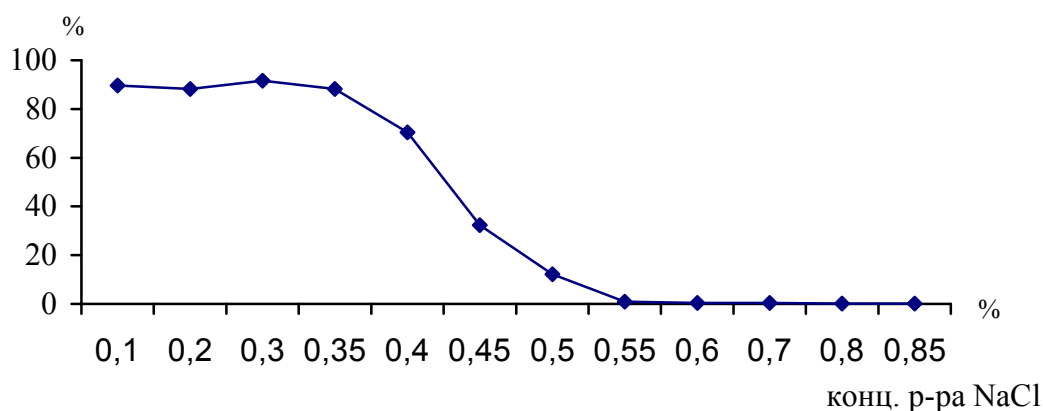


Рис. 30. Осмотическая эритрограмма крови петухов в физиологических условиях

Осмотическая резистентность отражает проницаемость эритроцита для различных веществ и ее зависимость от формы клетки и свойств мембраны (Т.С. Истманова и соавт., 1973). Гипотоническое окружение может провоцировать разрыв клеточной мембраны вследствие механического повреждения. В физиологических условиях осмотическая стойкость клеток – величина достаточно постоянная, но может изменяться при старении клетки, повышении ее функциональной активности, в условиях патологии или дополнительных воздействий на организм (В.П. Бондаренко и соавт., 1985; 1990). При относительно стабильных условиях основной причиной мембранного разрыва выступают не механические, а биохимические повреждения мембраны (W. Bolton, M.F. Perutz, 1970).

По нашим данным, у птиц в фоновых исследованиях 0,08% клеток эритроцитарной популяции дестабилизируются в физиологическом растворе (0,85% NaCl), и зона резистентности, характеризующая разницу между физиологическим раствором и точкой наименьшей резистентности, отсутствует. Поскольку процентная доля этих клеток незначительна, при анализе осмотических эритрограмм (в физиологических условиях) за точку минимальной резистентности мы приняли клетки, устойчивые в 0,60% растворе NaCl, что составило 99,6% всех клеток. Даже при высокой гипотонии раствора не происходил полный гемолиз эритроцитов с образованием «лаковой» крови.

При экстремальных воздействиях в кровотоке обнаруживаются клетки пониженной резистентности. Результаты наших исследований отражают развитие у птиц экстремального эритродиереза как стереотипной реакции системы красной крови на стрессоры, играющей важную роль в механизмах адаптации и компенсации при гипоксии, сопровождающей стресс-реакции.

В качестве модели экстремального воздействия мы избрали десинхроноз, создаваемый искусственным нарушением (инверсией) фотопериода (12С:12Т): 3-сут чередование 12-часовых периодов освещенности (с 20<sup>00</sup> до 18<sup>00</sup> ч) и затемнения (с 8<sup>00</sup> до 20<sup>00</sup> ч) с последующим переводом птиц на естественный ритм освещенности (Е.А. Липунова и соавт., 1993; Т.А. Погребняк, Е.А. Липунова, 2001; Т.А. Погребняк, Е.А. Липунова, Т.М. Воробьева, 1991; Т.А. Погребняк, 2006). Выбор этой модели обусловлен тем, что для птиц свет является доминирующим синхронизатором суточной ритмики процессов жизнедеятельности, и взрослые птицы обладают особо высокой чувствительностью к любым изменениям светового периода. Инверсия вызывает у птиц нарушение рефлекторной деятельности мозга, изменение гормонального гомеостаза, вегетативных и эмоционально-поведенческих реакций.

В процессе постстрессовой реабилитации (1–29-е сут) выявлен экстремальный эритродиерез. На кислотной эритрограмме по сравнению с контрольной смещен пик и поднято левое крыло, укорочена ширина основания и достоверно сокращена продолжительность гемолиза (рис. 32). Данные осмотического гемолиза отражают увеличение процентной доли клеток, не выдерживающих даже минимальной гипотонии – в 0,7% NaCl устойчивы лишь 33,0% клеток эритроцитарной популяции, остальные – либо имеют дефекты в мембране, либо подвергаются лизису (рис. 31) (Е.А. Липунова и соавт., 2003).

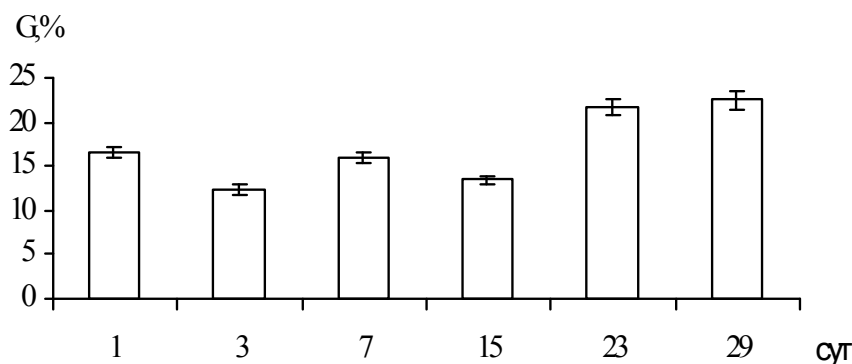


Рис. 31. Относительное количество гемолизированных клеток (% к контролю) в точке аутогемолиза (0,7% NaCl)

Кислотные эритрограммы характеризуют однофазность структурных изменений, обусловленных снижением барьера проницаемости для  $H^+$ -ионов, что выражается в смещении эритрограммы стрессируемой птицы левее контроля в первые 7 суток (рис. 32, 33). Следовательно, в постстрессовый период страдают белки мембран и в кровотоке присутствуют клетки с пониженной резистентностью (С.Г. Резван и соавт., 2001, 2002).

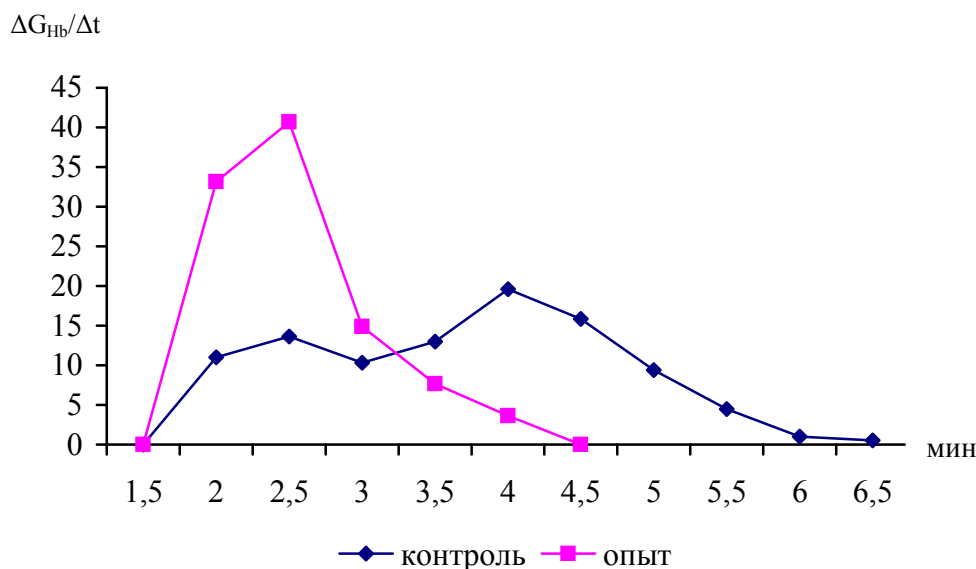


Рис. 32. Дифференциальные кислотные эритрограммы крови петухов (1-е сут после отмены хронофизиологической нагрузки)

На 29-е сутки кислотная резистентность эритроцитов приближалась к контрольному уровню, и восстанавливался белковый компонент мембран. Эффект нормализации отмечался на фоне повышения числа эритроцитов со скрытыми структурными нарушениями (до 84,7 % эритроцитов разрушаются в 0,55% NaCl) и высокой аутогемолитической активностью старых низкостойких форм (до 21% клеток разрушаются в 0,7% NaCl).

Первые 7 суток хронофизиологической адаптации мы характеризуем как инерционный период, в ходе которого накапливались скрытые нарушения на фоне повышенной кислотной устойчивости; их проявление обнаруживалось лишь спустя две недели (см. рис. 31).

Как показали исследования (Е.А. Липунова, М.Ю. Скоркина, 2001, 2002, 2006), стрессирование активизирует костномозговое кроветворение и в кровотоке вымываются молодые эритроциты с пониженной стойкостью. Отсутствие высокостойких форм (см.

рис. 32) обусловлено усилением гемолитических свойств крови, развитием аутоиммунных реакций, а также продукцией при стрессовом эритропоэзе функционально несовершенной популяции клеток. Таким образом, подтверждается физиологическая закономерность – при экстремальных воздействиях включаются механизмы, регулирующие не только количественный уровень, но и качество продуцируемых эритроцитов.

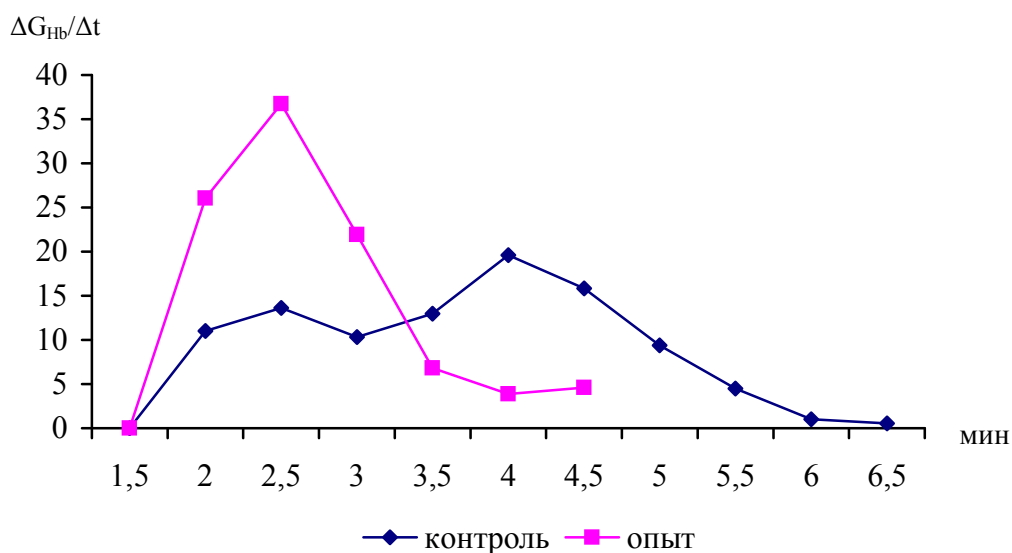


Рис. 33. Дифференциальные кислотные эритрограммы крови петухов (7-е сут после отмены хронофизиологической нагрузки)

Пониженную резистентность эритроцитов к гемолитикам мы связываем с особенностями метаболизма птиц. Известно, что межвидовые различия в количественном выражении и функциональных свойствах продуцируемых клеток демонстрируют одну из форм адаптации организма в окружающей среде, сложившуюся в связи с особенностями экологии вида и, как эволюционно более целесообразную, закрепленную в последующих поколениях (П.А. Коржуев, 1964; Д.И. Гольдберг и соавт., 1973; А.И. Клиорин, Л.А. Тиунов, 1974). Количество разрушенных эритроцитов зависит от их исходной генетически детерминированной резистентности (Я.И. Пухова, 1980; Я.И. Пухова и соавт., 1978; Исследование системы крови в клинической практике, 1997).

Осмотические эритрограммы позволили выявить в точке аутогемолитических процессов (0,7% NaCl) скрытые повреждения, вероятно, обусловленные либо стрессовыми пробоями в липидном бислое, либо изменениями в структуре липидов биомем-

бран, синтезированных в условиях стресс-эритропоэза. Как известно, для оценки состояния мембранного аппарата эритроцитов успешно применяются методы определения проницаемости мембран (ПЭМ). При этом показано, что динамика ПЭМ сочетается с другими признаками дестабилизации мембраны – изменение сорбционной способности эритроцитов (ССЭ) и повышение концентрации внеэритроцитарного гемоглобина (ВЭГ) (Г.П. Мокшанова и соавт., 2003; Е.А. Липунова, М.Ю. Скоркина, 2006). Кроме того, все эти показатели объективно отражают тяжесть развивающегося токсикоза, информация о котором необходима, например, для выбора терапии и повышения ее эффективности (М.А. Михайлович и соавт., 1993; Д.С. Додхоев, 1998).

Методика определения ПЭМ основана на способности мочевины проникать через клеточные мембраны путем диффузии, равномерно распределяясь во вне- и внутриклеточном пространстве. Высокая концентрация мочевины в среде инкубации создает диффузию ее в клетки, что вызывает осмотический шок. О количестве разрушенных клеток судят по степени гемолиза эритроцитов (Д.С. Додхоев, 1998).

В 1-е сутки после отмены хронофизиологической нагрузки проницаемость эритроцитарных мембран для мочевины (ПЭМ) была повышенной по сравнению с контролем на 73-97% (в растворах различной концентрации мочевины). О высокой повреждаемости мембран свидетельствует увеличение концентрации внеэритроцитарного (плазменного) гемоглобина (на 70,3%;  $p < 0,001$ ), при этом сорбционные свойства эритроцитов (ССЭ), являясь показателем их восстановительной способности, снижались (на 9,7%), но в пределах недостоверных с контролем различий. По-видимому, при стрессе повышается жесткость мембраны вследствие конформационных перестроек в ее белково-липидном бислое (Е.А. Липунова, М.Ю. Скоркина, 2004).

В сосудистом русле на мембрану эритроцита влияет комплекс гуморальных факторов; уровень гормонов и метаболитов существенно возрастает при экстремальных состояниях. Например, у птиц при стрессе отмечается гипертрофия гипофизарно-надпочечниковой системы и резкое повышение секреции адаптивных гормонов – адренокортикотропного (АКТГ) и кортикостерона (В.И. Прилуцкий, 1964); кортикостерон уже в 1-е сут стрессирования «заменяется» более активной формой – гидрокортизоном (Реакция адреналовой системы ..., 1976). Кроме от-

меченных гормонов в срочную защиту включается также симпатoadреналовая система (САС) – повышаются тонус симпатического отдела ВНС и продукция катехоламинов. Прирост в крови концентрации кортикостероидов обуславливают изменения картины крови, а катехоламины инициируют белковый катаболизм ферментных систем дыхания и гликолиза, что установлено в исследованиях *in vitro* на эритроцитах млекопитающих животных (Исследование системы крови в клинической практике, 1997).

Из метаболитов актуальны  $\text{CO}_2$ ,  $\text{NO}$ , глюкоза. Уровень последней у петухов при стрессе возрастает (И.А. Болотников и соавт., 1983; Е.А. Липунова, 1999). Гипергликемия сопровождается изменением молекулярного состава липидного бислоя мембраны эритроцитов: увеличиваются отношение холестерол / фосфолипиды, содержание сфингомиелина и лизофосфатидилхинона, понижается концентрация фосфатидилэтаноламина, что приводит к увеличению жесткости мембраны и понижению деформабельности эритроцитов (В.А. Галенок и соавт., 1987; V. Lipovace, 1982).

Анализируя особенности ПЭМ, можно отметить увеличение проницаемости мембраны в первые 15 сут реабилитационного периода (рис. 34). Наблюдаемый эффект можно связать с усилением метаболических процессов и активацией перекисного окисления липидов (ПОЛ) и белков (ПОБ) при адаптации к экстремальному воздействию. Адаптивные или повреждающие эффекты в условиях целого организма реализуются опосредованно через мембранные системы клеток. Полагают, что интенсификация процессов СРО в первую очередь оказывает влияние на эритроцитарные мембраны, что подтверждается результатами исследования осмотической резистентности эритроцитов в присутствии сывороток различной степени окисленности (Е.В. Ройтман, 2001).

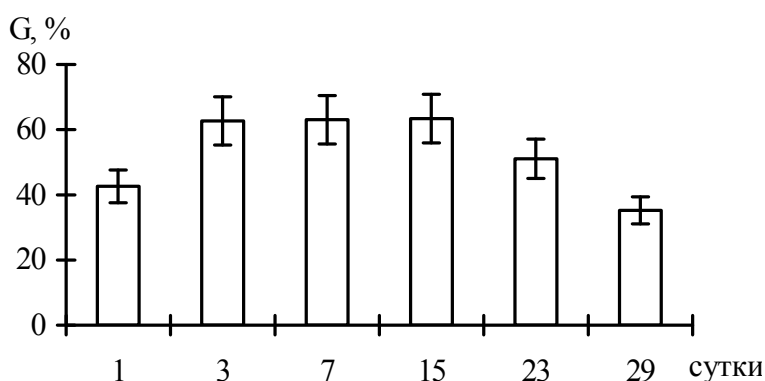


Рис. 34. Процент гемолизированных клеток относительно контроля при модификации 1,8% раствором мочевины

Не исключается также, что стрессовые воздействия приводят к сдвигам в функциональной активности мембран, которые сопровождаются конформационными перестройками в структуре их жирнокислотного состава. Показано, что чем больше в мембране ненасыщенных жирных кислот, тем она более стойкая, при этом жирные кислоты в молекулах фосфолипидов – наиболее интенсивно обновляемые компоненты, их синтез находится под генетическим контролем и зависит от воздействий окружающей среды (Я. Кагава, 1985).

Таким образом, неспецифический адаптационный синдром клеточной системы (АСК) на примере эритроцитарной популяции у петухов проявляется в увеличении ПЭМ, снижении ССЭ и росте ВЭГ в первые 7 сут адаптационного периода и играет важную роль в создании предпосылок для формирования срочной адаптации к возникающей в организме гипоксической ситуации. При повышенной функциональной нагрузке на эритроциты в экстремальных условиях нарушается барьерная функция мембраны. В частности, активация фосфолипаз и ПОЛ мембран способны нарушить гомеостаз и биоэнергетику эритроцитов, усилить процессы деструкции клеток и элиминации низкоустойчивых популяций.

Под влиянием стрессового воздействия сдвиги в системе эритрона обнаруживаются в форме функциональной неоднородности различных субпопуляций клеток. Первоначально адаптивная реакция проявляется в изменении общей функциональной способности системы на фоне тонкой регуляции ее функций, которая находится под жестким физиологическим (нейрогуморальным) контролем.

На начальном этапе адаптации к экстремальным воздействиям реализуется срочный, но не совершенный набор адаптивно-компенсаторных реакций, проявляемых, в частности, активацией функциональных резервов, направленных на поддержание адекватной жизнедеятельности организма.

Так, после 3-сут инверсии фотопериода в ходе 29-сут адаптации в системе крови нами установлены:

- 1) регенераторная реакция, проявляющаяся в увеличении концентрации эритроцитов, гемоглобина и показателя гематокрита в 1-е сут адаптационного периода. На 23-е сут процессы носи-



ли стабилизирующий характер, что обусловило снижение количества эритроцитов на фоне роста гемоглобина, гематокрита и содержания гемоглобина в эритроците;

2) устойчивая тенденция увеличения размеров клеток с нарастанием их гиперхромности;

3) активация эритропоэза и поступление в кровоток незрелых форм эритроцитов – продукция ретикулоцитов возрастает на 66,3% ( $p < 0,001$ ) с укороченным (до  $1,93 \pm 0,25$  ч) периодом полувыведения их из кровотока;

4) усиление (в 1-ю неделю адаптационного периода) процессов эритродиереза и развитие гемолитической ситуации, присутствие в кровотоке низкостойких форм. Омоложение состава крови начинается на 15-е сут после отмены хронофизиологической нагрузки.

5) увеличение проницаемости эритроцитарных мембран, внеэритроцитарного гемоглобина и снижение сорбционной емкости эритроцитов в первые 7 сут реабилитационного периода.

Особенности генеза ответной реакции системы крови при стрессе зависят от характера стрессирующих воздействий.

В качестве модели хронического стресса мы использовали перегруппировку птицы и увеличение плотности посадки в клетках до  $570 \text{ см}^2$  на голову. Неизбежными последствиями перенаселения (скупченности) являются накопление газообразных продуктов жизнедеятельности и нарушение кондициональных условий, вызывающих интоксикацию организма метаболическими продуктами жизнедеятельности, и гипокинезия, которой сопутствуют многогранные изменения в различных системах, прежде всего в сердечно-сосудистой и дыхательной, осуществляющих транспорт кислорода и метаболических продуктов. В условиях гипоксии активируются обменные процессы, возрастает кислородный запрос, инициируются нервно-гуморальные механизмы регуляции – и организм, таким образом, оказывается в новых условиях дыхания, при этом максимальная нагрузка возлагается на систему красной крови.

При хронической гипоксии адаптация сопровождается изменением содержания гемоглобина и его свойств, интенсивности дыхания и анаэробного гликолиза (З.Н. Барбашова, 1977, 1981), изменяются геометрия и реология красных клеток крови, играющих решающую роль в транспорте респираторных газов

(П.А. Коржуев, 1973; В.В. Зинчук, 2001; Е.А. Липунова, М.Ю. Скоркина, 2004; А.В. Муравьев, Л.Г. Зайцев, 1998). В этих условиях понижается активность каталазы эритроцитов и, таким образом, облегчается проявление эндогенной перекиси водорода, вызывающей окислительное разрушение гемоглобина, образование телец Гейнца, эритродиерез (помимо клеток, запрограммированных на быструю гибель (Д.Г. Натан, К.А. Зиф, 1994; Н.В. Рязанцева и соавт., 2005), в результате которого образуются продукты распада эритроцитов, инициирующих эритропоэз (Я.Г. Ужанский, 1968).

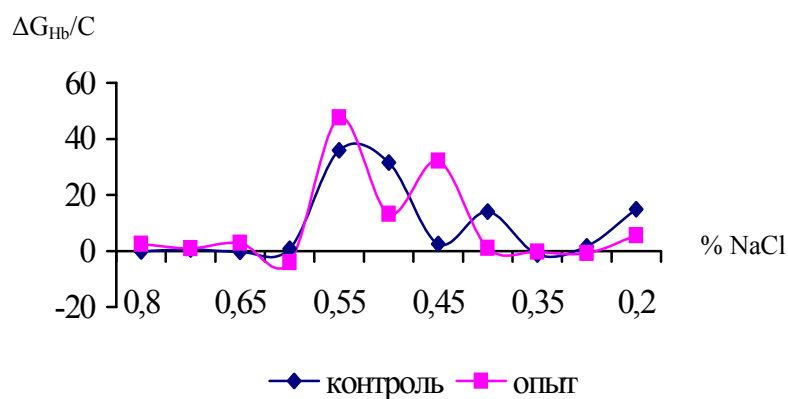
Длительное стрессирование нарушает динамическое равновесие в системе эритрона.

Данные анализа кислотных и осмотических эритрограмм демонстрируют усиление процессов эритродиереза уже на 2-е сут стрессирования. Сокращение в подопытной группе птиц ширины интервала гемолиза (до 3 мин, в контроле – 4 мин), а также увеличение скорости гемолитического процесса (на 27,3%;  $p < 0,05$  на 2-й мин) соответствуют относительному увеличению в периферической крови старых и/или физиологически изношенных клеток вследствие количественного снижения эритропоэза или сокращения жизненного цикла эритроцитов. Архитектура кислотной эритрограммы – поднятие левого крыла – свидетельствует о снижении барьера для  $H^+$ -проницаемости и повреждении мембранных белков.

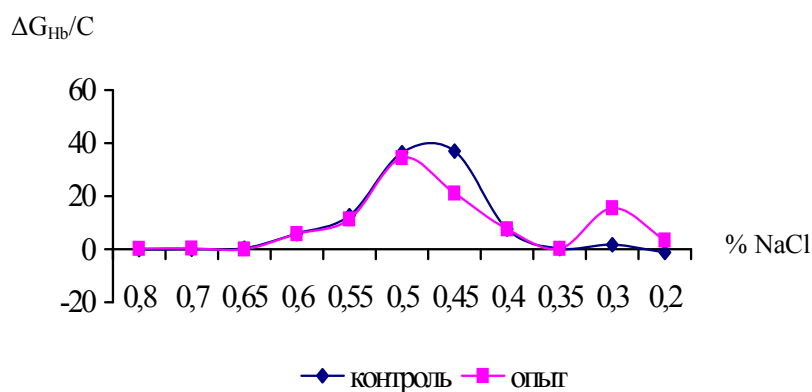
На осмотической эритрограмме через 48 ч от начала стрессирования скорость гемолитического процесса в критической точке резистентности у подопытной птицы выше, чем у контрольной (рис. 35, а), а смещение второго максимума влево (в сторону меньшей стойкости) свидетельствует о снижении резистентности юных эритроцитов на фоне смещения вправо (в сторону большей стойкости) – среднестойких клеток.

В последующие сутки наблюдаются смещение осмотических кривых в сторону повышенностойких клеток и омоложение популяции (см. рис. 35, в-ж). На 3-и сут стрессирования ширина интервала кислотного гемолиза у подопытных птиц возрасла на одну минуту, при этом максимальная скорость гемолиза на 13,4% ( $p > 0,05$ ), а среднее время гемолиза на 0,25 мин были выше, чем в контроле.

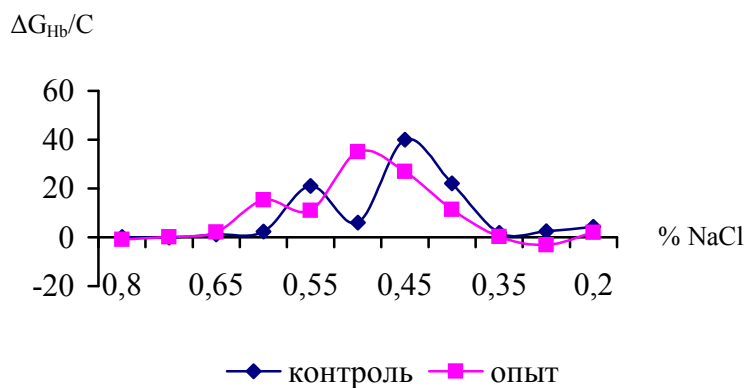
Сдвиг кислотных и осмотических эритрограмм влево характеризует наличие большого процента низкостойких форм и изменения качественного состава красной крови, позволяющие оценить уровень и соотношение процессов эритропоэза и эритродиереза и дифференцировать эритроциты по их физиологическому возрасту.



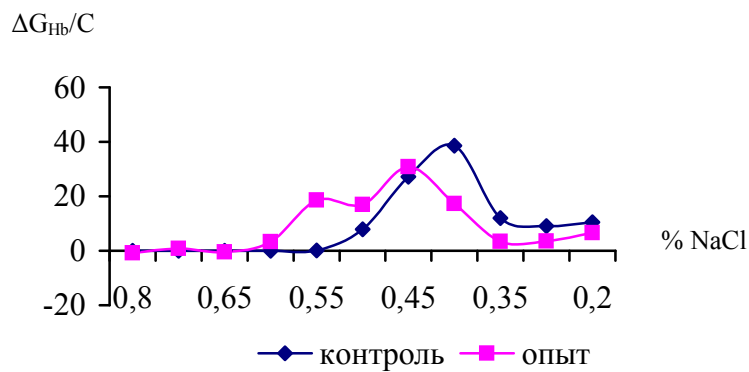
а)



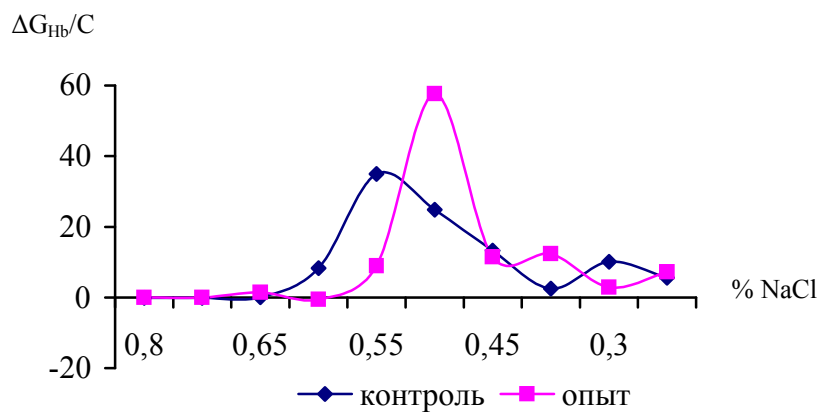
б)



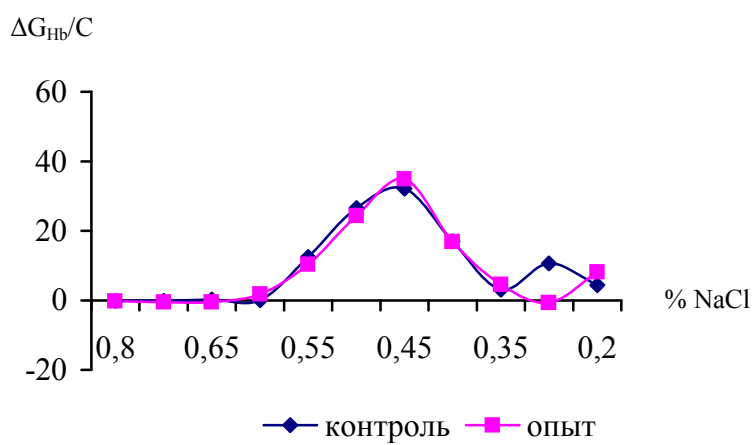
в)



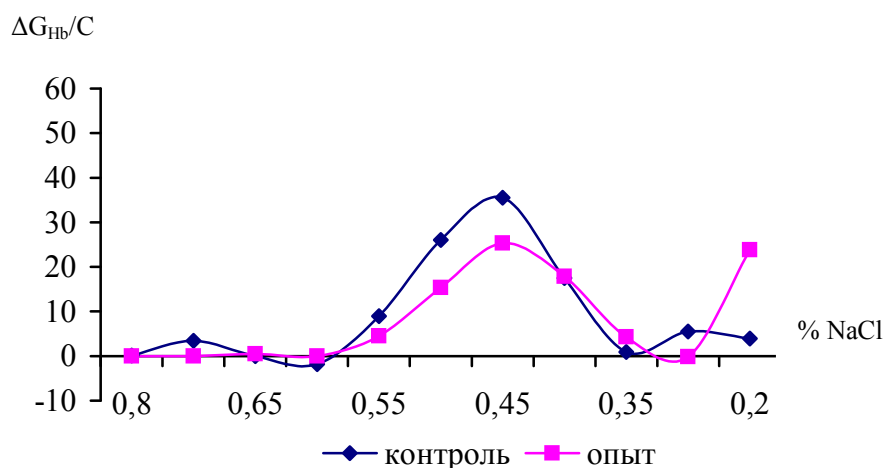
г)



д)



е)



ж)

Рис. 35. Дифференциальные осмотические эритрограммы крови петухов на 2-е сутки (а), 3-и (б), 7-е (в), 10-е (г), 15-е (д), 23-и (е) и 29-е сутки (ж) непрерывного стрессирования

Отсутствие в условиях экстремального эритродиереза на кислотной эритрограмме высокостойких форм клеток (при интенсификации эритропоеза) мы объясняем ускоренным созреванием эритроидных клеток, сопутствующим всякой значительной активации эритропоеза. При напряженном эритропоезе эритроидные клетки у птиц созревают ускоренно и даже перескакивают этапы при терминальных делениях (А.С. Кульминская и соавт., 1980). В итоге продуцируются популяции эритроцитов, отличающихся по своим морфологическим, биохимическим и биофизическим свойствам от нормальных, что приводит к ускоренной их разрушаемости.

При моделировании стресса в экспериментальных условиях отчетливо прослеживается вариабельность эффектов у подопытных животных. Выраженность психоэмоционального напряжения коррелирует с эмоциональной реактивностью животных и особенностями их высшей нервной деятельности. М.М. Хананашвили (1987) отмечает, что ограничение двигательной активности животных ведет к развитию информационного невроза, более того, высшие животные (обезьяны, собаки) в этих условиях стремятся к самостимуляции отдельных структур мозга, например, латерального гипоталамуса, способствующих повышению резистентности организма (и систем) к стрессирующим воздействиям.

Птицы одного вида также обладают неодинаковой устойчивостью к воздействию стресс-факторов, проявляемой в особенностях поведения и выраженности функционирования системы гипофиз – кора надпочечников: у одних особей в крови быстро нарастает уровень адренокортикотропного гормона (АКТГ), кортикостероидных гормонов, и наступает гипертрофия коры надпочечников, инволюция тимико-лимфатической системы; у других – гормональные реакции на те же самые стрессвоздействия выражены слабее. В связи с этим различают птиц, чувствительных и устойчивых к стрессу. Устойчивые к стрессу птицы способны переносить воздействия большей интенсивности и продолжительности, чем стрессчувствительные (И.А. Болотников и соавт., 1983).

Таким образом, представленный фактический материал позволяет сделать вывод о том, что в основе клеточной лабильности главным фактором выступают селективная проницаемость мембраны для ионов, управляемая системами ионного транспорта. Независимо от уровня организации животного первоначальная стереотипная реакция на стрессовое воздействие связана с понижением резистентности эритроцитов и активации гемолиза. Периоду регенерации предшествует образование в каждой клетке (ткани) веществ – аутокатализаторов, – имеющих свойство стимулировать ее собственную функцию (А.А. Богомолец, 1957), т. е. активация общего катаболизма и непременно эритродиереза.

### **3.5.3. Реактивность клеток крови**

**3.5.3.1. Методы определения.** Реактивность клетки – функциональное, сугубо физиологическое ее свойство отвечать на внешние воздействия, превышающие известный индивидуальный уровень активного состояния, определенной формой деятельности – усиленным метаболизмом, ускоренным делением, движением, электрическим импульсом.

Одна из ведущих проблем клеточной физиологии и лабораторной диагностики – оценка функционального состояния организма человека и животных. Современная медицина и биология располагают достаточно широким арсеналом средств диагностики

отклонений функций от должных гомеостатических параметров. Так, в качестве показателя активности эритропоэза и эритропоэтической деятельности костного мозга применяется методика подсчета количества ретикулоцитов в периферической крови; проследить основные этапы этой деятельности можно посредством изучения пунктатов костного мозга. Достаточно надежный показатель репродуктивной способности костного мозга – общее количество эритроцитов в периферической крови. Используя его в качестве индикатора регенераторной активности эритробластической части костного мозга и экспериментально определив полупериод гибели эритроцитов, рассчитывают общую возмещенную потерю эритроцитов, которая информирует о том, какое количество клеток поступило в кровоток, что, по сути, отражает костномозговую продукцию эритроцитов.

Особого внимания заслуживают способы оценки функционального состояния организма по степени резистентности клеток крови к гемолитикам, основанные на различии в скорости вовлечения в гемолитический процесс разновозрастных, а следовательно, различающихся и функционально, субпопуляций эритроцитарной системы. В последние годы степень применения этих способов не только в научных исследованиях, но также в клинической лабораторной диагностике существенно возросла.

Значимость этих методик в оценке функционального состояния эритрона была подтверждена в наших исследованиях, выполненных в сравнительно-физиологическом плане (Е.А. Липунова, М.Ю. Скоркина, 2004; Патент РФ № 2227280, 2004; Патент РФ № 2268463, 2006). Тем не менее, необходимость поиска нового высокоспецифичного способа, отличающегося точностью, информативностью, доступностью и быстротой выполнения, актуальна и в настоящее время. Тем более, теория клеточного формообразования по-прежнему интенсивно обсуждается специалистами в области патофизиологии клетки. В клинических исследованиях установлено, что параметры распределения эритроцитов и других форменных элементов крови по размерам и значению среднего объема частицы находятся в корреляционной зависимости с тем или иным заболеванием.

Таким образом, глубокие исследования в области клеточной физиологии дают основание создавать новые системы диагностики и мониторинга заболеваний, в которых основным параметром

оценки функционального состояния целого организма является соответствие между скоростью изменения формы клетки и типом воздействия на нее. Следовательно, скорость клеточного ответа на различные воздействия будет зависеть от функционального состояния системы кроветворения и отдельных ее звеньев.

Объективным маркером развития адаптационных процессов на клеточном уровне служит расчет коэффициента резервной поверхности эритроцитов (CRS) (Патент РФ № 2268463, 2006). Его определение позволяет выявлять среди морфологически однородных эритроцитов крови функционально полноценные и деструктивные формы. Нами экспериментально установлено, что коэффициент резервной поверхности для функционально активных (полноценных) эритроцитов крови амфибий и птиц при изменении условий среды имеет обратную функциональную зависимость по отношению к коэффициенту эксцентricности, отражающего форму эритроцита (Патент РФ № 223701, 2004). Установлено, чем ближе форма ядросодержащегося эритроцита крови к узкоэллиптической, тем ниже значение коэффициента эксцентricности. Индикатором функциональных нарушений в мембране при максимальном набухании эритроцита служит увеличение до значения выше единицы коэффициента резервной поверхности, рассчитанного как отношение прироста площади поверхности эритроцитов, инкубированных в сильно гипотонической среде (0,2% раствор хлорида натрия), к аналогичным значениям клеток, выдержанных такое же время в изотоническом растворе (0,65% NaCl).

**3.5.3.2. Функциональная морфология эритроцитов крови лягушек в условиях блокады кальциевых каналов.** Верапамил, выступая кальциевым блокатором фенилалкиламиновой природы, широко используется в качестве эффективного препарата при лечении сердечно-сосудистых заболеваний. Первоначально основной механизм его действия рассматривали с позиций селективного ингибирования потенциалуправляемых кальциевых каналов L-типа. Однако на неактивных клетках крови – тромбоцитах установлено, что блокаторы потенциалуправляемых каналов способны подавлять рецепторзависимый подъем цитоплазматического  $Ca^{2+}$  (P.V. Avdonin et al., 1988). Существует предположение, что  $Ca^{2+}$ -блокирующее действие верапамила не связано с активацией протеинкиназы C, поскольку он угнетает активность этого



фермента. По другим данным, высвобождение внутриклеточного  $\text{Ca}^{2+}$  под действием инозитол-1,4,5-трифосфата (через ионные каналы) не ингибируется классическим блокатором кальциевых каналов – верапамилом (S.M. Seiler et al., 1987).

Одним из возможных механизмов подавления входа  $\text{Ca}^{2+}$  в невозбудимую клетку считают развитие деполяризации мембраны, обусловленное током одновалентных катионов: блокирование потока  $\text{K}^+$  в клетку при стимуляции потока  $\text{Cl}^-$  из клетки. В частности, показано, что в максимальной дозе (50 мкМ) верапамил деполяризует плазмолемму тромбоцитов на 30 мВ (П.В. Авдонин, В.А. Ткачук, 1994). На Т-лимфоцитах установлено, что блокаторы, деполяризуя мембрану, уменьшают электродвижущую силу и снижают ток  $\text{Ca}^{2+}$  (C. Randiamampita et al., 1991).

Учитывая разноречивый характер экспериментальных данных, известных в литературе, мы поставили задачу дать оценку эффектам универсального блокатора (верапамила) на эритроциты лягушки в период весенне-летний вспышки гемопоэза, обусловленной высокой активностью костного мозга. Более того, именно в этот период, по данным биохимического профиля плазмы, амфибии занимают более близкую позицию к млекопитающим по преобладанию полиеновых кислот  $\omega$  6-ряда над таковыми  $\omega$  3-ряда (E.N. Maldonado et al., 2002; С.А. Забелинский и соавт., 2006). К тому же, в физиологических условиях  $\text{K}^+$ - $\text{Cl}^-$ -котранспорт, являясь реверсивным, обеспечивает основную часть поступления  $\text{K}^+$  в клетки и обладает высокой чувствительностью к изменению температуры (Н.И. Агалакова, 1996). В связи с этим мы не исключаем возможность управления верапамилом транспорта одновалентных катионов и развития деполяризации эритроцитарной мембраны при отсутствии в ней потенциалуправляемых каналов.

Кривая, отражающая в динамике реактивность эритроцитов крови при экспозиции их в изотоничной среде с добавлением 0,25% раствора верапамила представлена на рис. 36.

Самая высокая реакционная способность характерна для эритроцитарной субпопуляции, с высоко подвижными внутриклеточными элементами цитоскелета, которые вовлекаются в ответ на изменение среды через 150 с от начала инкубации.

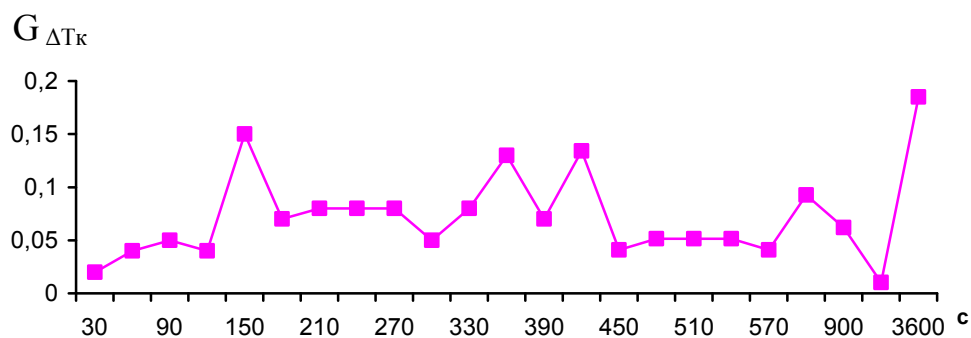


Рис. 36. Динамика клеточного ответа на верапамиловую нагрузку

В следующие временные периоды инкубации (180 – 900 с) большая часть функционально полноценных эритроцитов крови, но с пониженной мембранной проницаемостью остается интактной и не вовлекается в ответную реакцию на измененную среду. В течение этого временного интервала осуществляется жесткое поддержание внутриклеточного гомеостаза посредством регуляторного воздействия на интенсивность транспортных ионных потоков.

Заключительная волна реактивности отмечена на 3600 с экспозиции, когда в ответ на измененную среду включается функционально «изношенная» часть эритроцитарной субпопуляции. Полагаем, что этот процесс также обусловлен развитием внутриклеточных механизмов регуляции. По литературным данным, в присутствии антагонистов  $\text{Ca}^{2+}$  (верапамила) начинается самопроизвольный ток ионов  $\text{Na}^+$  в клетку (П.В. Авдонин, В.А. Ткачук, 1994).

Наблюдаемые циклические процессы в динамике формы и коэффициента резервной поверхности эритроцитов, а также генерации пиков, обусловленных появлением функционально неактивных клеточных форм, выступают показателем конкурентных трансмембранных потоков ионов и, как следствие, развития деполяризации их мембраны. По скорости выраженности отмечена различная динамика, возможно, обусловленная последовательным вовлечением в процесс различных транспортных каналов. Мы полагаем, что в первые 150 с инкубации, при формировании комплекса рецептор – верапамил, поток  $\text{Na}^+$  в эритроцит зависит от диффузионной компоненты. В последующие 180 с  $\text{Na}^+$  поступает через  $\text{Ca}^{2+}$ -каналы и  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -обменник; повышение осмо-

ляльности внутренней среды эритроцита ведет к его сжатию, что подтверждается снижением коэффициента эксцентричности и коэффициента резервной поверхности клетки. В следующие 120 с выражен активный внутриклеточный ответ, связанный с выкачиванием  $\text{Na}^+$  из эритроцитов посредством  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -насоса и с участием  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -обменника, поскольку, по литературным данным (Н.И. Агалакова, 1996), он обеспечивает реверсивный ток ионов, ведущий к росту коэффициентов эксцентричности и резервной поверхности эритроцитов, направленных на восстановление объема.

Как показали исследования, биологический эффект лекарственного средства (препарата), с позиций кинетической теории, определяется скоростью образования комплекса рецептор – молекула лекарственного средства и скоростью его диссоциации (В.В. Гацура, А.С. Саратиков, 1977; П.В. Сергеев, Н.Л. Шимановский, 1987; А.Г. Камкин и соавт., 2007)). Исходя из этого, мы проанализировали реактивность клетки – универсальной живой системы с позиций динамики морфометрического профиля эритроцитарной популяции.

Оказалось, первоначальная сорбция верапамила на клеточной поверхности была связана с эффектом изменения формы клеток: через 30 с инкубации коэффициент эксцентричности в опытной группе увеличивался на 7,17%, а в последующие 30 с – снижался на 5,44% ( $p < 0,001$ ) по сравнению с контролем (табл. 16, 17).

Таблица 16

**Морфометрический профиль эритроцитов крови лягушек**  
( в опытной группе проб;  $n=20$ )\*

Время инкубации, с	$\varepsilon$	$V, \text{ мкм}^3$	$S, \text{ мкм}^2$	$T, \text{ мкм}$	CRS
1	2	3	4	5	6
30	$0,767 \pm 0,01$	$2187,05 \pm 146,17$	$833,48 \pm 40,61$	$5,35 \pm 0,17$	$0,841 \pm 0,04$
60	$0,712 \pm 0,02$	$2350,89 \pm 112,10$	$868,04 \pm 32,35$	$5,63 \pm 0,15$	$0,876 \pm 0,03$
90	$0,721 \pm 0,02$	$2454,23 \pm 71,17$	$901,51 \pm 18,05$	$5,76 \pm 0,08$	$0,909 \pm 0,02$
120	$0,740 \pm 0,01$	$2479,87 \pm 80,34$	$910,19 \pm 18,87$	$5,73 \pm 0,08$	$0,919 \pm 0,02$

1	2	3	4	5	6
150	0,687±0,01	2711,01±106,59	979,04±24,55	6,12±0,09	0,988±0,02
180	0,683±0,02	2726,07±99,95	961,88±21,57	6,05±0,12	0,971±0,02
210	0,691±0,02	2398,86±127,86	876,85±33,35	5,75±0,14	0,885±0,03
240	0,72±0,016	2500,77±92,48	910,53±21,78	5,79±0,10	0,919±0,02
270	0,709±0,02	2740,28±112,09	966,50±24,40	6,00±0,11	0,975±0,03
300	0,715±0,02	2523,16±84,44	918,15±18,89	5,82±0,09	0,927±0,02
330	0,767±0,01	2623,67±84,27	950,11±19,91	5,76±0,08	0,959±0,02
360	0,750±0,02	2659,18±104,54	958,66±59,03	5,81±0,11	0,968±0,06
390	0,747±0,02	2674,73±77,87	960,74±17,44	5,84±0,01	0,967±0,02
420	0,713±0,02	2745,13±97,629	996,36±21,61	6,02±0,09	1,005±0,02
450	0,741±0,01	2369,13±93,60	881,37±21,58	5,65±0,10	0,889±0,02
480	0,751±0,01	2443,53±90,557	902,29±22,13	5,67±0,09	0,911±0,02
510	0,734±0,02	2459,99±116,46	901,96±26,80	5,71±0,12	0,911±0,03
540	0,722±0,02	2494,24±152,16	903,30±37,99	5,74±0,15	0,912±0,04
570	0,729±0,01	2445,32±89,82	898,23±21,83	5,74±0,08	0,907±0,02
600	0,735±0,01	2682,77±105,52	955,79±24,14	5,91±0,09	0,965±0,02
900	0,745±0,02	2440,60±121,92	899,52±31,14	5,63±0,14	0,908±0,03
1800	0,736±0,01	2799,23±101,98	983,93±22,93	5,98±0,10	0,993±0,02
3600	0,742±0,001	2938,60±107,33	1016,08±23,65	6,07±0,10	1,025±0,024

*Примечание:*  $\varepsilon$  – коэффициент эксцентricности,  $V$  – объем эритроцита,  $S$  – площадь поверхности,  $T$  – толщина,  $CRS$  – коэффициент резервной поверхности эритроцита. \* Статистическая значимость достоверности различия с исходными данными при  $p < 0,001$  (критерий Стьюдента).

Таблица 17

**Морфометрический профиль эритроцитов крови лягушек**  
(в контрольной группе проб;  $n=20$ )\*

Время инкубации, с	$\varepsilon$	$V$ , $\mu\text{м}^3$	$S$ , $\mu\text{м}^2$	$T$ , $\mu\text{м}$	$CRS$
1	2	3	4	5	6
30	0,713±0,015	109,89±5,18	112,67±3,48	2,01±0,03	0,929±0,02
60	0,753±0,008	116,01±3,87	117,69±2,57	2,03±0,03	1,018±0,011
90	0,744±0,009	123,55±4,22	122,44±2,78	2,08±0,03	1,006±0,013
120	0,736±0,009	120,52±3,64	120,39±2,49	2,07±0,02	0,995±0,013
150	0,741±0,008	127,63±3,84	125,06±2,58	2,10±0,02	1,001±0,011
180	0,735±0,007	122,70±3,81	121,23±2,57	2,07±0,02	0,993±0,010
210	0,728±0,008	122,02±3,72	120,60±2,57	2,07±0,02	0,984±0,012

1	2	3	4	5	6
240	0,736±0,008	117,64±3,42	118,25±2,36	2,05±0,02	0,995±0,011
270	0,724±0,008	120,98±3,77	119,96±2,55	2,07±0,02	0,979±0,011
300	0,720±0,008	126,69±3,40	124,00±2,31	2,11±0,02	0,973±0,011
330	0,699±0,010	125,07±3,47	122,56±2,36	2,11±0,02	0,945±0,014
360	0,702±0,011	121,93±3,75	120,27±2,58	2,09±0,02	0,948±0,014
390	0,697±0,010	114,18±4,13	114,89±2,83	2,05±0,02	0,943±0,014
420	0,709±0,008	122,06±3,86	120,13±2,63	2,09±0,02	0,958±0,011
450	0,707±0,009	120,85±3,84	119,43±2,65	2,08±0,02	0,955±0,013
480	0,715±0,008	117,53±3,84	116,97±2,72	2,05±0,02	0,965±0,011
510	0,712±0,009	118,09±3,48	117,87±2,42	2,07±0,02	0,962±0,012
540	0,691±0,010	107,07±3,70	110,06±2,61	2,02±0,02	0,933±0,014
570	0,687±0,011	117,48±3,48	117,14±2,41	2,08±0,02	0,929±0,015
600	0,703±0,009	119,13±3,34	118,68±2,27	2,08±0,02	0,949±0,013
900	0,650±0,013	119,99±4,14	118,14±2,88	2,10±0,02	0,878±0,018
1800	0,661±0,013	116,69±3,48	116,66±2,49	2,10±0,02	0,893±0,018
3600	0,682±0,017	134,34±7,19	127,25±4,73	2,17±0,04	0,922±0,023

*Примечание:* обозначения, как в табл. 16.

Через 120 с экспозиции различий по форме между клетками опытной и контрольной проб крови не наблюдалось. Однако, начиная со 150 с коэффициент эксцентricности в опытной группе снижался на 7,29% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем, причем такая особенность сохранялась до 300 с инкубации. Затем коэффициент эксцентricности в опытной группе повышался на 8,86; 6,40 и 6,69% ( $p < 0,05$ ) соответственно на 330, 360 и 390 с.

Разница по форме клеток между контрольной и подопытной пробами исчезала к 420 с, в последующее время отмечался рост коэффициента эксцентricности в опытной пробе на 4,81% на 450 с и на 8,08% – к концу инкубации (3600 с;  $p < 0,05$ ; рис. 37).

Эффекты воздействия верапамила на геометрические параметры эритроцитов оказались следующие: площадь поверхности клеток, их объем и толщина в подопытной группе были достоверно выше контрольных значений (см. табл. 16 и 17). С позиций оценки реактивности и чувствительности эритроцита как основного транспортера кислорода и метаболитов, циркулирующего во внутренней среде организма, наблюдаемые эффекты вполне закономерны. Особенно это касается таких параметров, как пло-

щадь поверхности и объем клетки – их прирост в условиях *in vivo* способствовал бы более эффективной доставке препарата в органы-мишени.

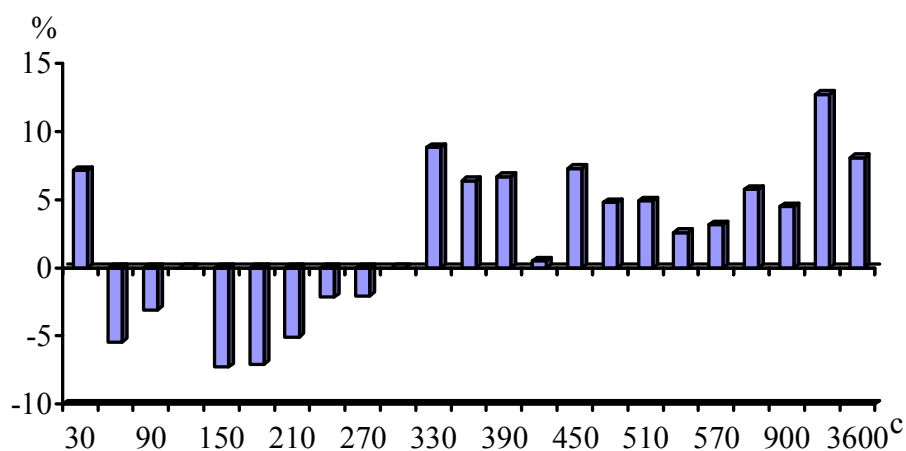


Рис. 37. Динамика разницы по коэффициенту эксцентricности эритроцитов (%) между опытной и контрольной пробами

Не исключено, что интегральный клеточный ответ на верапамил, проявившийся в увеличении площади поверхности, объема и толщины эритроцитов, произошел за счет внутренних резервов клетки, а именно – коэффициента резервной поверхности. Из табл. 16 и 17 видно, что CRS в опытной пробе высокодостоверно снижался по сравнению с контролем в первые минуты инкубации: через 30 с – на 7,43%, 60 с – на 13,52; 210 с – на 11,31; 300 с – на 4,01% ( $p < 0,001$ ). В последующий период инкубации отмечен достоверный прирост коэффициента резервной поверхности в опытной пробе: на 3,67; 3,46; 4,45 и 7,58% ( $p < 0,05$ ) соответственно на 330, 360, 390 и 420 с. Затем вновь коэффициент резервной поверхности уменьшался на 5,65; 4,04; 1,39% ( $p < 0,05$ ) на 450, 480, 570 с соответственно; с 600 с отмечен его рост и через 1 час экспозиции коэффициент резервной поверхности превысил контрольные значения на 11,27% ( $p < 0,05$ ; рис. 38).

Таким образом, характер взаимодействия верапамила с клеточной поверхностью и его эффекты на морфологию клеток красной крови лягушек свидетельствует о том, что пороговое фармакологическое действие блокатора на мембрану начинает проявляться через 330 с и длится 120 с; в этот временной отрезок увеличиваются коэффициент эксцентricности и коэффициент резервной поверхности (см. рис. 37, 38).

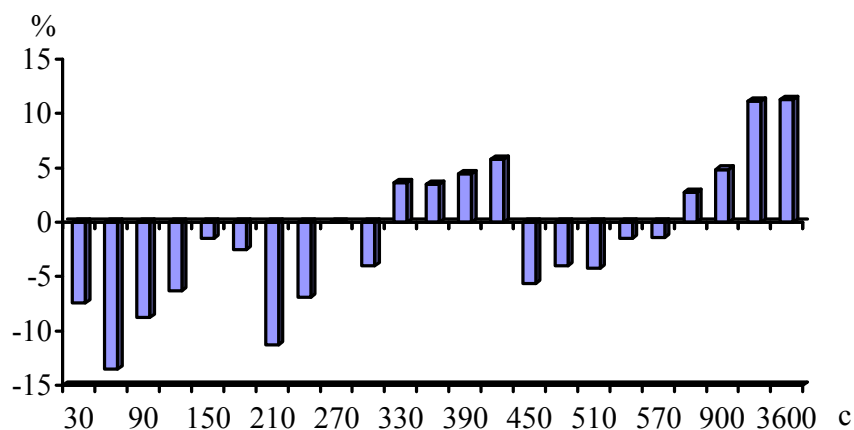


Рис. 38. Динамика разницы коэффициента резервной поверхности эритроцитов (%) между опытной и контрольной пробами

Блокада кальциевых каналов верапамилом индуцирует включение внутриклеточных адаптационных механизмов с участием внутриклеточного кальция, высвобождаемого из цитоскелета клеточных мембран и внутриклеточных органоидов. Появление функционально неполноценных форм клеток на 150 с экспозиции совпадает с влиянием повреждающего агента на популяцию старых клеток. Вторая волна вызвана включением внутриклеточных механизмов регуляции, развивающихся в связи с отсутствием экзогенного  $\text{Ca}^{2+}$ . По литературным данным, в присутствии антагонистов  $\text{Ca}^{2+}$  (верапамила) начинается самопроизвольный ток ионов  $\text{Na}^+$  в клетки (П.В. Авдонин, В.А. Ткачук, 1994). В эритроцитах лягушек *R. Ridibunda* установлены низкое содержание  $\text{Na}^+$  ( $12,2 \pm 0,8$  ммоль/л клеток) и высокая концентрация  $\text{K}^+$  ( $90,1 \pm 1,9$  ммоль/л клеток), при этом концентрация  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  в эритроцитах лягушек достоверно стабильна в разные сезоны года (Н.И. Агалакова и соавт., 1996). Таким образом, самопроизвольный ток  $\text{Na}^+$  по  $\text{Ca}^{2+}$ -каналам в присутствии кальциевого антагониста, снижающего сродство  $\text{Ca}^{2+}$  и блокирующего его вход, теоретически будет приводить к развитию деполяризации мембраны и изменению ее заряда.

В поддержании объема эритроцитов основную роль отводят ионам  $\text{K}^+$ , большая часть которых поступает в клетку через  $\text{K}^+$ -СГ-котранспорт (Н.И. Агалакова, 1996). Не исключено, что наблюдаемые нами циклические процессы в динамике формы клеток и их коэффициента резервной поверхности, а также появление пиков, связанных с массовой деструкцией клеточных мембран, являются

показателем конкурентных потоков ионов в клетку и, как следствие, развития деполяризации мембраны, причем по скорости выраженности наблюдается различная динамика, не исключено в связи с последовательным вовлечением в процесс целого спектра каналов переноса. Мы полагаем, что первые 120 с инкубации, пока устанавливается связь в комплексе рецептор – верапамил, поток  $\text{Na}^+$  в клетки зависит от диффузионной компоненты. В последующие 180 с  $\text{Na}^+$  поступает через  $\text{Ca}^{2+}$ -каналы и  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -обменник, в результате чего клетки сжимаются, что подтверждается снижением коэффициента эксцентricности и коэффициента резервной поверхности. В следующие 120 с развивается активный внутриклеточный ответ, связанный с выкачиванием  $\text{Na}^+$  из клетки посредством  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -насоса, и не исключено, что с участием  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -обменника (поскольку, по литературным данным, он обеспечивают реверсивный ток ионов), в результате чего увеличиваются коэффициент эксцентricности и коэффициент резервной поверхности клеток, эритроциты пытаются восстановить свою форму.

Фармакологический эффект, развивающийся в организме *in vivo*, начинается с клеточного уровня. Наиболее мобильной интегральной системой, вовлекаемой в реакцию, является периферическая кроветворная ткань. Эритроциты – универсальные транспортеры – будут моментально реагировать на введение химического вещества. В условиях *in vitro* мы моделируем ситуацию не просто транспортировки эритроцитами экзогенного вещества, но и инициируем фармакологическую реакцию, основанную на усилении или угнетении физиологических процессов, которые реализуются на базе определенной клеточной структуры.

Нами установлено, что первоначальная реакция на воздействие верапамила – снижение сорбционной способности эритроцитов вследствие адсорбции препарата на клеточной поверхности. По литературным данным, адсорбция характеризуется обратимостью, в основе ее лежат все типы непрочных связей: ван-дер-ваальсовы, водородные, ионные, дипольные. Поскольку опыт был поставлен *in vitro*, исключались движение крови по микроциркуляторному руслу и реализация механизма десорбции верапамила эндотелиальными стенками сосудов. В результате представилась возможность наблюдать прямые эффекты блокатора



Ca<sup>2+</sup>-каналов на эритроцитарные мембраны, т. е. влияние вещества после образования прочных ковалентных связей с клеточной поверхностью.

В ходе проведенных экспериментов установлена высокая чувствительность клеточной поверхности к действию кальциевого антагониста. Быстрота морфологических перестроек эритроцитарной популяции находилась в пределах 30 с, при этом в реакцию вовлекались либо *magnulocutys*, либо *teretiocutys*; *eliptocutys* реагировали через 330 с. Не исключено, что для эритроцитарной популяции форма клеток *eliptocutys* является афизиологической и появляется *in vitro* на стекле или в пробирке в условиях инкубации при измененной температуре, рН среды, отсутствии глюкозы и воздействии других факторов. Возможно, что вначале определенная субклеточная популяция адаптировалась к измененным факторам среды, а затем реагировала на верапамил, что отразилось на скорости реакции. С другой стороны, нельзя исключить предположения, что *eliptocutys* – физиологически зрелая и устойчивая субпопуляция эритроцитарной системы, поэтому имеет достаточно совершенный адаптационный резерв, участвующий в поддержании формы клетки, тогда на 330 с инкубации, когда эта субпопуляция вовлекается в реакцию, можно полагать функциональное истощение этого резерва.

В отношении динамики формы клеток и коэффициента резервной поверхности нами продемонстрирована цикличность. Первоначальная реакция связана с разнонаправленным характером эффектов – увеличением коэффициента эксцентricности на фоне снижения коэффициента резервной поверхности через 30 с инкубации. Впоследствии динамика этих параметров была однонаправленной и выражалась в снижении коэффициента резервной поверхности и коэффициента эксцентricности до 330 с, затем их увеличении в период с 330 до 420 с экспозиции и ростом коэффициента эксцентricности на фоне снижения коэффициента резервной поверхности до истечения времени инкубации.

Отмеченные флуктуации морфологии эритроцитов и их временную зависимость мы связываем с влиянием верапамила на конкурентные транспортные ионные потоки. По косвенному параметру (рН среды) нами установлена стимуляция Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>-обменника в эритроцитарных мембранах лягушек, в результате чего в среду активно выкачивается водород в обмен на Na<sup>+</sup>. Со-

гласно литературным данным, ингибирующее влияние антагонистов  $\text{Ca}^{2+}$  связывают с уменьшением деполяризации мембраны. Такая интерпретация была дана в работе С. Randiamampita et al. (1991) по ингибированию нитрендипином  $\text{Ca}^{2+}$ -входа в Т-лимфоциты. На тромбоцитах показано, что кальциевые антагонисты не блокируют, а модулируют рецепторуправляемые каналы, подавляя вход  $\text{Ca}^{2+}$  и активируя ток  $\text{Na}^+$ . В работах П.В. Авдониной, В.А. Ткачука (1994) отмечается, что такая ситуация создается вследствие уменьшения сродства каналов к  $\text{Ca}^{2+}$ , при этом в присутствии антагонистов начинается самопроизвольный ток  $\text{Na}^+$  в клетки, который ингибирует ток  $\text{Ca}^{2+}$ . Эта гипотетическая схема наиболее подходит для объяснения полученных нами результатов.

Сопоставив рассмотренные гипотезы, результаты опытов Н.И. Агалаковой (1996) по транспорту одновалентных катионов через эритроцитарные мембраны лягушек *Rana ridibunda* с собственными результатами, приходим к выводу, что верапамил действительно активирует работу  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -обменника, в итоге клетки сжимаются, что отражается на их геометрических характеристиках. Не исключено, что ток  $\text{Na}^+$  в клетку вызывает деполяризацию мембраны и смену ее заряда. Цикличность в изменении формы клеток как раз связана, по всей видимости, с одновременным включением транспортных мембранных каналов. Установлено, что поток  $\text{Na}^+$  в эритроцитах *Rana ridibunda* происходит за счет диффузионной компоненты, а также посредством активации  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -обменника. В то же время конкурентный ток  $\text{K}^+$  осуществляется через  $\text{Na}^+-\text{K}^+$ -насос,  $\text{K}^+-\text{Cl}^-$ -переносчик и диффузионную компоненту. Таким образом, включение различных ионных транспортеров отражается на форме клетки и поверхностном заряде ее мембраны. При этом физиологические эффекты верапамила на систему эритрона не выходят за пределы эволюционно выработанных физиологических функций и связаны с функционированием адаптационных клеточных механизмов на уровне транспортных ионных систем мембран.

**3.5.3.3. Функциональный профиль эритроцитарной системы лягушек при блокаде  $\beta$ -адренорецепторов.** Реактивность живых систем к фармакологическим агентам, широко применяемым в экспериментальной биологии и медицине, определяется спецификой метаболизма, структуры и нейрогуморальной регуляцией функций. С использованием фармакологических средств

воспроизводятся модели патологических состояний и создаются условия для анализа физиологических функций при отклонении гомеостатических параметров среды от оптимального для метаболизма уровня (В.В. Гацура, А.С. Саратиков, 1977).

Фармакологический эффект препарата, возникающий в целом организме, начинается с действия лекарственного вещества на клетки, изменяя их мембранную проницаемость, в связи с чем в качестве модели для изучения реализации внутриклеточных механизмов ионного обмена со средой, отражающихся на морфологии клетки, нами использовались эритроциты лягушек *Rana ridibunda*. По литературным данным, мембраны ядерных эритроцитов земноводных содержат систему  $\beta$ -адренорецепторов и активность некоторых ионтранспортирующих систем в клетках красной крови регулируется катехоламинами. Стимулирующее действие катехоламинов устраняется антагонистами  $\beta$ -адренорецепторов (Н.И. Агалакова, 1996).

Пропранолол является неизбирательным блокатором  $\beta$ -адренорецепторов, одновременно воздействуя на  $\beta_1$ - и  $\beta_2$ -адренорецепторы (В.Г. Граник, 2001). В литературе имеются сведения о наличии атипичных  $\beta$ -адренорецепторов в эритроцитах лягушек, которые обладают одновременным сходством с  $\beta_1$ - и  $\beta_2$ -адренорецепторами высших животных (П.В. Сергеев, Н.Л. Шимановский, 1987). Учитывая это, мы проанализировали динамику морфометрического профиля эритроцитов в гипотонической среде при преинкубации их с пропранололом. Установлено, что под влиянием пропранолола через 30 с снижается коэффициент эксцентricности на фоне резкого повышения толщины, площади поверхности и объема клеток (табл. 18, 19).

Наиболее значимые различия между опытной и контрольной пробами отмечались на 30, 120, 240 и 3600 с. Так, на 30 с в опытной пробе коэффициент эксцентricности снижался на 16,83% ( $p < 0,001$ ), а толщина, площадь поверхности и объем клетки возрастали соответственно на 64,43; 85,44; 94,55%, а коэффициент резервной поверхности под влиянием пропранолола снижался на 40,29% ( $p < 0,001$ ). Через 120 с инкубации коэффициент эксцентricности в опытной пробе снижался на 20,92% ( $p < 0,001$ ), толщина, площадь поверхности и объем клетки повышались на 61,97; 84,03; 94,03% ( $p < 0,001$ ), коэффициент резервной поверхности снижался на 34,32% ( $p < 0,001$ ) по сравнению с контрольной. На 240 с инкубации коэффициент резервной поверхности

повышался на 23,20%, толщина, объем и площадь поверхности возрастали соответственно на 63,46; 94,04; 84,43%; коэффициент эксцентричности снижался на 34,84% ( $p < 0,001$ ). К концу инкубации (3600 с) в опытной пробе коэффициент эксцентричности снижался на 15,39% ( $p < 0,001$ ), толщина, площадь поверхности, объем увеличивались на 60,47; 82,55; 92,74% ( $p < 0,001$ ), коэффициент эксцентричности снижался на 37,11% ( $p < 0,001$ ) по сравнению с контролем.

Таблица 18

**Морфологический профиль крови лягушек**  
(физиологические условия,  $n = 50$ )

Время инкубации, с	$\varepsilon$	S, $\mu\text{км}^2$	T, $\mu\text{км}$	V, $\mu\text{км}^3$	CRS
30	0,713±0,015	112,67±3,48	2,01±0,035	109,89±5,18	0,929±0,020
60	0,753±0,008	117,69±2,57	2,029±0,03	116,012±3,87	1,018±0,011
90	0,744±0,009	122,44±2,78	2,08±0,027	123,55±4,22	1,006±0,013
120	0,736±0,009	120,39±2,49	2,067±0,022	120,52±3,64	0,995±0,013
150	0,741±0,008	125,06±2,59	2,106±0,023	127,63±3,84	1,00±0,011
180	0,735±0,007	121,23±2,57	2,07±0,022	122,70±3,80	0,993±0,010
210	0,728±0,008	120,60±2,57	2,074±0,024	122,02±3,72	0,984±0,117
240	0,737±0,008	118,25±2,36	2,048±0,02	117,64±3,42	0,995±0,011
270	0,724±0,008	119,96±2,55	2,075±0,02	120,98±3,77	0,979±0,011
300	0,7200±0,008	124,00±2,31	2,114±0,019	126,69±3,40	0,973±0,011
330	0,699±0,010	122,56±2,36	2,12±0,019	125,071±3,46	0,945±0,014
360	0,702±0,011	120,27±2,58	2,094±0,021	121,92±3,75	0,948±0,014
390	0,697±0,01	114,89±2,83	2,054±0,023	114,18±4,13	0,943±0,014
420	0,709±0,008	120,12±2,64	2,093±0,022	122,06±3,86	0,958±0,011
450	0,707±0,009	119,43±2,65	2,08±0,022	120,85±3,84	0,955±0,013
480	0,715±0,008	116,97±2,72	2,054±0,02	117,53±3,84	0,965±0,011
510	0,712±0,009	117,87±2,42	2,067±0,021	118,09±3,48	0,962±0,012
540	0,691±0,010	110,06±2,61	2,019±0,022	107,07±3,70	0,933±0,014
570	0,688±0,011	117,14±2,41	2,081±0,020	117,48±3,48	0,929±0,015
600	0,703±0,009	118,68±2,27	2,087±0,019	119,13±3,34	0,949±0,013
900	0,650±0,013	118,14±2,88	2,105±0,021	119,98±4,14	0,878±0,018
1800	0,661±0,013	116,65±2,49	2,104±0,021	116,68±3,48	0,893±0,018
3600	0,682±0,017	127,25±4,73	2,17±0,039	134,34±7,19	0,922±0,022

*Примечание:*  $\varepsilon$  – коэффициент эксцентричности, S – площадь поверхности; V – объем, T – толщина, CRS – коэффициент резервной поверхности.

**Морфологический профиль крови лягушек  
под влиянием пропранолола (n = 200)\***

Время инкубации, с	$\epsilon$	S, $\mu\text{км}^2$	T, $\mu\text{км}$	V, $\mu\text{км}^3$	CRS
30	0,593±0,025	774,13±28,41	5,66±0,14	2014,63±114,02	1,56±0,057
60	0,582±0,029	773,77±32,662	5,65±0,15	2023,54±127,00	1,55±0,065
90	0,601±0,024	791,28±34,54	5,68±0,15	2095,30±139,97	1,59±0,069
120	0,582±0,032	753,67±50,80	5,45±0,29	2017,88±175,33	1,51±0,102
150	0,585±0,028	801,04±36,08	5,74±0,17	2137,45±141,72	1,610±0,072
180	0,566±0,021	709,82±30,88	5,43±0,14	1799,76±111,22	1,426±0,062
210	0,555±0,023	769,07±30,83	5,67±0,13	2019,68±113,43	1,546±0,061
240	0,566±0,024	759,67±29,18	5,61±0,12	1973,92±112,36	1,527±0,058
270	0,559±0,024	716,93±31,86	5,48±0,15	1814,44±122,80	1,44±0,064
300	0,589±0,024	684,00±29,63	5,30±0,14	1688,08±112,37	1,375±0,059
330	0,576±0,021	730,60±29,11	5,51±0,13	1859,94±106,84	1,468±0,058
360	0,604±0,025	647,68±32,63	5,13±0,17	1560,24±118,43	1,302±0,065
390	0,588±0,032	638,88±28,29	5,09±0,16	1519,46±104,98	1,284±0,057
420	0,549±0,025	648,31±26,29	5,24±0,12	1558,00±93,73	1,303±0,052
450	0,576±0,024	660,77±29,18	5,23±0,15	1610,35±107,54	1,328±0,058
480	0,598±0,024	652,50±30,03	5,16±0,15	1574,24±107,71	1,311±0,060
510	0,592±0,024	654,74±26,11	5,18±0,13	1578,26±92,86	1,316±0,052
540	0,577±0,023	623,53±29,15	5,06±0,15	1484,00±101,14	1,253±0,058
570	0,589±0,020	609,04±23,70	5,00±0,13	1419,21±78,67	1,224±0,047
600	0,55±0,026	689,84±24,69	5,38±0,12	1708,13±89,45	1,386±0,049
900	0,537±0,027	668,65±25,47	5,31±0,13	1633,74±93,92	1,344±0,051
1800	0,559±0,027	695,97±33,21	5,38±0,14	1739,35±128,25	1,398±0,067
3600	0,576±0,022	729,17±25,09	5,49±0,11	1851,38±92,81	1,466±0,050

*Примечание:* обозначения, как в табл. 18.

\* Статистическая значимость достоверности различия с исходными данными при  $p < 0,001$ ; критерий Стьюдента.

Наблюдаемые эффекты пропранолола на морфологический профиль эритроцитов мы связываем с влиянием блокатора на проницаемость эритроцитарной мембраны для ионов и изменением транспортных ионных потоков в клетку. В работах Н.И. Агалаковой (1996) показано ингибирование пропранололом транспорта  $\text{K}^+$  в эритроциты. При этом показано, что поток  $\text{K}^+$  в эритроцит лягушек вносит  $\text{Cl}^-$ -зависимый транспорт.  $\text{K}^+$ - $\text{Cl}^-$ -котранспорт обеспечивает

основную часть поступления  $K^+$  в клетку и участвует в регуляции внутриклеточного содержания ионов и объема клеток.

Таким образом, наблюдаемое нами резкое увеличение объема и потеря формы клеток, вероятно, связаны с ингибированием К-Сl-котранспорта. Указанный транспортный путь высокочувствителен к изменению температуры окружающей среды по сравнению с Na-K-АТФазой. В эритроцитах летних лягушек К-Сl-котранспорт будет первой мишенью для пропранолола. Увеличение объема клетки, площади поверхности и толщины в условиях действия пропранолола мы связываем с химической природой этого вещества и способностью его хорошо растворяться в липидах.

При связывании пропранолола с  $\beta$ -адренорецепторами происходит стабилизация мембраны за счет изменения транспорта ионов. В частности, пропранолол блокирует фосфорилирование G-белков цитоскелета, в результате чего поток кальция в клетку прекращается. Кроме того, учитывая, что кальциевые каналы эритроцитарных мембран являются рецепторуправляемыми (С.А. Сторожок и соавт., 1997), под влиянием пропранолола не происходит активация инозитол-1,4,5-трифосфата и поток кальция в клетку тормозится.

Реактивность эритроцитов крови лягушек в ответ на изменение состава среды при добавлении  $0,27 \cdot 10^{-3}$  ммоль/л пропранолола (неселективный блокатор  $\beta$ -адренорецепторов) отражена на рис. 39.

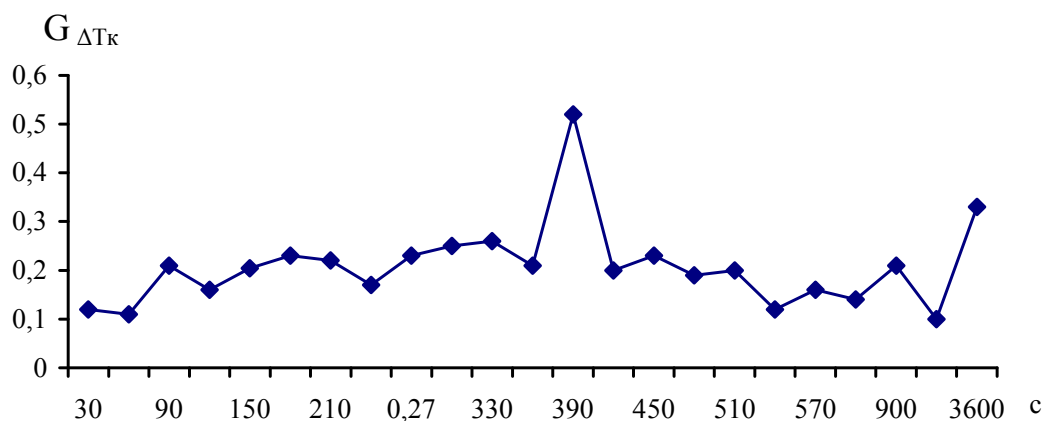
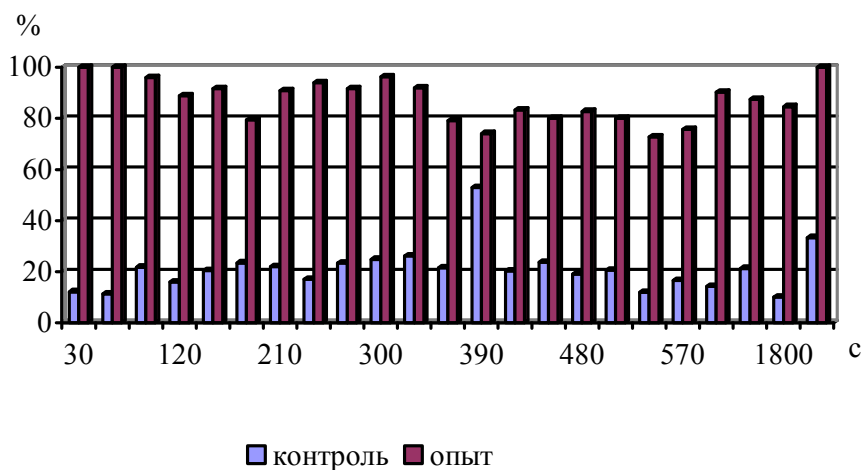


Рис. 39. Динамика клеточного ответа на блокаду мембранных  $\beta$ -адренорецепторов

Первая реакция эритроцитов отмечается через 90 с инкубации, в которую вовлекаются клетки с высокопроницаемой мембраной. По данным литературы (Н.И. Агалакова, 1996), показано ингибирование пропранололом транспорта  $K^+$  в эритроциты. К-Cl-котранспорт обеспечивает основную часть поступления  $K^+$  в эритроцит и участвует в регуляции внутриклеточного содержания ионов и объема клеток. Наблюдаемая реакционная способность эритроцитов на 90, 150 и 210 с связана с ингибцией К-Cl-котранспорта. Начиная с 270 с и по 450 с наблюдается следующая волна вовлечения эритроцитов в ответ на воздействие пропранолола, что связано с химической природой этого вещества и способностью его растворяться в липидах биологических мембран. В течение этого временного интервала пропранолол массово проникает через плазмолемму, изменяя вязко-эластические свойства липидного бислоя и блокируя деятельность  $\beta$ -адренорецепторов. Кроме того, в липидном бислое пропранолол образует дополнительные кластеры проницаемости. Заключительная волна реактивности эритроцитов наблюдается на 3600 с инкубации и совпадает с включением функционально активных эритроцитов.

Учитывая резкое повышение коэффициента резервной поверхности через 20 с инкубации, мы не исключаем повышенной реакционной способности клеток на фармакокинетический агент. Через 30 с количество функционально неполноценных клеток в условиях действия пропранолола повышалось в 8 раз, через 60 с – в 9 раз. Следовательно, рост коэффициента резервной поверхности на фоне сокращения коэффициента формы клеток свидетельствует о развитии гемолитических процессов в системе. На 180 с количество форм с дестабилизированной мембраной составило 79,41% (в контроле – 23,45%). Наблюдаемое явление сохранялось до конца инкубации (рис. 40).

Таким образом, блокада  $\beta$ -адренорецепторов неспецифическим блокатором пропранололом в дозе  $0,27 \cdot 10^{-3}$  ммоль/л приводит к физиологической дисфункции эритроцитов.



*Рис. 40.* Динамика функционально неполноценных форм эритроцитов при воздействии пропранолола и гипотонии

С эволюционной точки зрения, возможно, наблюдаемая реакция закономерна, поскольку всё многообразие лекарственных препаратов вызывает изменение физиологических систем клеток, которые генетически сложились в ходе эволюции. В конкретном случае пропранолол изменяет протекание физиологических процессов по пути торможения К-Сl-котранспорта, что является главной причиной морфологической дисфункции в период весенне-летней вспышки гемопоэза.



## Глава 4

# ГЕМОПОЭЗ

Гемопоз (кроветворение) – образование клеток крови – осуществляется в кроветворной ткани. У взрослого человека гемопоз происходит в костном мозге черепа, ребер, грудины, позвонков, костей таза, эпифизов длинных костей.

Кинетика кроветворения и кроверазрушения – важнейший показатель качества работы функциональной системы крови. Кроветворная ткань – динамическая, постоянно обновляющаяся структура, механизмы регуляции которой построены по принципу обратных связей.

Закономерная гибель клеток крови в процессе функционирования организма постоянно восполняется вновь образующимися клетками, создавая условия для поддержания гомеостаза и жизнедеятельности организма. Огромный пролиферативный потенциал кроветворной ткани обеспечивается стволовыми кроветворными клетками (СКК), или плюрипотентными стволовыми клетками (ПСК).

### 4.1. СОВРЕМЕННАЯ МОДЕЛЬ ГЕМОПОЭЗА

Современная унитарная теория кроветворения предполагает, что родоначальница всех форменных элементов крови – стволовая кроветворная клетка (СКК) (И. Л. Чертков, 1990; И. Л. Чертков, А.Я. Фриденштейн, 1966; 1977; 1979; И. Л. Чертков, О.А. Гуревич, 1984; А. И. Воробьев и соавт., 1995; А. И. Воробьев, И.Л. Чертков, М.Д. Бриллиант, 1985). Морфологически она сходна с малыми лимфоцитами и способна к самообновлению. СКК медленно размножается и дифференцируется, образуя несколько различных типов коммитированных клеток, имеющих ограниченные потенции – коммитированы к дифференцировке в один клеточный тип, пролиферируют и (в присутствии факторов роста) дифференцируются в клетки-предшественницы

(И.Л. Чертков, 1990). Существует мнение, что программирование (коммитирование) клетки на определенный путь дифференцировки происходит случайным образом. Клетки-предшественницы – клетки одной линии, начинающейся с коммитированной унипотентной клетки и завершающейся формированием зрелой клетки крови. Таким образом, в гемопоэзе участвуют СКК, коммитированные унипотентные клетки и клетки-предшественницы.

Каждая СКК при делении образует две дочерние клетки – одна из них вступает на путь пролиферации, вторая – на самоподдержание популяции СКК. Пролиферативную активность стволовых клеток модулируют колониестимулирующие факторы и интерлейкины (особенно активны ИЛ-3). Установлен стохастический характер дифференцировки СКК, т. е. независимость их дифференцировки от запроса.

Согласно современной схеме кроветворения, все клетки в зависимости от степени дифференцировки объединены в 6 классов:

I – класс полипотентных клеток-предшественников, включает стволовые кроветворные клетки;

II – класс частично детерминированных полипотентных клеток-предшественников. Его существование выявляется опосредованно. Например, при облучении в пострadiационном периоде восстановления крови происходит временный подъем количества эритроцитов и гранулоцитов. Основная масса клеток сосредоточена в костном мозге, но не исключается возможность их перемещения в пределах кроветворной системы. Содержание клеток в крови незначительное;

III – класс унипотентных клеток-предшественников, способных к ограниченному самоподдержанию (например, в течение 10-15 митозов, затем погибают). Класс формируют клетки-предшественники родоначальных клеток отдельных рядов кроветворения: а) эритропоэтинчувствительная клетка; б) колониеобразующая в культуре клеток (клетки, дающие начало гранулоцитам и макрофагам); в) тромбоцитопоэтинчувствительная клетка; г) клетки-предшественники Т- и В-лимфоцитов. Клетки-предшественники всех уровней морфологически не идентифицируются, их характерная особенность – существование в двух структурно различных формах – бластной и лимфоцитоподобной;

IV – класс морфологически распознаваемых пролиферирующих клеток. Представлен бластными формами, дающими на-

чало отдельным рядам кроветворения – гранулоцитам, эритроцитам, моноцитам, мегакариоцитам и лимфоцитам. При окраске по Романовскому – Гимзе ядра клеток имеют красно-фиолетовый цвет, нежно-сетчатую структуру, несколько хорошо очерченных ядрышек и ободок цитоплазмы от светло-голубого до интенсивно-синего (базофильного) цвета. Форма ядра бластных клеток круглая, реже овальная или овально-вытянутая. Ядро расположено в центре или несколько смещено к одному из полюсов клетки. Характерная особенность клеток – преобладание площади ядра над площадью цитоплазмы;

V – класс созревающих клеток;

VI – класс зрелых клеток с ограниченным жизненным циклом (А. И. Воробьев и соавт., 1995).

*Модель гемопоэза стволовых клеток.* Для современного этапа развития клеточной биологии характерен возросший интерес к изучению стволовых клеток крови, участвующих в клеточных дифференцировках и восстановительных процессах в организме, включающих естественное восстановление, а также репаративные процессы при патологических состояниях или средовых воздействиях. В этом аспекте изучаются как СКК взрослого организма, так и эмбриональные стволовые клетки (Н.Д. Озернюк, 2001).

Впервые представление о родоначальных клетках крови сформулировал А. А. Максимов (А.А. Максимов, 1918; А.А. Maximov, 1913, 1927), он же указал на их морфологическое сходство с лимфоцитами, что нашло подтверждение и развитие в новейших экспериментальных исследованиях.

Выявление СКК стало возможным при применении метода колониеобразования. Характерно, что стволовые клетки, обнаруженные в костном мозге человека, обезьяны, мыши, курицы, морфологически идентичны (А.А. Заварзин, 1985).

Популяция СКК рассматривается как полипотентная клеточная система, дифференцирующаяся в различные функциональные клеточные популяции, способная к самообновлению и самоподдержанию. Общее число СКК сохраняется на постоянном уровне, который контролируется в организме и ограничивается размерами стромальной ткани. Способность к самообновлению является ключевой в концепции стволовой клетки (S. Tsai, C.A. Sief, 1986).

В настоящее время наибольшее признание получили две теории, объясняющие механизм самообновления. Согласно первой – деление стволовой клетки асимметрично: из двух производных стволовой клетки одна – недифференцированная, другая – дифференцируется с образованием зрелых клеток крови. В соответствии со второй теорией, стволовая клетка при каждом делении производит две дочерние клетки, одна из них вступает на путь пролиферации, а вторая – на самоподдержание СКК. Обе теории легли в основу иерархической модели гемопоэза (рис. 41).

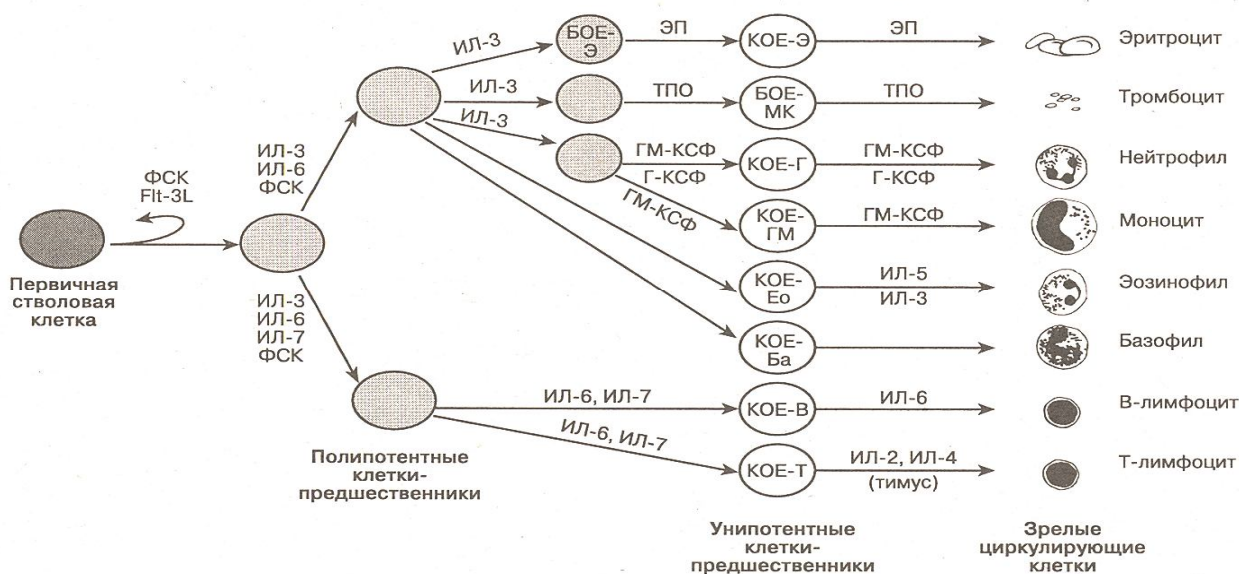


Рис. 41. Иерархическая модель гемопоэза, включающая важнейшие цитокины (С. Дж. Эмерсон, 2000)

*Примечание.* Здесь и далее: ИЛ-2 – интерлейкин-2, ИЛ-3 – интерлейкин-3, ИЛ-5 – интерлейкин-5, ИЛ-6 – интерлейкин-6, ИЛ-7 – интерлейкин-7, ФСК (Flt-3L) – фактор стволовых клеток, БОЕ-Э – бурстобразующая единица, эритроцитарная, БОЕ-МК – бурстобразующая единица, мегакариоцитарная, КОЕ-Э – колониеобразующая единица, эритроцитарная, КОЕ-Г – колониеобразующая единица, гранулоцитарная, КОЕ-ГМ – колониеобразующая единица, гранулоцитарная-моноцитарная, КОЕ-Ео – колониеобразующая единица, эозинофильная, КОЕ-Ба – колониеобразующая единица, базофильная, КОЕ-В – колониеобразующая единица, В-клеточная, КОЕ-Т – колониеобразующая единица, Т-клеточная. ЭП – эритропоэтин, ТПО – тромбопоэтин, ГМ-КСФ – гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор, Г-КСФ – гранулоцитарный колониестимулирующий фактор.

На самом начальном этапе СКК дифференцируется в две высокоспециализированные клеточные линии: миелоидную и лимфоидную. Первая дает начало мультипотентной клетке – родоначальнице гранулоцитарного, эритроцитарного, моноцитарно-

го и мегакариоцитарного рядов гемопоэза (КОЕ-ГЭММ); вторая – мультипотентной клетке – родоначальнице лимфопоэза (КОЕ-Л).

Из мультипотентных клеток дифференцируются олигопотентные (КОЕ-ГМ) и унипотентные родоначальные клетки. Методом колониеобразования определены родоначальные унипотентные клетки для моноцитов (КОЕ-М), нейтрофильных гранулоцитов (КОЕ-Г), эозинофилов (КОЕ-Эо), базофилов (КОЕ-Ба), эритроцитов (БОЕ-Э и КОЕ-Э), мегакариоцитов (КОЕ-МГЦ), из которых образуются клетки-предшественницы. В лимфатическом ряду выделяют унипотентные клетки-предшественницы для В- и Т-лимфоцитов. Дифференцировка полипотентных клеток в унипотентные обуславливается действием ряда специфических факторов – эритропоэтинов (для эритроцитов), гранулопоэтинов (для миелобластов), лимфопоэтинов (для лимфобластов), тромбопоэтинов (для мегакариобластов).

#### 4.2. ЭМБРИОНАЛЬНЫЙ ГЕМОПОЭЗ

Различают эмбриональный гемопоэз, который приводит к развитию крови как ткани, и постэмбриональный гемопоэз, включающий процесс физиологической регенерации крови. Наиболее полно гемопоэз изучен у млекопитающих животных и птиц.

*Млекопитающие животные.* В эмбриональный период у человека и млекопитающих животных в развитии крови выделяют 3 стадии, последовательно сменяющих друг друга.

1. Первичная (мезобластическая) стадия. В течение третьей недели развития во внезародышевой мезодерме желточного мешка формируются кровяные островки в виде скоплений мезенхимных клеток. По периферии каждого островка эти клетки участвуют в образовании эндотелия первичных кровеносных сосудов. В ходе мегалобластического эритропоэза в них (интраваскулярно) и клетках центральной части островка образуются первые клетки крови – первичные эритробласты – крупные клетки, включающее ядро и эмбриональный гемоглобин; на более поздних этапах – зрелые эритробласты и эритроциты (L.P. Weiss et al., 1995). Лейкоциты и тромбоциты на этой стадии не образуются. Кроветворение в желточном мешке заканчивается на 12-й неделе.

2. Вторая – гепатоспленотимическая (печеночная) стадия гемопоэза протекает в печени, селезенке, тимусе, которые заселяются СКК в течение второго месяца развития эмбриона.

Начиная с 5-6-й недели развития печень становится центром кроветворения, которое протекает экстравакулярно по ходу капилляров, врастающих вместе с мезенхимой внутрь печеночных долек. Из СКК образуются бласты, дифференцирующиеся во вторичные эритроциты. Одновременно в печени образуются гранулоциты (нейтрофилы и эозинофилы), гигантские клетки (мегакариоциты) и тромбоциты. К концу 5-го месяца интенсивность кроветворения в печени затухает, но продолжается на умеренном уровне еще несколько недель после рождения.

В селезенке гемопоэз наиболее выражен с 4 по 8 месяц эмбрионального развития, в течение которых образуются эритроциты и небольшое количество гранулоцитов и тромбоцитов. Перед рождением основной функцией селезенки становится образование лимфоцитов.

На 7-8-й неделе СКК заселяют тимус, где образуются различные типы Т-лимфоцитов (А.А. Заварзин, 1985; И.В. Алексеев и соавт., 1995; Р.М. Хаитов и соавт., 2000; С.Дж. Эмерсон, 2000).

3. Костномозговая (медулярная) стадия – начинается с 5 месяца развития. В костном мозге образуются все типы клеток крови, их развитие происходит экстравакулярно. Часть СКК остается в недифференцированном состоянии: они могут расселиться по другим органам и тканям и стать источником развития клеток крови и соединительной ткани. Лимфоциты продуцируются также в лимфоидных органах (тимус, лимфатические узлы, селезенка). Перед рождением в лимфатических узлах образуются также эритроциты. К моменту рождения и у взрослого костный мозг и лимфоидная ткань становятся центральными органами гемопоэза.

Эмбриональный костный мозг отличается от центров более раннего развития гемопоэза активным образованием миелоидных клеток и доминированием этого процесса в гемопоэзе. Миелопоэз начинается в центральной части костномозговой полости и распространяется оттуда по всей полости кости. Эритропоэз в эмбриональном костном мозге развивается позже, чем в органах, рассмотренных ранее, и «смешивается» с процессом миелопоэза.

В ситуациях, когда костный мозг становится не в состоянии удовлетворить повышенный запрос организма на образование

клеток крови, гемопоэтическая активность печени, селезенки и лимфатических узлов может восстанавливаться. Такой гемопоэз получил название «экстрamedулярный гемопоэз».

Значительное место в гемопоэзе занимают лимфатические узлы. Они закладываются преимущественно на 9-10-й неделе развития; на ранних стадиях СКК дифференцируются в эритроциты, гранулоциты и мегакариоциты. Формирование этих клеточных типов быстро подавляется образованием лимфоцитов. Массовое «заселение» лимфатических узлов предшественниками Т- и В-лимфоцитов начинается с 16-й недели, с образованием посткапиллярных венул, через стенку которых осуществляется процесс миграции клеток. Из клеток-предшественников дифференцируются лимфобласты (большие лимфоциты), а затем средние и малые лимфоциты. Дифференцировка Т- и В-лимфоцитов происходит в Т- и В-зависимых зонах лимфатических узлов (А.А. Заварзин, 1985).

*Птицы.* Давним и распространенным объектом исследования гемопоэза служат птицы, в частности, эмбрионы курицы. Как оказалось, основные закономерности развития эритро- и гемопоэза, прослеживаемые в эмбриогенезе кур, характерны также для других классов позвоночных животных (Л.И. Иржак, 1979).

У птиц в различные этапы эмбриогенеза наблюдается перемещение очагов гемопоэза. В эмбриональном периоде они локализованы в селезенке, фабрициевой сумке (бурсе) и стенке кишечника. Печень в развитии эмбрионального кроветворения у птиц существенной роли не играет. В ней происходит незначительное образование экстравакулярных гемоцитобластов из эндотелия, которые дают начало эритробластам и миелоцитам. В мезенхиме закладки селезенки образуются гемоцитобласты, которые дают начало интраваскулярному и экстравакулярному гранулопоэзу. После закладки костного мозга мезенхима дифференцируется аналогично, только лимфоциты развиваются в меньшем количестве (И.А. Болотников, Ю.В. Соловьев, 1980; А.А. Заварзин, 1953). В период вылупления птенца основными очагами гемопоэза становятся печень, селезенка и костный мозг (И.А. Болотников, Ю.В. Соловьев, 1980; Кровь и кроветворение у позвоночных животных в онтогенезе, 1983).

У кур прослеживаются две генерации эритроидных клеток – примитивная и дефинитивная, происходящие из кровяных ост-

ровков желточного мешка. Примитивные мегалобласты к концу 5-х суток инкубации превращаются в крупные эритроциты, но наряду с ними в течение первой недели в крови циркулируют также гигантские атипические эритробласты с различным числом хромосом и дефинитивные эритроидные клетки, проходящие стадии дифференцировки быстрее, чем примитивные клетки и поступающие в циркуляцию на более поздних стадиях созревания. Поэтому в периферической крови нарастает концентрация более зрелых и меньших по размеру эритроидных форм.

Максимальная эритропоэтическая активность желточного мешка наблюдается в период между 10 и 15 сутками инкубации; некоторый уровень его активности сохраняется до момента вылупления цыпленка. Второй по времени появления орган кроветворения цыпленка – селезенка начинает функционировать на 8-е сутки инкубации (Л.И. Иржак, 1979).

Согласно исследованиям З.И. Бродовской (1962), костный мозг, как кроветворный орган, начинает функционировать на 14-е сутки у куриного эмбриона и 15-е – у утиного. В развитии и формировании костного мозга птиц выделяют три основные стадии: остеобластическую, красного и желтого костного мозга. Последовательность перехода одной стадии костного мозга в другую у различных видов птиц осуществляется в разные сроки. Первоначально образуется остеобластический (первичный) костный мозг со слаборазвитой сосудистой системой; как кроветворный орган структура не функционирует. В дальнейшем происходят образование и дифференцировка ретикулярной стромы, разрастание кровеносных сосудов и появление первых очагов кроветворения. Их функционирование совпадает во времени с периодом повышенной потребности эмбриона в кислороде и питательных веществах. Одновременно осуществляется перестройка сосудистой системы аллантоиса, капиллярная сеть которого начинает непосредственно соприкасаться с подскорлуповой оболочкой.

Перед вылуплением канал эмбриона целиком заполнен красным костным мозгом, в центре которого начинают появляться жировые клетки. В просвете синусов обнаруживаются развивающиеся эритробласты. Из гранулоцитов преобладают псевдо-эозинофильные миелоциты. Красный костный мозг диафизов костей отдельными тяжами вырастает в эпифизарные участки.



Закладка и формирование костного мозга во всех костях конечностей эмбриона идет одновременно, но более интенсивно в проксимальных концах предплечья и голени. Различия в развитии костного мозга у утенка и цыпленка прослеживаются в последний период эмбрионального развития; у утенка в центре костномозгового канала передних конечностей происходит разрастание жировой ткани, у цыпленка этого явления не наблюдается. Миелоидная ткань расположена преимущественно по периферии мозгового канала, и только незначительное количество ее элементов сосредоточено между жировыми клетками.

Первыми в крови эмбрионов птиц созревают эритроциты; на 3-и сутки инкубации обнаруживаются тромбоциты и лейкоциты (в виде малодифференцированных клеток лимфоидного ряда); гранулоциты (псевдоэозинофилы) в крови эмбрионов выявляются на 6-е сутки инкубации (И.А. Болотников, Ю.В. Соловьев, 1980).

С первых часов развития эмбриона в яйце птиц формируется густая сеть кровеносных сосудов и начинается интенсивный процесс кроветворения, который протекает вначале во внезародышевых органах эмбриона (желточном мешке и аллантоисе), затем и в теле зародыша (сосудистое, печеночное, костномозговое кроветворение и кроветворение в мезенхиме зародыша). Работами Г. Ф. Задарновской (1966) установлен ряд общих закономерностей в эмбриональном кроветворении у птиц:

а) увеличение по мере роста и развития концентрации эритроцитов, лейкоцитов и гемоглобина в крови эмбриона;

б) снижение этих показателей в критические периоды инкубации: (8, 11 и 16 – 18-е сутки для кур; 8, 10, 18, 20 и 23 – 24-е – для эмбрионов уток; 7, 11, 14, 16, 18, 21 и 23 – 25-е – для гусиных эмбрионов; 8, 11, 12, 16, 19, 21 и 23-и – для индеек; 9, 10, 13, 16, 18 и 21-е сутки – для эмбрионов цесарок);

в) высокая напряженность на ранних стадиях инкубации эритропоэза, на более поздних – лейкопоэза;

г) обратная зависимость между динамикой регенерации красной и белой крови на всех этапах онтогенеза.

На более поздних стадиях (10-15-е сутки насиживания/инкубации) процесс желточного эритропоэза достигает максимального развития. Образуются только вторичные эритробласты, при этом гемоцитобласты и полихроматофильные эритробласты располагаются всегда в пристеночном положении, а эрит-

роциты занимают центральное положение (А.А. Заварзин, 1953). В окружающих сосудах мезенхимы желточного мешка также образуются гемоцитобласты, дающие начало миелоцитам, которые могут проникать через эндотелий в полость сосудов (G. Cuifetti et al., 2002).

В мезенхиме тела зародыша на 4-5-е сутки инкубации / насиживания образуются гистоидные и лимфоидные элементы. Из лимфоидных блуждающих клеток (гемоцитобластов) в некоторых участках головы и около вентральной стенки аорты образуются небольшие экстравазкулярные островки из эритробластов или миелоцитов. Некоторые из островков окружаются эндотелиальной стенкой и включаются в сосудистое русло. В опытах на химерах перепелиного эмбриона и желточного мешка цыпленка показаны различные внутриэмбриональные пути дифференцировки СКК у птиц. Экспериментально подтверждена конвергенция их из желточного мешка в область аорты (D.L. Françoise, 1995).

Синтез гемоглобина обнаруживается в первой генерации эритробластов – на 32-м часу развития. Гемоцитобласты не содержат гемоглобина (M. Groudine et al., 1974). Позднее бластодиски синтезируют фетальный и взрослый типы гемоглобина; как полагают, разные синтезы протекают в разных клеточных популяциях.

В эритроблестах помимо цитоплазмы гемоглобин выявлен также в ядре и органоидах митохондриеобразного типа, что отражает гетерогенность гемоглобина ранних эмбрионов (C. Manwell, C.M. Baker, 1966; X. Yataganas et al., 1974). В течение первых двух недель эмбриогенеза курицы на фоне изменения состава популяции эритроцитов происходят изменения состава гемоглобина: с 4-х фракций на 6–7-е сутки их число снижается до 3-х на 9-е сутки, а на 10-е – вновь увеличивается до четырех. В суточном возрасте цыпленок имеет гемоглобин, состоящий из 7 фракций, две из которых отсутствуют у взрослой курицы (J. Godet, 1967). Полагают (M. Schalekamp et al., 1972), что HbA появляется на 6-е сутки инкубации, а на 12-е – исчезают раннеэмбриональные фракции.

*Амфибии.* Эмбриональное развитие крови у амфибий изучено недостаточно. Первые работы в этом направлении отражены в трудах Н. Mietens (1909, 1910), Н. Doms (1916), R. Lillie (1919), А. Maximow (1910, 1927). Установлено, что у хвостатых и бесхвостых амфибий первые стадии развития протекают однознач-

но. Из мезенхимы желточного мешка в кровяное русло попадают первичные кровяные клетки округлой формы, заполненные желтком и содержащие пигмент. В дальнейшем большая часть этих клеток, теряя желток, превращается в первичные эритробласты, содержащие гемоглобин. Часть кровяных клеток не накапливает гемоглобин, протоплазма их базофильна, они превращаются в первичные гемоцитобласты. Одновременно в мезенхиме головы образуются блуждающие клетки – лимфоцитоподобные. Они различны по величине, имеют складчатое ядро и светлую цитоплазму. Клетки проникают в кровяное русло и превращаются в гранулоциты.

Затем у бесхвостых амфибий начинается усиленное образование гемоцитобластов во всех мезенхимных участках тела, особенно в области вилочковой железы, глотки, жаберной области, в мезонефросе, пронефросе, кишечнике и окружности мезентериальной артерии. Во всех этих очагах образуются малые лимфоциты и лейкоциты. В селезенке эритропоэз не выявлен. Главный гемопоэтический орган головастика – почка. К моменту метаморфоза первичные эритроциты замещаются на вторичные в кровяном русле, здесь же из малых лимфоцитов развиваются тромбоциты. Затем эритропоэз на некоторое время концентрируется в сосудах печени, откуда переходит в сосуды костного мозга, где экстраваскулярно сосредоточена и лимфо-миелоидная ткань (А.А. Заварзин, 1953, 1985).

Костный мозг как дифференцированный орган гемопоэза в филогенезе впервые появляется у амфибий. Закладка костного мозга происходит незадолго до завершения метаморфоза, когда отмечается замещение остеобластического костного мозга красным костным мозгом (Д.И. Гольдберг, Е.Д. Гольдберг, 1980). Однако он участвует в пролиферации клеток крови только в поздневесенний и раннелетний периоды, когда метаболические процессы достигают наибольшего уровня (А.А. Заварзин, 1953). К осени часть костного мозга замещается жировой тканью (Д.Х. Хамидов и соавт., 1978). В осенне-зимний период нарастает гемопоэз в селезенке и стенке кишечника (А.Т. Акилов, 1971).

Гемопоэтическая ткань костного мозга амфибий располагается преимущественно по периферии костномозговой полости, в центре сосредоточена жировая ткань. Основу костного мозга образует пластинчатый синцитий, пронизанный артериями.

*A. nutricia* питательная артерия бедренной кости лягушки пронизывает ее эпифизарную часть. В костномозговой полости артерия образует многочисленные веточки, направленные к периферии, переходящие там в капилляры; при переходе в вены они расширяются, образуя ампулоподобные окончания – синусоиды. Стенки синусоидов у лягушки, как и у других животных, тонкие и пористые, что способствует свободному выходу кровяных форм в сосуды. В строме пластинчатого ретикулума и вокруг кровеносных сосудов костного мозга располагаются островки пролиферирующих клеток крови, содержащие лимфоидные ретикулярные клетки, гемоцитобласты, миелобласты, миелоциты, лимфоциты, лимфобласты, плазматические клетки, эритроциты. Эозинофилы костного мозга сгруппированы в колонии (Д.Х. Хамидов и соавт., 1978).

У бесхвостых амфибий при метаморфозе происходит резкая перестройка органов гемопоэза: костный мозг и селезенка обеспечивают возрастающую потребность организма в кислороде. Эритрогранулопоэз происходит также в краевой подкапсульной зоне печени (W. Andrew, 1965), у взрослых особей печень утрачивает гемопоэтическую функцию.

У хвостатых амфибий кроветворение отличается тем, что в период развития гемоцитобластов мезенхима предпочки и почки не участвует в гемопоэзе, а весь процесс эритропоэза сосредоточивается в селезенке; в печени субперитонеально развивается лимфо-миелоидная ткань (А.А. Заварзин, 1985).

#### **4.3. ПОСТЭМБРИОНАЛЬНЫЙ ГЕМОПОЭЗ**

Постэмбриональный гемопоэз представляет собой процесс физиологической регенерации крови (клеточное обновление), который компенсирует физиологическое разрушение дифференцированных клеток.

Миелопоэз у млекопитающих происходит в миелоидной ткани, сосредоточенной в эпифизах трубчатых и полостях многих губчатых костей. Здесь развиваются форменные элементы крови: эритроциты, гранулоциты, моноциты, кровяные пластинки, предшественники лимфоцитов. В миелоидной ткани находятся стволовые клетки крови и соединительной ткани (А.А. Заварзин, 1985).

Лимфопоэз протекает в лимфоидной ткани, которая имеет несколько разновидностей, представленных в тимусе, селезенке и

лимфатических узлах. Лимфоидная ткань выполняет функции образования Т- и В-лимфоцитов и иммуноцитов (плазмоцитов). Миелоидная и лимфоидная ткани – разновидности соединительной ткани. В них представлены две основные клеточные линии: гемопоэтические и клетки ретикулярной ткани.

#### **4.3.1. Кроветворные клетки и их микроокружение**

Ретикулярные, а также жировые, тучные и остеогенные клетки вместе с матриксом (межклеточным веществом) формируют для гемопоэтических элементов индуцирующее микроокружение, оказывающее воздействие на регуляцию и дифференцировку гемопоэтических клеток. Гемопоэтическое микроокружение создается стромальными элементами костного мозга, его формируют клеточные и внеклеточные элементы, образующие структурный матрикс, где стволовые клетки и их потомки пролиферируют и дифференцируются по перемещению в кровотока (Ю.М. Захаров, И.Ю. Мельников, 1984).

Структурный матрикс (стромальные клетки) – это гетерогенная группа клеток, состоящая из фибробластов, эндотелиальных клеток, остеобластов и адипоцитов, располагающихся в костномозговой полости. Гемопоэтические клетки нуждаются в растворимых гемопоэтических факторах роста (ГФР) и мембраносвязанных молекулах присоединения.

ГФР (колониестимулирующие факторы – КСФ) представляют собой класс гликопротеиновых гормонов, необходимых для деления и дифференцировки СКК. К ним относятся интерлейкин-6 (ИЛ-6), гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ), фактор стволовых клеток (ФСК) и Flt-3 ([Flt-3L] – лиганд). КСФ непрерывно продуцируются стромальными клетками костного мозга, тем самым иницируя гемопоэз (Ф. Дж. Эмерсон, 2000).

По современным представлениям, в регуляции активности кроветворных клеток участвуют 6 семейств рецепторов цитокинов. Большая их часть относится к I типу рецепторов и включает рецепторы лейкемию ингибирующий фактор (ЛИФ), ИЛ-1, -2, -3, -4, -5, -6, -7, -9, -13 и -18; ГМ-КСФ; Г-КСФ (гранулоцитарный колониестимулирующий фактор), эритропоэтина, пролактина, цилиарного нейротрофного фактора и тромбопоэтина (с-mpl). В плазме крови рецепторы I типа представлены растворимыми

формами. К цитокинам, оказывающим тормозящее влияние на гемопоэз, относят трансформирующий рост фактор  $\beta$  (ТРФ- $\beta$ ), фактор некроза опухолей (ФНО), хемокины ИЛ-8 и *mir-1a* (Ю.М. Захаров, 2002, 2002а).

Установлено, что сочетание факторов Стила (SF), ИЛ-6 и ИЛ-3 является особенно значимым в запуске механизма дифференцировки СКК в направлении коммитированных предшественников (V. Lirovaе, 1982). Гормональная природа этих факторов не установлена. Полагают, что факторы микроокружения индуцируют поэтапную экспрессию генов, ответственных за гемопоэз и присоединение антигенных структур, осуществляющих обмен генетическим материалом с формированием рекомбинантных генотипов (Д.Г. Натан, К.А. Зифф, 1994; F.T. Presyi et al., 1982).

Цитоплазма СКК обеспечивает передачу информации от микроокружения в геном. Установлено, что Т-лимфоциты определяют направление дифференцировки КОЕ, стимулируя образование элементов красного ростка, причем регулирующей способностью обладают только живые относительно кортизон- и радиорезистентные Т-лимфоциты.

Таким образом, в кроветворной системе млекопитающих осуществляются локальные регулирующие взаимодействия между кроветворными клетками и их микроокружением. Более того, структуры, ответственные за специфичность микроокружения, содержатся в самих кроветворных органах.

Присутствие КСФ и механизм их влияния на гематологические клетки у других представителей позвоночных изучен недостаточно. Имеются сведения, что из клонотеки кДНК эритробластов домашней курицы, трансформированных вирусом эритробластопа птиц, выделена кДНК, соответствующая гену, который кодирует новый, предполагаемый регулятор типа «цинковых пальцев». Этот новый белок обозначен *chCiti*, состоит из 377 аминокислот: ближе к С-концу отмечено присутствие цистеин-2-гистидин-2 аминокислоты. Показана строгая специфичность нового белка для эритроидных клеточных линий курицы, причем на всех стадиях дифференцировки этих клеток. Функциональное значение белка обсуждается (F. Brigitte et al., 1997).

Постэмбриональный гемопоэз у млекопитающих происходит в структурно-функциональных образованиях гемопоэтиче-

ской ткани – эритробластических островках (ЭО). Впервые эти морфофункциональные ассоциации костного мозга были описаны французским гематологом М. Бесси (1958). ЭО состоит из центрального гистиоцита (макрофага) – он образует длинные отростки, на поверхности которых расположены делящиеся эритроидные клетки, развивающиеся из унипотентной КОЕ-Э, вступившей в контакт с макрофагом. КОЕ-Э и образующиеся из нее клетки (от эритробласта до ретикулоцита) удерживаются в контакте с макрофагом его рецепторами – сиалоадгезинами (Ю.М. Захаров, И.Ю. Мельников, 1984). По мере дифференцировки эритроидная клетка мигрирует к концу отростка макрофага, а следом за ней перемещаются менее дифференцированные клетки. Затем эритробласт вступает в контакт с эндотелием ближайшего синуса, проходит через его стенку и попадает в общий кровоток. Ядро при этом выталкивается и фагоцитируется макрофагами. Выход нормобласта в кровоток – диапедез – наиболее изучен у ретикулоцита и свойствен молодому эритроциту (Ал. Вылку, 1985).

ЭО в костном мозге описаны у многих видов млекопитающих: в костном мозге человека, селезенке и костном мозге взрослой и печени новорожденной мыши, печени эмбриона крысы. У плода человека в печеночной фазе эритропоэза выявляются «фетальные ЭО». Они концентрируются экстравааскулярно в печеночной паренхиме. Входящие в состав ЭО эритроидные элементы обнаруживают признаки эритропоэза нормобластического типа (Л.В. Воргова, Ю.М. Захаров, 1990).

Исследование организации ЭО с помощью световой и электронной микроскопии показало, что молодые эритробласты находятся в центральных областях ЭО, а более дифференцированные – на периферии. Форма ЭО, реконструированных трехмерными изображениями, несферичная. Макрофаги в ЭО располагаются центрально, их цитоплазматические отростки всегда имеют тесный контакт с эритробластами, причем эритробласты ранних стадий развития более плотно сгруппированы. По мере созревания они начинают отделяться от центра островка. Способность зрелых эритробластов к дисперсии в ткани костного мозга позволила предположить изменения свойств поверхности их мембран при созревании (Ю.М. Захаров, А.Г. Рассохин, 2002).

По числу ядросодержащих эритроидных клеток ЭО подразделяются на три класса. Первый класс включает до восьми клеток, второй – от девяти до шестнадцати и третий класс – более семнадцати клеток. В костном мозге крысы ЭО первого класса составляют 54,5%, второго – 38% и третьего – 7,5%. Установлено, что эритропоэз в костном мозге крысы протекает на всем пространстве костномозговой ткани и не ограничивается, как предполагалось ранее, территорией, прилежащей к синусоидам (Ю.М. Захаров, Т.Ю. Мельников, 1984; Ю.М. Захаров, 1991).

### 4.3.2. Эритропоэз

В процессе эритропоэза клетки проходят три стадии развития: СКК, эритроидные клетки-предшественники (ЭКП) и созревающий эритрон. Родоначальница эритроидных клеток крови – плюрипотентная, или полипотентная СКК, способная формировать колонии в культуре костного мозга. Дифференцирующаяся полипотентная СКК дает два типа мультипотентных частично коммитированных клеток: 1) коммитированные к лимфоидному типу дифференцировки; 2) КОЕ-ГЭММ-единицы, образующие смешанные колонии, состоящие из гранулоцитов, эритроцитов, моноцитов и мегакариоцитов (аналог КОЕ-С *in vitro*). Из второго типа мультипотентных СКК дифференцируются унипотентные единицы: бурстобразующая (БОЕ-Э) и колониеобразующая (КОЕ-Э) эритроидные клетки, которые являются коммитированными родоначальными клетками эритропоэза.

Первым эритроидным предшественником является бурстобразующие единицы (клетки) эритроцитарные (БОЕ-Э, *burst* – англ. – взрыв, взрывообразующая). По сравнению с колониеобразующей единицей эритроцитарной (КОЕ-Э) – менее дифференцирована. При культивировании кроветворных клеток в плазменном геле, в присутствии высоких концентраций эритропоэтина (порядка 3-10 Ед/мл) образуются колонии клеток. Число колоний, состоящих из сотен клеток, растет линейно с увеличением количества клеток, что подтверждает клональную природу колоний и их возникновение из одной клетки – БОЕ-Э. В течение 10 суток она осуществляет 12 делений и образует колонию из 5000 эритроидных клеток с незрелым фетальным гемоглобином (И.Л. Чертков, А.Я. Фриденштейн, 1979).

БОЕ-Э малочувствительна к эритропоэтину и вступает в фазу размножения под влиянием интерлейкина-3 (бурстпромотор-



ная активность), вырабатываемого моноцитами – макрофагами и Т-лимфоцитами. Интерлейкин-3 – гликопротеин с молекулярной массой 20-30 кД. Он активирует ранние полипотентные СКК, обеспечивая их самоподдержание, а также запускает дифференцировку полипотентных клеток в коммитированные. Интерлейкин-3 способствует образованию клеток (КОЕ-Э), чувствительных к эритропоэтину (В.А. Козлов, 2001).

Отдел БОЕ-Э неоднороден и включает несколько стадий дифференцировки. Более зрелые БОЕ-Э отличаются большей чувствительностью к эритропоэтину, образуя бурсты меньшей величины. Самые ранние БОЕ-Э продуцируют огромные бурсты, состоящие из 16 дочерних колоний, обладают некоторой чувствительностью к колониестимулирующей активности, вызывающих образование гранулоцитарно-макрофагальных колоний. Этот (первый) ряд эритроидной дифференцировки не утратил способности и к гранулоцитарной дифференцировке.

Следующий по зрелости эритроидный предшественник – клетка, способная в плазменных культурах за 2 дня пролиферации, в присутствии относительно низких концентраций эритропоэтина (0,25 Ед/мл), образовывать колонию из 4-32 эритроидных элементов. КОЕ-Э более зрелая, высокочувствительная к эритропоэтину клетка (без гормона она не образуется), формирующаяся из пролиферирующей БОЕ-Э. Под влиянием эритропоэтина КОЕ-Э формирует колонии, состоящие примерно из 60 эритроцитарных элементов. Количество эритроидных клеток, образуемых в сутки из КОЕ-Э, в 5 раз меньше количества аналогичных клеток, образуемых из БОЕ-Э. Таким образом, БОЕ-Э – наиболее примитивные клетки – предшественники эритроцитов, которые способны генерировать тысячи эритроидных предшественников. Они содержатся в малом количестве в костном мозге и крови благодаря лишь частичному самоподдержанию и миграции из компартмента мультипотентных СКК. Под влиянием эритропоэтина КОЕ-Э дифференцируется в морфологически распознаваемые предшественники эритроцитов (W.I. Kennedy et al., 1986).

К морфологически опознаваемым клеткам эритроцитарного ряда относятся: проэритробласт, эритробласт, нормоцит, ретикулоцит и эритроцит (И.Л. Чертков, А.Я., Фриденштейн, 1977; А.Ф. Романова, 2000).

*Проэритробласты* – первые морфологически опознаваемые предшественники эритроцитов, диаметром 14 – 19 мкм, с многочисленными органеллами, не содержат гемоглобин. Ядро расположено центрально, сохраняет нежную сетчатую структуру. Объем цитоплазмы составляет около 20 % общего объема клетки, присутствие значительного количества полирибосом обуславливает базофилию клетки. Клетки подвергаются многократным митозам.

*Эритробласт* – родоначальная клетка эритроцитарного ростка. Ядро нежной структуры, округлое, расположено центрально, занимает большую часть клетки, красно-фиолетового цвета, содержит от 1 до 5 ядрышек. Цитоплазма насыщенного синего цвета, зернистости не содержит. Вокруг ядра заметна зона просветления. На дальнейших этапах дифференцировки происходят уменьшение размера клетки, конденсация хроматина и уменьшение диаметра ядра, прогрессирующая потеря органелл и РНК, постепенное увеличение содержания гемоглобина; элиминация ядра.

Последовательно различают эритробласты базофильные, полихроматофильные, оксифильные нормобласты (нормоциты) в зависимости от степени насыщения их цитоплазмы гемоглобином:

– *базофильный эритробласт*, диаметр 13-16 мкм, содержит ядро с более плотным хроматином. Цитоплазма более базофильна, около ядра часто виден клеточный центр. Клетка сохраняет способность к митозу и активно синтезирует гемоглобин;

– *полихроматофильный эритробласт*, диаметр 12-15 мкм, содержит значительное количество гемоглобина. Серовато-фиолетовый тон цитоплазмы обусловлен базофильным окрашиванием рибосом и оксифильным – гемоглобина. Размеры ядра уменьшаются, клетки сохраняют способность к митозу и продолжают синтезировать гемоглобин.

– *оксифильный эритробласт* (нормобласт), диаметр 8-10 мкм, цитоплазма оксифильная со следами базофилии. Такая окраска обусловлена значительной концентрацией гемоглобина и присутствием рибосом. Ядро небольшое, пикнотическое, содержит конденсированный хроматин. Ранние нормобласты могут делиться, в целом же на этой стадии эритроидные клетки постепенно утрачивают способность к делению и выталкивают ядро. Нормоцит вызревает в эритроцит через стадию ретикулоцита, молодого предшественника эритроцита, сохранившего остатки базофильной субстанции (РНК) цитоплазмы.

*Ретикулоцит* – незрелый эритроцит, поступающий в кровоток из костного мозга, диаметр – 9-11 мкм, неправильной формы, что связано с ее подвижностью. Ретикулоцит содержит рибосомы, митохондрии, комплекс Гольджи. Инволюция органелл происходит по мере созревания клетки. Морфологическая особенность ретикулоцита – присутствие нитчато-сетчатой субстанции ретикуло-филаментозной природы, содержащей РНК. В ретикулоцитах некоторое время продолжается синтез гемоглобина. Количество поступающих в кровь ретикулоцитов равно количеству поврежденных эритроцитов, гибнущих в печени, селезенке, костном мозге. Ретикулоциты составляют около 1 % всех циркулирующих эритроцитов. В зависимости от присутствия РНК и характера зернистости выделяют 4 стадии созревания ретикулоцитов (формула Гельмейера): I – зернистость в виде клубка; II – в виде сети; III – в виде неполной сети; IV – в виде отдельных гранул (И.А. Быкова, 1991). При выходе в кровь ретикулоцит созревает в эритроцит в течение 1 – 2-х суток.

Подсчет ретикулоцитов и определение времени их созревания в кровотоке служит надежным методом выявления суточной продукции эритроцитов, продолжительности их жизни, а следовательно, и эффективности костномозгового кроветворения. Предложен ряд способов изучения продолжительности жизни эритроцитов, один из них – по скорости созревания ретикулоцитов *in vitro* у человека и млекопитающих животных (Е.Н. Мосягина, 1962; Е.Н. Мосягина и соавт., 1976; А.В. Илюхин и соавт., 1982).

В современных схемах кроветворения ретикулоцит занимает особое положение. Одни исследователи приводят доказательства в пользу искусственного характера включения ретикулоцита в схему эритропоэза, указывая на то, что определенная часть ретикулоцитов окрашивается по Романовскому – Гимзе как полихроматофилы; другие – рассматривают ретикулоциты как оксифильные эритроциты и считают неправомерным помещением ретикулоцита в схему эритропоэза после оксифильного эритробласта. «...Учитывая, что все клетки в схеме кроветворения даны в окраске по Романовскому – Гимзе, а ретикулоциты выявляются только при суправитальной окраске, ретикулоцит вообще следует убрать из схемы. Его место не может быть фиксированным» (цит. по: Ф. Томилов, Т.Я. Колкер, 1991, с. 27).

Несмотря на дискуссии относительно местоположения ретикулоцита в схеме гемопоэза, нельзя отрицать диагностическое значение этой генерации клеток в определении функциональной активности костного мозга при оценке эритроцитарного баланса в условиях физиологической и репаративной регенерации системы крови (В.М. Погорелов, Г.И. Козинец, 2005).

Разработка способа выявления и подсчета ретикулоцитов у птиц и низших позвоночных (Патент № С1 2227280, 2004) позволила нам исследовать кинетику эритропоэза в физиологических условиях и при различных функциональных состояниях у представителей этих классов животных (Е.А. Липунова, М.Ю. Скоркина, 2001, 2002, 2003, 2004, 2004а).

*Эритроцит* – зрелая клетка периферической крови диаметром 7 – 8 мкм, имеет форму двояковогнутого диска, оксифильную цитоплазму, насыщенную гемоглобином. Период образования эритроцита от эритробласта до зрелой клетки занимает 7 суток.

В процессе эритропоэза происходят уменьшение размера эритроцита, уплотнение ядра и его элиминация (у млекопитающих), уменьшение содержания РНК, накопление гемоглобина, сопровождаемое изменением окраски цитоплазмы, потеря способности к делению клетки.

Потеря ядра эритроцитами наблюдается чаще всего на стадии оксифильного нормобласта, но в ряде случаев может наступить и на стадии полихроматофильного нормобласта. Процесс потери ядра из эритробластов осуществляется тремя путями: при недостаточной зрелости ядра, вследствие кариорексиса (выталкивание), кариолизиса и потери – выхода из цитоплазмы. При кариорексисе от ядра начинают отшнуровываться куски, придавая ему форму розетки. Куски, отделяясь от общей массы, округляются и уменьшаются в размерах. Такие включения (тельца Жолли) представляют собой продукты неполного растворения ядра. Располагаются они одиночно, иногда по два – три, напоминая паразитарные включения. При кариолизисе ядро, благодаря расплавленному в нем хроматину, приобретает красноватый оттенок, зависящий от цвета ядерной оболочки. После рассасывания хроматина остается структура в форме овала, восьмерки, двойных или тройных петель (тельце, или кольцо Кабо). Третий путь потери ядра – его выход из цитоплазмы.

В периферической крови можно встретить эритроциты, в которых зрелое пикнотическое ядро вышло из протоплазмы и

лежит рядом с клеткой (голое ядро). Процессы выталкивания ядер имеют место только у млекопитающих животных.

Поддержание постоянного уровня эритроцитов (и гемоглобина) в крови достигается за счет выработки в организме специфических веществ и гормонов, стимулирующих и угнетающих эритропоэз, что в значительной мере реализуется через регуляцию синтеза эритропоэтина. Общий, или суммарный, эритропоэз оценивается по количеству эритробластов в костном мозге, соотношению их по степени зрелости, пролиферативной активности на разных стадиях созревания, величине лейкоэритробластического соотношения (частное от деления числа клеточных элементов лейкопоэза на число клеток эритропоэза); берется во внимание также значение величин экскреции уробелина и стеркобелина.

Современная модель эритрона (совокупность клеточных элементов, развивающихся по пути эритроидного ряда, – от плюрипотентной стволовой клетки до зрелого эритроцита) предусматривает возможность генерации трех популяций эритроцитов: нормальный тип деления клеток (80–85%), терминальный (19–15%) и неэффективный (3–8%). У человека в норме в костном мозге преобладает так называемая «нормальная» популяция ядерных и безъядерных клеточных форм эритропоэза. Терминальный тип деления характеризуется тем, что клетка в процессе своего созревания в костном мозге проходит минимальное количество делений, обычно 1-2, минуя деление на стадии полихроматофильного или ортохромного (оксифильного) эритробласта, и выходит в кровяное русло в виде одного или двух эритроцитомacroцитов, что приводит к сокращению объема продукции эритроцитов минимум в два раза. Неэффективный эритропоэз отражает деструкцию эритроидного ростка костного мозга. Такие деструктивные клетки разрушаются в костном мозге на разных стадиях созревания – от ранних коммитированных предшественников эритропоэза до нормобласта; основная причина их гибели – нарушение внутриклеточного метаболизма. Состояние «неэффективного эритропоэза» объединяет кроме внутрикостномозгового разрушения ядродержащих эритроидных предшественников также продукцию функционально неполноценных эритроцитов. Неэффективный эритропоэз в норме является одним из физиологически обусловленных механизмов регуляции равновесия в системе эритрона в условиях постоянно изменяющихся потреб-

ностей организма в продукции эритроцитов (Физиологическая (запрограммированная) гибель клеток при гемопоэзе, 1996; Исследование системы крови в клинической практике, 1997; Т.Г. Сарычева, Г.И. Козинец, 2001). Количество эритроидных клеток, созревающих до стадии полноценного эритроцита, характеризует величину эффективного эритропоэза.

Кинетика эритропоэза существенно изменяется под влиянием воздействий экстремальных, в том числе и экологических, факторов. При этом следует ожидать изменение скорости пролиферации и дифференцировки ядерных предшественников, а также соотношение эффективного и неэффективного эритропоэза. Выявляется определенная закономерность – чем интенсивнее воздействие на организм, тем большую долю занимает неэффективный эритропоэз (Н.А. Агаджанян и соавт., 1998).

Для тканей позвоночных характерны две формы гибели клеток: некроз и апоптоз. Предопределяют гибель клеток в организме заболевания (ишемия), стойкая гипертермия, химическая или физическая травмы. При некрозе клетка быстро теряет способность поддерживать гомеостаз; повреждается большая часть плазматической мембраны; клетка утрачивает способность регулировать осмотическое давление, разбухает и разрывается. Посредством некроза ткань быстро очищается от клеточных осколков и репарирует. Апоптоз – более мягкий процесс клеточной гибели. Морфологические признаки апоптоза появляются лишь при физиологической гибели клеток (гибель клеток с коротким жизненным циклом, удаление аутоиммунных Т-клеток, инволюция клеток, лишенных необходимых факторов роста, и т. д.). В пренатальном периоде реакции апоптоза контролируют переселение стволовых клеток из желточного мешка в печень и окончательно в костный мозг. В постнатальном периоде примером супрессии апоптоза является взаимодействие эритропоэтина и эритроидных предшественников на стадии, когда этот процесс становится зависимым от гормона (В.М. Погорелов, Г.И. Козинец, 1995; Исследование системы крови в клинической практике, 1997).

### **4.3.3. Гранулоцитопоз**

Образование и дифференцировка клеток гранулоцитарного ряда происходит в красном костном мозге. Исходная клетка развития всех гранулоцитов – СКК – дает начало КОЕ-ГЭММ. Из

КОЕ-ГЭММ происходят все три линии гранулоцитов – нейтрофилов, эозинофилов и базофилов. Эволюция клеток – единая до стадии промиелоцита. Лишь после этого созревание протекает разными путями и клетки становятся различными с морфологической и функциональной точек зрения. По мере дифференцировки размеры клеток уменьшаются, хроматин конденсируется, изменяется форма ядра, в цитоплазме накапливаются гранулы.

К морфологически опознаваемым предшественникам гранулоцитарного ряда относят: миелобласт, промиелоцит, миелоцит, метамиелоцит, палочкоядерные и сегментоядерные гранулоциты (В.Г. Михайлов, Г.А. Алексеева, 1986). Специфические гранулы появляются на стадии миелоцита; с этого момента клетки обозначаются в соответствии с типом образующихся из них зрелых гранулоцитов. Клеточные деления прекращаются на стадии метамиелоцита.

*Миелобласт* – родоначальная, «головная» клетка гранулоцитарного ряда, диаметром 15-20 мкм. Форма круглая, ядро округлой формы, занимает почти всю клетку. Цитоплазма в виде узкого пояса, иногда располагается по одну сторону ядра, синей (базофильной) окраски, гиалиновой или пористой структуры. Ядерный хроматин имеет мелкодисперсную структуру, в виде кружева или тонкой сеточки. Такая ядерная структура отличает миелобласт от проэритробласта и лимфобласта. Существующие от 2 до 5 ядрышек сине-голубого цвета со слабоуплотненным вокруг них ядром способствуют различению миелобласта от лимфобласта. Присутствие в цитоплазме (в незначительном количестве) азурофильных гранул воспринимается не всеми исследователями. Помимо слабодифференцированной структуры особенностью миелобласта служит также наличие многочисленных свободных рибосом, митохондрий, а также незначительное количество ретикуло-эндоплазматической ткани и слабо развитого комплекса Гольджи.

*Промиелоцит* – предшественник гранулоцита, более зрелая, крупная клетка, диаметром 15-25 мкм. Ядро круглое или овальное, светло-фиолетового цвета. Хроматин тонкоструктурный, но плотнее, чем у миелобласта. Имеющиеся 2-3 ядрышка становятся менее четкими по мере созревания клетки. Цитоплазма широкая, голубого цвета, содержит красную, фиолетовую или коричневую зернистость, в зависимости от направленности миелоцита – ней-

трофильный, эозинофильный и базофильный. Комплекс Гольджи хорошо развит, имеет 4-9 цистерн, размещенных полукругом по отношению к центриоле. Промиелоцит содержит также специфическую зернистость, образование которой начинается в центральной зоне клетки. Азурофильные гранулы содержат ферменты, прежде всего пероксидазу, а также эстеразы, кислую фосфатазу, лизоцим и др.

*Миелоцит* – более зрелая клетка, диаметром 10-16 мкм. Эксцентричное ядро круглой или овальной формы. Хроматин ядра более плотный, ядрышки мелкие или даже неразличимые. Цитоплазма окружает ядро широким поясом, содержит митохондрии и небольшое количество ретикуло-эндоплазматической ткани, слабобазофильная, имеет азурофильную зернистость, что позволяет различать три типа миелоцитов – нейтрофильные, с мелкой зернистостью сине-фиолетового цвета, эозинофильные – с крупной зернистостью желто-красного цвета и базофильные – с крупной зернистостью темно-синего цвета. Образование и накопление гранул продолжается в течение трех последующих клеточных делений. Ядро постепенно приобретает бобовидную форму, хроматин становится все более конденсированным. Нейтрофильная зернистость характеризуется наличием щелочной фосфатазы, аминопептидаз, лизоцима; эозинофильная зернистость отличается большим содержанием пероксидазы и незначительным – лизоцима; базофильная зернистость включает значительное количество гепарина и гистамина. Эозинофильные и базофильные миелоциты отличаются от нейтрофильных зернистостью, крупными размерами митохондрий и ярко выраженной ретикуло-эндоплазматической тканью. Эозинофилы и базофилы содержат лишь один специфический вид зернистости.

Образование зернистости – существенный структурный элемент для гранулоцита – завершается на стадии миелоцита. Дальнейшая эволюция предшественников гранулоцитов осуществляется сокращением клеточного диаметра, изменением формы и структуры ядра.

*Метамиелоцит* – клетка диаметром 10-12 мкм с бобовидным эксцентрично расположенным ядром бледно-фиолетового цвета, компактной структуры. В результате деления миелоцитов образуются нейтрофильные, эозинофильные и базофильные метамиелоциты. Содержание специфических гранул выше, чем на



предыдущей стадии. В ядре появляются глубокие вырезки, хроматин еще более конденсирован. Способность к митозу утрачивается. Эндоплазматическая сеть и полирибосомы присутствуют в меньшем количестве, что свидетельствует о завершении синтеза белков.

*Палочкоядерный гранулоцит* – клетка, непосредственно предшествующая зрелым формам. Образуется при дифференцировке метамиелоцита, диаметр – 10-12 мкм. Ядро изогнуто в виде подковы, фиолетового цвета, грубой структуры. Цитоплазма розовая, занимает большую часть клетки, содержит фиолетовую зернистость. Клетки могут выходить в кровоток и составляют 3-5% от общего количества циркулирующих лейкоцитов. У эозинофильного палочкоядерного гранулоцита цитоплазма не видна из-за обильной, часто расположенной крупной желто-красной зернистости. Палочкоядерная стадия базофильного гранулоцита в кровотоке обычно не встречается.

*Сегментоядерный гранулоцит* – зрелая клетка, образуется в результате дифференцировки палочкоядерных гранулоцитов. Диаметр – 10-12 мкм. Ядро разделено на сегменты, соединенные отдельными перемычками.

– *Сегментоядерный нейтрофил* завершает эволюцию клеток гранулоцитарного ряда. Размеры клетки колеблются от 10 до 15 мкм, ядро дольчатое, хроматин плотный, однородный. Цитоплазма бледно-розового цвета, содержит большое количество зерен. Вторичная специфическая зернистость сегментоядерного нейтрофила окрашена в фиолетовый (коричневый) цвет. Митохондрии, рибосомы и ретикулоэндоплазматическая сеть немногочисленны. Комплекс Гольджи зачаточный, клеточная поверхность нерегулярная и образует многочисленные складки. Клетки способны к амебоидному движению посредством формирования цитоплазматических псевдоподиев, лишенных зернистости. Для клетки типичны две формы движения: у нестимулированной клетки движение произвольное, неорганизованное; целенаправленное движение формируется под воздействием хемотаксических веществ.

– *Сегментоядерный эозинофил*. Ядро состоит обычно из двух долек (сегментов), занимает меньшую часть клетки, большее пространство заполняет крупная желто-красная зернистость. В отличие от нейтрофильной клетки митохондрии, рибосомы, ретикулоэндо-

плазматическая ткань и аппарат Гольджи зрелых эозинофилов лучше развиты и создают впечатление активной с метаболической точки зрения клетки; как и нейтрофил, способен к амебоидному движению.

– *Сегментоядерный базофил* содержит ядро, состоящее из трех сегментов (долек); светло-фиолетовая цитоплазма включает крупную синюю или темно-фиолетовую зернистость, которая налагается на ядро. Митохондрии многочисленны и значительны по размерам.

#### **4.3.4. Лимфоцитопоз**

Протекает в красном костном мозге и лимфоидных органах, характеризуется поэтапной миграцией лимфоцитов. Костный мозг содержит плюрипотентные СКК, которые дают начало частично детерминированным КОЕ-Л. КОЕ-Л служит источником развития трех видов лимфоцитов: В-лимфоцитов, Т-лимфоцитов и натуральных киллеров (НК-клетки). Последующее развитие лимфоидных клеток связано с их пролиферацией и дифференцировкой и разделяется на две фазы: антигеннезависимую и антигензависимую (В.Л. Быков, 2003).

Антигеннезависимая фаза развития Т- и В-лимфоцитов протекает в центральных органах кроветворения и иммуногенеза – тимусе и красном костном мозге. Ее этапы: миграция коммитированных предшественников из красного костного мозга в органы иммуногенеза; приобретение клетками набора антигенспецифических и добавочных рецепторов на плазмолемме; процесс отбора (селекции) клеток с необходимым набором рецепторов и гибель по механизму апоптоза лимфоцитов, не прошедших селекцию; выселение лимфоцитов в просвет сосудов и их миграция в периферические лимфоидные органы с заселением Т- и В-зависимых зон.

Антигензависимая фаза протекает в лимфатических узлах, селезенке, миндалинах, пейеровых бляшках. Она индуцируется антигенными стимулами, сопровождается активацией и пролиферацией лимфоцитов, завершается формированием эффекторных и регуляторных Т-лимфоцитов, плазматических клеток, а также Т- и В-клеток памяти.

К морфологически опознаваемым предшественникам лимфоидного ряда относят: лимфобласт и плазмобласт, пролимфоцит и проплазмоцит, лимфоцит и плазмоцит (В.Г. Михайлов, Г.А. Алексеева, 1986).

*Лимфобласт* – родоначальная клетка лимфатического ряда диаметром 15-20 мкм. Ядро округлое с нежно-сетчатой структурой хроматина, бледно-фиолетовое, расположенное в центре. В нем выделяются 1-2 ядрышка. Цитоплазма светло-синяя, окружает ядро узким пояском, зернистости не содержит. Участок около ядра имеет более светлую окраску.

*Пролимфоцит* – небольшая клетка диаметром 11-12 мкм. Ядро круглое, бледно-фиолетового цвета, с нежной хроматиновой сетью. Иногда содержит остатки ядрышек. Цитоплазма голубая, окружает ядро в виде узкого, иногда в виде широкого ободка, изредка содержит азурофильную зернистость.

*Лимфоцит* – зрелая клетка диаметром от 7-9 до 12-13 мкм в зависимости от величины цитоплазмы. Ядро округлое (иногда имеет вдавливания) темно-фиолетового цвета, компактное. Ядрышек не содержит. Встречаются малые лимфоциты с узким ободком голубой цитоплазмы (образуют популяцию Т- и В-лимфоцитов, большинство лимфоцитов в кровотоке), средние и большие, цитоплазма которых занимает большую часть клетки, менее интенсивно окрашена и содержит азурофильную зернистость. Вокруг ядра всегда выражена перинуклеарная зона. Большие лимфоциты составляют 3% от общего количества циркулирующих в крови лимфоцитов, цитоплазма содержит лизосомы, небольшое количество митохондрий, рудиментарный комплекс Гольджи, незначительное количество эндоплазматической сети и большое – свободных рибосом. Мембрана имеет многочисленные короткие микроворсинки. Большие и средние лимфоциты крови – активированные антигеном В-лимфоциты дифференцируются в плазматические клетки.

К большим лимфоцитам относятся НК-клетки, лишенные характерных для В- и Т-клеток поверхностных детерминант. Составляют до 10% всех циркулирующих лимфоцитов, содержат цитолитические гранулы с перфорином, уничтожают трансформированные, инфицированные вирусами и чужеродные клетки. Идентификация клеток-мишеней не связана с узнаванием белков МНС (как это происходит в случае Т-киллеров); при активации НК-клетки (например, ИЛ-2) приступают к пролиферации.

В-лимфоциты составляют менее 10% лимфоцитов крови, формируют клоны плазматических клеток, способных вырабатывать против конкретных Аг соответствующие АТ. В-лимфоциты дифференцируются в Ig-продуцирующие клетки.

T-лимфоциты крови, преимущественно T-клетки (80% и более), как и B-лимфоциты, узнают, размножаются и дифференцируются на конкретные Ag. Клетки способны узнавать в мембране других клеток белки МНС. Дозревание и дифференцировка клеток происходят в тимусе; покидая его, клетки заселяют периферическую кровь и лимфоидные органы. Каждый клон T-лимфоцитов содержит рецептор строго одной специфичности, представленный Ig-подобным интегральным мембранным гликопротеином. Главная функция T-лимфоцитов – участие в клеточном иммунитете: уничтожают собственные клетки, участвуют в реакциях гиперчувствительности замедленного типа, отторгают чужеродный трансплантат.

*Плазмобласт* – крупная клетка, диаметром 16-20 мкм с округлым центрально или эксцентрично расположенным большим нежной структуры ядром, имеющим несколько ядрышек. Цитоплазма ярко-синего цвета широким поясом окружает ядро, вокруг которого видна перинуклеарная зона.

*Проплазмоцит* – клетка диаметром 20-25 мкм. Ядро расположено эксцентрично, имеет более компактную структуру, фиолетового цвета, содержит небольшое ядрышко. Цитоплазма базофильная, часто включает вакуоли.

*Плазмоцит* имеет размеры от 10 до 20 мкм. Ядро круглое, компактное, расположено эксцентрично. В нем чередуются темно- и светло-фиолетовые участки, расположенные радиально от центра к периферии, что напоминает спицы (колесовидная структура ядра). Ядрышек не содержит. Цитоплазма интенсивно-синего цвета, широкая, вакуолизированная, с отчетливой перинуклеарной зоной.

#### 4.3.5. Моноцитопоз

Процесс развития моноцитов протекает в красном костном мозге и включает ряд последовательных стадий развития:

ГСК → КОЕ-ГЭММ → КОЕ-ГМ → КОЕ-М →  
→ монобласт → промоноцит → моноцит

До достижения стадии зрелого моноцита клетки проходят три деления. Постепенно уменьшается размер клеток и появляется углубление в ядре. Все зрелые моноциты покидают костный

мозг вскоре после формирования. В кровотоке моноциты циркулируют около двух суток, затем мигрируют в ткани.

*Монобласт* – родоначальная клетка моноцитарного ряда диаметром 12-20 мкм. Ядро округлое, иногда дольчатое, нежной структуры, светло-фиолетового цвета, содержит от 2 до 5 ядрышек. Цитоплазма нежно-голубая, занимает меньшую часть клетки.

*Промоноцит* – клетка диаметром 12-20 мкм. Ядро крупное, рыхлое, бледно-фиолетовое, с остатками нуклеол. Цитоплазма широкая, серо-фиолетового цвета.

*Моноцит* – зрелая клетка, самый крупный лейкоцит диаметром 12-20 мкм. Они составляют 2–9% от числа лейкоцитов, циркулирующих в крови. Ядро рыхлое, светло-фиолетового цвета, бобовидной формы, выемка по мере взросления клетки увеличивается и ядро приобретает подковообразную или даже двудольчатую форму. Цитоплазма серо-фиолетовая, светлая, широкая, иногда содержит мелкую обильную азурофильную зернистость. Характерная особенность – обилие лизосом и вакуолей, присутствие в большом количестве рибосом, полирибосом и в незначительном – цистерн гранулярной эндоплазматической сети. Комплекс Гольджи хорошо развит, имеются мелкие митохондрии. Моноциты образуются в костном мозге в течение 2-3-х суток и выходят в кровоток; пока это фактически незрелые клетки, находящиеся на пути из костного мозга в ткани, где они дифференцируются в подвижные макрофаги – их совокупность формирует систему мононуклеарных фагоцитов. Основная функция моноцитов и образующихся из них макрофагов – фагоцитоз. Фагоцитозу подвергаются опсонизированные частицы, в их гидролизе участвуют лизосомные ферменты, а также внутриклеточные  $H_2O_2$ ,  $OH^-$ ,  $O_2^-$ .

Моноциты несут на плазматической мембране различные рецепторы – комплемента (C3), CD4 и др., их активация осуществляется различными веществами, которые образуются в очагах воспаления и разрушения тканей – агентами хемотаксиса и активации моноцитов. В результате активации увеличивается объем моноцита, усиливаются метаболизм и синтез биологически активных веществ – ИЛ-1, GM-CSF, простагландины, ИФН, фактор хемотаксиса нейтрофилов.

Моноциты / макрофаги продуцируют пирогены – эндогенные (ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, фактор некроза опухолей) и экзогенные (эндотоксины), выполняющие специфические функции в иммунитете.

Морфологические особенности, кинетика, жизненный цикл и функции клеток гранулоцитарного, моноцито-макрофагового, лимфо-плазмоцитарного ряда, а также методы исследования, особенности регулирования и патологические вариации широко обсуждаются в руководствах, монографиях, обзорных статьях (Я. Карр, 1978; В.Е. Пигоревский, 1978; Физиология лейкоцитов человека, 1979; Лимфоциты, 1980; Лимфоциты, 1990; А.И. Струков и соавт., 1982; С.Д. Дуглас, П.Г. Куи, 1983; Клиническая гематология, 1985; А.Н. Маянский, Д.Н. Маянский, 1989; Острый разлитой перитонит, 1987; А.А. Пальцын, 1988; Н.И. Бахов и соавт., 1988; Д.Н. Маянский, 1991; А.Н. Маянский, О.И. Пикуза, 1993; Р.М. Хаитов, Б.В. Пинегин, 1995; А.А. Галкин, 1997; В.С. Репин, Г.Т. Сухих, 1998; Н.А. Агаджанян, 1999; Ф.Дж. Шиффман, 2000 и др.).

#### 4.3.6. Тромбоцитопоз

Процесс образования и созревания тромбоцитов протекает в красном костном мозге. Тромбоциты поступают в русло в результате частичной фрагментации мегакариоцитов. Ход развития тромбоцитов описывается схемой (В.Л. Быков, 2004):

СКК → КОЕ-ГЭММ → КОЕ-МГЦ →  
мегакариобласт → мегакариоцит

*Мегакариобласт* – предшественник мегакариоцита, родоначальный морфологически распознаваемый предшественник тромбоцитарного ряда, диаметром 20-25 мкм. Ядро округлой формы, нежной структуры, красно-фиолетового цвета, имеет ядрышки. Цитоплазма интенсивно базофильная, зернистости не содержит, вокруг ядра – зона просветления.

*Промегакариоцит* – более крупная клетка, чем мегакариобласт, ядро грубое, ядрышек не содержит, цитоплазма базофильная, занимает большую часть клетки, зернистость отсутствует.

*Мегакариоцит* – гигантская клетка костного мозга диаметром 60-120 мкм. Ядро грубое, принимает различные формы. Цитоплазма отличается большими размерами, содержит зернистость розово-фиолетового цвета. Дифференцировка цитоплазмы мегакариоцитов начинается после завершения репликации ДНК. Основные процессы:

- 1) разделение цитоплазмы на три зоны – околядерную, промежуточную и краевую;
- 2) образование и накопление гранул, характерных для тромбоцитов, содержащих специфические белки;

3) формирование демаркационных каналов, разрезающих цитоплазму мегакариоцитов на территории размером 2-4 мкм, соответствующих границам будущих тромбоцитов и содержащих гранулы;

4) образование филоподий (протромбоцитов) – узких лентовидных отростков мегакариоцитов, которые через поры эндотелия синусов красного костного мозга проникают в их просвет и распадаются на отдельные тромбоциты.

*Тромбоциты* (кровяные пластинки) – фрагменты костномозговых мегакариоцитов. Диаметр – 3-5 мкм, 2/3 клеток циркулируют в крови, остальные депонируются в селезенке. Старые и дефектные тромбоциты фагоцитируются в селезенке, печени и костном мозге. Клетки в большом количестве содержат митохондрии, элементы комплекса Гольджи и рибосомы, а также гранулы гликогена и ферменты аэробного и анаэробного дыхания. Тромбоциты секретируют ангиогенные факторы, участвуют в свертывании крови и восстановлении целостности стенки сосудов.

Тромбоциты окружены толстым слоем гликокаликса, в который включены  $Ca^{2+}$  и АТФ, усиливающие адгезию и агрегацию.

Цитоскелет тромбоцита содержит контрактильные белки (актин, миозин), участвующие в реакции сжатия тромбоцита и ретракции тромба.

#### 4.4. РЕГУЛЯЦИЯ ГЕМОПОЭЗА

Функциональная система крови отражает сложнейшие интеграции клеток кроветворных органов и их микроокружения, а также форменных элементов, как циркулирующих в крови, так и депонированных. Костный мозг способен отвечать на воздействия внешней среды и обеспечивать устойчивость организма к гипоксии, инфекции, травме и т. д., формируя ответ клеточных линий кроветворной ткани на внешние специфические стимулы среды, например, для эритроидной линии – продукцией эритропоэтина. Существенную роль в регуляции гемопоэза играет строма кроветворных органов (в костном мозге к ней относят сосудистую сеть, остеогенную ткань, образующую эндостальную выстилку костномозговых полостей (И.К. Чертков, А.Я Фриденштейн, 1977), производящую важные для этого процесса компоненты экстрацеллюляр-

ного матрикса (Ю.М. Захаров, И.Ю. Мельников, 1984; Ю.М. Захаров, 2002а). Развитие клеток крови из плюрипотентной стволовой клетки – генетически предопределенный процесс, его регуляция осуществляется лишь на определенных этапах.

#### **4.4.1. Основы регуляция кроветворения**

Характерная черта системы гемопозитических элементов – их пространственная рассосредоточенность, что предопределяет наличие в организме нескольких уровней регуляции кроветворения. В эволюции животных выработалась совершенная регуляторная система, поддерживающая гомеостаз, ее характерная особенность – точный ответ на возмущающие воздействия. Эволюционно древними и наиболее эффективными являются наследуемые внутриклеточные гомеостатические механизмы регуляции митотической активности.

Часть регуляторов (челоны, античелоны) образуются и выделяются самими клетками крови, другие (эритро-, грануло- и тромбопоэтины) – иными тканями, при этом все они – дистантные, дальнедействующие гуморальные регуляторы (Е.Н. Мосягина и соавт., 1976). В отношении клеток крови установлено, что разрушение зрелых или деструктивных форм неизбежно инициирует образование новых клеточных элементов (Я.Г. Ужанский, 1968).

Для СКК характерна близкодействующая регуляция посредством внутрисистемных регуляторных факторов: молекул гемопозитических цитокинов, нейромедиаторов, компонентов экстрацеллюлярного матрикса, формирующего стромальные клетки костного мозга и микроокружения в ЭО, создаваемого центральными макрофагами островка, что обеспечивает ответы кроветворения, адекватные воздействиям среды на организм. Следовательно, СКК получает дифференцирующую информацию от ближайших стромальных элементов либо посредством прямого контакта, либо через их микроокружение. В строме кроветворных органов мозаично расположены локусы («ниши»), каждый из которых индуцирует дифференцировку стволовой клетки только в одном направлении: эритроидном, миелоидном или мегакариоцитарном. Смешанные колонии могут образовываться в результате «захвата» двух ближайших «ниш». Соотношение между тремя микроокружениями составляет постоянную величину (Ю.М. Захаров, 2002).



Количественная регуляция кроветворения на уровне стволовых клеток разработана с учетом теории «критической массы»: дифференцирующие стимулы, достигнув определенной концентрации, вызывают дерепрессию мест транскрипции мРНК и связанный с этим синтез рибосом, тРНК и протеина, что приводит к гипертрофии цитоплазмы клетки. При достижении ее размеров до «критической массы» включается синтез ДНК, и в интервале времени, равном протяженности S-фазы и фазы G<sub>2</sub> (клеточного цикла), клетка начинает делиться. Термин «критическая масса» следует понимать как цитоплазматический сигнал ядру клетки о том, что она стала биологически неполноценной из-за несоответствия площади поверхности объему, поскольку процесс диффузии оказался неэффективным, либо в силу ряда других нераскрытых еще причин (Е.Н. Мосягина и соавт., 1976).

Пространственная гетерогенность гемопоэтических клеток предполагает существование гуморальных факторов, координирующих и регулирующих скорость образования зрелых клеток крови (Ю.М. Захаров, 1970; А.В. Шашкин, И.А. Терсков, 1986). Такая гуморальная регуляция на внутриклеточном уровне возникает на стадии коммитированных стволовых клеток и носит характер дальнедействующей, что позволяет подотделу коммитированных стволовых клеток выполнять «немедленные требования периферии» по увеличению интенсивности гемопоэза. Регуляция гемопоэза на этом уровне осуществляется гормонами – поэтинами – по принципу отрицательной обратной связи. Регуляция гемопоэза на стадии активно пролиферирующих эритропоэтических и гранулоцитарнопоэтических элементов также гуморальная.

Кинетическая модель кроветворения предложена И.Л. Чертковым (1977). Функции стволовой клетки выражены в процессах: пролиферация, дифференцировка, миграция. Каждый из процессов регулируется определенным фактором, динамически связывающим пул стволовых клеток с другими отделами гемопоэтической системы. В процессах количественной регуляции гемопоэза основное место занимают межклеточные взаимодействия.

Первичные механизмы поддержания внутриклеточной митотической активности осуществляются с участием активаторов и ингибиторов деления (челонов и античелонов), действующих в фазе перехода G<sub>1</sub> в S. Челон предотвращает, а античелон стимулирует выход делящихся клеток в фазу синтеза ДНК. Их эффек-

ты, основанные на обратных изменениях в синтезе короткоживущей РНК, включаются в механизм репрессии и дерепрессии транскрипции РНК.

Механизмы нейрогуморального воздействия, приобретаемые в процессе развития, вторичны. Они являются внутрисистемными регуляторными факторами, приводящими продукцию кровяных клеток в соответствие к запросам организма в зависимости от условий жизни.

Впервые ведущая роль нервной системы в регуляции гемопоэза и перераспределении клеток крови отмечена русским клиницистом С.П. Боткиным (1883). В раскрытии механизма нервных влияний на кроветворную функцию большое значение имеют исследования В.Н.Черниговского и А.Я. Ярошевского (1967, 1972, 1982), установивших наличие двусторонних связей кроветворных органов с центральными структурами нервной системы и возможность условнорефлекторного «вызова» гемопоэза. Кроветворные органы имеют обильную иннервацию и большое число интерорецепторов (В.Н. Черниговский, 1960). Информация от них поступает в центральную нервную систему (продолговатый мозг, гипоталамус, лимбическую систему, кору больших полушарий головного мозга); эфферентные импульсы к кроветворным и кроверазрушающим органам изменяют их деятельность в соответствии с потребностями организма. В частности, раздражение нервов, идущих к красному костному мозгу, увеличивает образование эритроцитов на 13-15% (С.П. Боткин, 1883).

Влияние вегетативной нервной системы (ВНС) на систему крови происходит по пути перераспределения крови или активации / ингибиции гемопоэтических органов. Непосредственная регуляция гемопоэза осуществляется симпатическим отделом ВНС с участием  $\alpha$ - и  $\beta$ -адренорецепторов, обнаруженных на колониеобразующих единицах гранулоцитарно-эритроцитарно-моноцитарно-мегакариоцитарных, бурстобразующих и колониеобразующих эритроцитарных единицах (БОЕ-Э и КОЕ-Э), на макрофагах и фибробластах. Симпатические нервные окончания в ткани костного мозга при стимуляции гемопоэза активируют секрецию адреналина, норадреналина, дофамина (К.В. Судаков, Ю.М. Захаров, 2002).  $\alpha$ - и  $\beta$ -адренорецепторы эритроцитарных мембран участвуют в осуществлении контроля морфофункционального состояния клеток. В частности, установлена зависимость

природной гетерогенности популяции красных клеток крови и их резистентности от состояния  $\beta$ -адренорецепторов мембран, контролируемая активностью симпатического отдела ВНС (Е.Д. Гольдберг и соавт., 1997; И.Л. Чертков, О.А. Гуревич, 1984).

Гуморальные физиологические регуляторы гемопоэза – гемопоэтины (A.S. Gordon, 1959; Физиология системы крови, 1968; Иммунофизиология, 1993). Эритропоэз стимулируют эритропоэтин – гормон гликопротеиновой природы, образующийся преимущественно в почках; небольшое количество эритропоэтинов синтезируется в печени и подчелюстных слюнных железах. Клетками-мишенями для эритропоэтинов служат ядерные эритроидные предшественники в костном мозге (КОЕ-Э), их дифференциация обусловлена активацией скорости биосинтеза гемоглобина.

Гемопоэтические факторы образуются стромой кроветворных органов и костномозговыми фибропластами. Микроокружение костного мозга – важнейший компонент кроветворного механизма. Эритроидные предшественники, размещенные на ячеистой сети костномозговых фибробластов, быстро развиваются и втискиваются между ними, поскольку для дифференцировки эритроидных клеток требуется их адгезия к окружающим структурам. Помимо этого, фибробласты и эндотелиальные клетки синтезируют ростовые факторы кроветворения.

Для нормального эритропоэза необходимы железо, магний, кальций, медь и другие элементы. Железо поступает в костный мозг при разрушении эритроцитов, из депо, с пищей и водой. При дефиците железа в организме развивается железодефицитная анемия. Всасыванию железа в кишечнике способствует аскорбиновая кислота, переводящая  $Fe^{3+}$  в  $Fe^{2+}$ , который сохраняет растворимость при нейтральных и щелочных значениях pH. Функцию переносчика железа в ткани выполняет белок трансферрин. В тканях, имеющих трансферриновые рецепторы, комплекс трансферрин – железо разрушается и освободившийся элемент вступает в связь с другим белком – ферритином. В форме такого комплекса железо поступает в костный мозг, накапливается в клетках – предшественницах зрелых эритроцитов и используется для синтеза гема (В.Н. Петров, 1979).

Магний оказывает прямое антиоксидантное действие на клетки крови (A.M. Freedman et al., 1992), способствует накоплению макроэргов в эритроцитах через связь с процессами гликоли-

за и утилизации глюкозы (M.R. Laughlin, D. Thompson, 1996); участвует в поддержании высокого уровня гидратации клеток через ингибицию  $K^+, Cl^-$ -котранспорта, активацию  $Na^+, K^+, Cl^-$ -котранспорта и  $Na^+, K^+$ -АТФазы (P.W. Flatman, V.L. Lew, 1981; L. De Franceschi et al., 2001); магний является антагонистом кальция и активатором  $Ca^{2+}$ -АТФазы (A. Zhang et al., 1992). Влияние  $Mg^{2+}$  на углеводный, элементный обмен и транспортные мембранные системы эритроцитов предопределяет существенное влияние элемента на микроциркуляцию эритроцитов (С. Dupuy-Fons et al., 1995; W. Meir et al., 1985). Однако направленность этих влияний у человека (А.А. Мельников, А.Д. Викулов, 2005) дозозависимая.

Обязательными компонентами нормального эритропоэза являются биоэлементы медь и кобальт – участники синтеза гемоглобина (А.В. Скальный, И.А. Рудаков, 2004).

Для эритропоэза необходимы фолиевая кислота и витамин  $B_{12}$ , оказывающие взаимовлияющее действие в процессах образования эритроцитов. Их называют внешними факторами кроветворения. Для всасывания витамина  $B_{12}$  необходим внутренний фактор – гастромукопротеин, секретлируемый главными железами желудочных желез пилорической части желудка (Кастл, 1926). Помимо желудка, гемопоэтической активностью обладают также двенадцатиперстная, тощая, толстая и особенно подвздошная кишки. В эритропоэзе принимают участие витамин  $B_6$  (необходим для образования липидной стромы эритроцита) и другие витамины группы В.

Интенсивность эритропоэза значительно возрастает при обильных и быстрых кровопотерях, гипоксии, при патологическом разрушении зрелых форм эритроцитов, заболеваниях сердца и легких.

Разрушение отживших эритроцитов происходит в печени, селезенке. Старые эритроциты могут гемолизироваться и непосредственно в кровяном русле. При разрушении эритроцитов гемоглобин распадается на гем и глобин. Железо гема используется для синтеза гемоглобина или депонируется в печени, селезенке и слизистой оболочке тонкой кишки.

Лейкопоэз стимулируется продуктами воспаления, распада тканей, микроорганизмами и их токсинами, влияющими на образование лейкопоэтинов, которые воздействуют на дифференциацию клеток костного мозга. Усиливают лейкопоэз адренкортикотро-

пин и соматотропин гипофиза и витамин В<sub>6</sub>. Разрушаются лейкоциты в слизистой оболочке пищеварительного тракта и в ретикулярной ткани. В регуляции лейкопоеза особую роль играют интерлейкины. Помимо стимуляции гемопоэза некоторые из них выступают факторами роста и развития базофилов (ИЛ-3), необходимы для образования эозинофилов (ИЛ-5), для дифференцировки Т- и В-лимфоцитов (ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-7).

В организме человека выделяют два пула (типа) гранулоцитарных резервов – сосудистый и костномозговой, мобильно реагирующие на воздействия среды развитием в организме лейкоцитоза. Первый представлен гранулоцитами, в значительном количестве расположенными в кровеносных сосудах пристеночно, откуда они быстро мобилизуются в ткани при повышении тонуса симпатической нервной системы. Количественно костномозговой пул гранулоцитов в 50 раз превышает сосудистый.

Тромбоцитопоэз стимулируют тромбоцитопоэтины. Химически они связаны с  $\gamma$ -глобулинами. В зависимости от места образования и механизма действия различают тромбоцитопоэтины короткого и длительного действия. Первые образуются в селезенке, они способствуют ускорению образования зрелых мегакариоцитов, отшнуровке кровяных пластинок и их выходу в кровь. Активность тромбоцитопоэтинов усиливается под влиянием ИЛ-6 и ИЛ-11. Вторые содержатся в плазме крови, попадая в костный мозг, они стимулируют образование тромбоцитов. Тромбоцитопоэз значительно возрастает при кровопотерях и стрессах.

#### **4.4.2. Механизмы ауторегуляции эритрона**

В эволюции у животных сформировались системы регуляции, в том числе местная, не зависящая от эфферентной иннервации и действия приносимых с кровью сигнальных веществ, получившая название ауторегуляции (А.Я. Росин, 1984).

Важнейшая функция системы эритрона – обеспечение тканей кислородом для осуществления молекулярных окислительно-восстановительных процессов. Оптимальный для метаболизма уровень эритроцитов и кислородтранспортная емкость крови поддерживаются в организме специальной функциональной системой, включающей компоненты, связанные с саморегулируемыми процессами: результат деятельности системы, обратную афферентацию, нервный центр, исполнительные структуры (ко-

стный мозг, почки, печень, макрофаги костного мозга и селезенки) и обратную афферентацию. Конечный полезный приспособительный результат в системе – изменения в эритроэне, направленные на снижение тканевой гипоксии (Функциональные системы организма, 1987; К.В. Судаков, Ю.М. Захаров, 2002).

В физиологических условиях эритроэне характеризуется ритмичностью, благодаря чему количество эритроцитов поддерживается на относительно неизменном уровне (О.И. Моисеева, 1985).

В саморегуляции эритроэне важную роль играет межклеточное (креаторное) взаимодействие через микроокружение тканей. Креаторное взаимодействие – эволюционно древний механизм регуляции в организме – осуществляется макромолекулами (кейлонами), несущими информацию, необходимую для управления внутриклеточным синтезом специфических молекул белка для облегчения дифференцировки, развития и объединения клеток в ткани.

Одним из физиологических механизмов регуляции нормального клеточного равновесия в системе эритроэне выступает неэффективный эритропоэз (Т.Г. Сарычева, Г.И. Козинец, 2001), связанный с процессом апоптоза. Апоптоз – процесс физиологической гибели клеток – является общебиологическим механизмом регуляции клеточной численности, наиболее широко представлен в быстро пролиферирующих популяциях гемопоэтических клеток. Регуляция гемопоэза во многом основана на способности клеток самоуничтожаться. В костном мозге здоровых людей разрушается от 5 до 20% эритроидных предшественников; при анемиях различного происхождения неэффективный эритропоэз возрастает до 50% и более (С.И. Рябов, 1971; Исследование системы крови в клинической практике, 1997).

Морфологический состав периферической крови существенно изменяется при экстремальных воздействиях на организм. Среди регуляторов эритропоэза особую роль играет гипоксия, вызванная, например, кровопотерей, гипобарическим фактором, недостаточностью функций дыхания и кровообращения, нарастанием метаболических потребностей организма. Изменение кислородтранспортной функции крови в условиях гипоксии установлено на клеточном уровне. Выявлена положительная корреляция между процессами ПОЛ и антиоксидантной системой с ухудшением деформируемости эритроцитов (В.В. Зинчук, 2001).

Гипоксия приводит к изменению среды функционирования гемоглобина в циркулирующих эритроидных элементах (Н.Ф. Стародуб, Ю.Н. Токорев, 1986). В частности, показана перестройка углеводного обмена в эритроцитах на более ранних этапах развития гипоксии, сопровождающаяся накоплением в них 2,3-ДФГ, что обеспечивает высокую степень дезоксигенации гемоглобина в тканях из-за снижения его сродства к кислороду. Оказалось, что 2,3-ДФГ уменьшает сродство гемоглобина к кислороду при различных видах гипоксии (О.И. Моисеева, 1985; Н.Ф. Стародуб, В.И. Назаренко, 1987), и таким образом все системные процессы настраиваются на оптимизацию стимулируемого гипоксией эритропоэза.

Активация при гипоксии разного генеза кислородных сенсоров почек, печени, селезенки, костного мозга, хеморецепторов сосудов, инициирует продукцию эритропоэтина (ЭП) и других эритропоэтических гуморальных факторов (например, глюкозаминогликанов), усиливающих бурстпромоторную активность (суммарный эффект ИЛ-3, КСФ-ГМ – грануломоноцитарный колониестимулирующий фактор, фактор стволовой клетки). В итоге активируются пролиферация и дифференциация КОЕ-ГМЭ, БОЕ-Э, КОЕ-Э, возрастают эритропоэтический эффект микроокружения эритроидных клеток в эритробластических островках и афферентная сигнализация, поступающая в ЦНС от сосудистых хеморецепторов. Эти процессы формируют звено обратной афферентации (К.В. Судаков, Ю.М. Захаров, 2002). Эритропоэтин, в свою очередь, воспринимается рецепторами кроветворных клеток – клетками-предшественниками и эритробластами.

Существенный вклад в разработку вопросов ауторегуляции в системе эритрона внесли исследования, выполненные под руководством Я.Г. Ужанского (1968). Показана роль гипоксии в усилении катаболических процессов в организме и развитии эритродиереза, при этом стимуляция регенерации красной крови наступает вторично и опосредована действием высвобождающихся при лизисе эритроцитов биологически активных веществ и синтезом эритропоэтина. Явление эритродиереза установлено в модельных опытах, например, при регенерации крови после кровопотери или гипоксической гипоксии (Н.А. Горбунова, 1985; Я.Г. Ужанский, 1968; Нормальное кроветворение и его регуляция, 1976). Существует мнение, что эритропоэтический эффект про-

дуктов распада эритроцитов опосредуется через набор фагоцитирующих мононуклеаров, это подтверждено исследованиями эритропоэтической функции макрофагов. Установлены стимулирующие эффекты на эритропоэз микровезикул из плазмолеммы эритроцитов, образующихся в процессе старения клеток (К.В. Судаков, Ю.М. Захаров, 2002).

Интенсивное функционирование структур в дифференцированных клетках всегда сопровождается нарастанием скорости их распада. Предполагают, что так называемый «метаболизм изнашивания» или прямо воздействует на генетический аппарат клетки, или выступает в роли фактора-эффектора, снимающего репрессию регуляторных генов при синтезе белка. После увеличения массы функционирующего органа снижается интенсивность функционирующей структуры, что ведет к обратному процессу – снижению образования «метаболитов изнашивания», подавлению активности синтеза белка и инволюции гипертрофированной структуры.

Следовательно, процессы эритропоэза и эритродиереза представляют собой физиологически единый процесс образования эритроцитов. В момент стимуляции эритропоэза усиливаются гемолитические свойства крови и аутоиммунные процессы.

#### **4.4.3. Роль эритропоэтинов в регуляции эритропоэза**

Эритропоэз (на уровне родоначальных клеток) – процесс двухэтапный: 1) плюрипотентные стволовые клетки трансформируются в коммитированные клетки; 2) коммитированные эритропоэтинчувствительные клетки дифференцируются в проэритробласты. Все последующие изменения, включая лимитированное число делений активно пролиферирующих клеток эритрона, и синтез гемоглобина отражают процесс созревания, заканчивающийся образованием эритроцитов. Объектом регулирования является пул эритропоэтинчувствительных клеток (ЭПЧК). При увеличении или уменьшении ЭПЧК, способных вступить на путь эритроидной дифференцировки, изменяется и число вновь образованных красных клеток крови (В.Н. Черниговский, О.И. Моисеева, 1982). При этом эритропоэтин рассматривается и как индуктор эритроидной дифференцировки, и как стимулятор пролиферации эритропоэтинчувствительных клеток, т. е. активно влияет на «плацдарм» эритропоэза (Ю.М. Захаров, 1970; Н.А. Федоров, М.Г. Кахетелидзе, 1973; О.И. Моисеева, 1979).



Эритропоэтин (ЭП) представляет собой термостабильный эфиронерастворимый гликопротеин с молекулярной массой 34 кДа, содержит сиаловую группу и мигрирует при электрофорезе с  $\alpha_2$ -глобулином; содержит полипептидные группы. До 85-90% гормона образуется в перитубулярных клетках почки в области перехода кортикального вещества почек в медулярный слой. Гемсодержащий белок перитубулярных клеток, связывающий молекулу кислорода, высокочувствителен к гипоксии (Е.Ф. Морщакова, А.Д. Павлов, 1974; Е.Н. Мосягина и соавт., 1976; О.И. Моисеева, 1979). Следовательно, почки обладают свойством кислородного сенсора. Установлено, что кислородный сенсор клеток почек улавливает изменения  $P_{O_2}$  между 25 и 50 мм рт. ст. По некоторым данным, почечный порог  $P_{O_2}$ , ниже которого начинает увеличиваться продукция ЭП, лежит между 20 и 40 мм рт. ст. Уменьшение гематокрита периферической крови (с 40 до 15-20%) в 300 раз увеличивает образование эритропоэтиновой иРНК в почках. Механизм, позволяющий гипоксии резко усиливать воспроизводство ЭП (т. е. чувствительность эритропоэтинчувствительных клеток почек и печени к изменению  $P_{O_2}$ ), исследован на молекулярном уровне (Ю.М. Захаров, 2000; Ю.М. Захаров, А.Г. Рассохин, 2002).

По современным представлениям, процесс эритропоэза у человека и животных эритропоэтинзависимый. Посредством стимуляции или ингибиции продукции эритропоэтина почки могут участвовать как в повышении синтеза эритроцитов, так и в его подавлении. Образующийся в почках эритропоэтин соединяется со своим ингибитором и становится неактивным. «Связанный» эритропоэтин депонируется в почечной ткани и поступает (по мере необходимости) в кровяное русло, где специфический плазменный фактор отщепляет ингибитор ЭП – гормон становится активным (О.И. Моисеева, 1970; 1979а; А.Г. Румянцев и соавт., 2003).

У нефрэктамированных животных не установлено полного прекращения в организме синтеза эритропоэтина, поскольку в экстраренальном образовании гормона участвуют также печень, селезенка и подчелюстные слюнные железы; наиболее изучена роль печени в этих процессах. Методом культивирования тканей печени, взятых от плодов мышей, в течение месяца в среде, содержащей 20% лошадиной сыворотки, были получены доказа-

тельства участия печени в продукции эритропоэтина. Эритропоэтин, выявленный в культуральной среде, терял активность после добавления в среду антисыворотки. Биологическую эффективность вновь образовавшегося гормона оценивали по его влиянию на включение радиоактивного железа в эритроциты полицистических мышц и на рост эритроидных колоний в селезенке облученных мышцей. Известно, что в эмбриональном периоде печень и селезенка млекопитающих обладают кроветворной функцией, поэтому закономерно участие этих органов в продукции эритропоэтина (в определенных условиях) [цит. по: О.И. Моисеева, 1979, с.140].

В экстраренальном образовании эритропоэтина существенна роль подчелюстных слюнных желез. Их удаление, денервация или перерезка протоков снижают (у крыс) экстраренальную продукцию эритропоэтина в ответ на стимулирующие воздействия (гипоксия, кровопотеря). Вероятно, одна из причин ингибиции синтеза эритропоэтина в этих опытах – снижение сосудистого тонуса. В экспериментах, выполненных М.А. Медведевым и соавт. (2001) на белых крысах, по изучению количественных показателей периферического звена эритрона в условиях гипер- и гипосальвации, также установлено, что динамика функциональной активности слюнных желез сопровождается изменениями со стороны системы красной крови. При сниженной функциональной активности слюнных желез наблюдается развитие регенераторной анемии через 2-4 недели после начала эксперимента. При гиперактивности слюнных желез через 2 недели после начала эксперимента иницируется эритропоэтическая функция костного мозга, о чем свидетельствуют рост числа ретикулоцитов в периферической крови, эритроцитоз, повышенное содержание гемоглобина.

Функциональное состояние системы красной крови в условиях различного уровня функциональной активности слюнных желез зависит от количества эритропоэтина, продуцируемого (наряду с почками и печенью) слюнными железами. При дефиците гормона происходит угнетение процессов кроветворения. В условиях же гиперсальвации через две недели после удаления резцов нарастает количество эритроцитов в периферической крови, что связано с увеличением синтеза эритропоэтина вследствие повышенной функциональной активности слюнных желез (М. А. Медведев и соавт., 2001).

Роль селезенки в гипоксической стимуляции эритропоэза показана Л.С. Горожаниным и А.Н. Булыгиным (1971). Удаление селезенки, согласно их наблюдениям, приводит к значительному угнетению эритропоэтической реакции в условиях прерывистой гипоксии. Гипоксия любой природы активизирует в клетках селезенки экспрессию эритропоэтиновой иРНК и биосинтез эритропоэтина.

В онтогенезе в организме формируется эритропоэтинообразующая система: в эмбриональном периоде печень не только кроветворный, но и эритропоэтинообразующий орган. В постнатальный период печень утрачивает эту функцию, и почки становятся основным органом синтеза ЭП.

Эритропоэтин ингибирует апоптоз, инициирует деление и укорачивает время созревания эритроидных клеток-предшественниц, при этом скорость эритропоэза возрастает. Под влиянием больших доз ЭП в циркулирующую кровь поступают макроцитарные ретикулоциты. Они ускоренно образуются из полихроматофильных эритробластов, перескакивая через митотическое деление (С.И. Рябов, 1971; С.И. Рябов, Г.Д. Шостка, 1973; А.Д. Павлов, В.М. Морщакова, 1987; А.Д. Павлов, 1988).

С позиций кинетики эритрона и функций СКК эритропоэтин может осуществлять влияние на этапах:

- 1) стимуляции пролиферации и созревания ранних и промежуточных ЭЧК в отделе ЭКП;
- 2) индукции терминальной дифференциации поздних ЭЧК в проэритробласты;
- 3) укорочения интермитотического периода генерализационного времени, повышения количества митозов в единицу времени у делящихся клеток эритрона;
- 4) ускорения созревания неделящихся клеток (нормобласты и костномозговые ретикулоциты);
- 5) исключения одного или нескольких промежуточных (обязательных) митотических делений («перескоки делений»);
- 6) уменьшения величины «неэффektivного эритропоэза» (гибель эритроидных клеток в костном мозге).

В основе этих влияний лежит ускорение процесса синтеза гемоглобина. Первые два этапа – основные, остальные – дополнительные, включающиеся при эритропоэтическом стрессе [S. Fischer, 1962; цит. по: А.Д. Павлов, 1988, с. 120].

На молекулярном уровне эффект эритропоэтина на клетки-мишени связан с ускорением синтеза РНК. Эритропоэтин *in vivo* стимулирует пролиферацию и терминальную дифференциацию ЭЧК, а также пролиферацию ранних ядродержащих клеток эритрона. Эритроидная дифференциация и пролиферация, индуцированные эритропоэтином, сопровождаются интенсивным транспортом активированных аминокислот к полирибосомам, где специфические мРНК программируют синтез белков, входящих в состав клеток эритрона, в частности гемоглобина (А.Д. Павлов, 1988).

Анализ биохимических процессов, инициированных ЭП, позволил построить модель репликации и дифференцировки ЭЧК, включающую три фазы их развития:

а) сенсбилизация – образование в ЭЧК рецептора для эритропоэтина;

б) индукция – изменение транскрипции мРНК, специфичных для синтеза гемоглобина и других белков эритрона;

в) специализация – осуществление всех биохимических и морфологических модификаций, необходимых для синтеза ферментов, участвующих в процессе гемоглобинообразования (обзор Е.Н. Баркова, 1979).

Каждая из отмеченных фаз характеризуется развитием специфических морфологических и биохимических признаков, последовательность формирования которых определяется синтезом и функцией различных типов РНК, обеспечивающих транспорт железа в клетку, образование ферментов синтетического пути гема, цепей глобина и гемоглобина, мембранных белков и эритроцитарных антигенов. В ходе специализации некоторые функции, характерные для ранних эритроидных клеток (синтез ДНК, РНК, митозы), утрачиваются (Э.Н. Баркова, 1979; А.Д. Павлов, В.М. Морщакова, 1987).

ЭП взаимодействует с высокочувствительными рецепторами – интегральными белками мембраны эритроидных клеток-предшественниц. Активация эритропоэтина надмембранной части рецептора на клетке реализуется после взаимодействия одной молекулы эритропоэтина с двумя его рецепторами. Рецептор эритропоэтина состоит из двух субъединиц (массой 10 и 120 кДа), т. е. из двух связывающих ЭП участков – высоко- и низкоэффективного к ЭП на поверхности эритроидной клетки-предшественницы. Связывание ЭП высокочувствительными рецепторами не-

обходимо для полного биологического эффекта гормона. Количество рецепторов на мембране эритроидных клеток колеблется от 100 до 1000, сродство рецепторов к ЭП и масса ЭП варьирует от 10 пмоль до 10 нмоль. В физиологических количествах гормон связывается с клетками, имеющими высокоаффинные рецепторы эритропоэтина (Ю.М. Захаров, 2000; К.В. Судаков, Ю.М. Захаров, 2002).

Рецептор ЭП относится к «новой суперсемье рецепторов цитокинов». Надмембранная их часть включает также рецепторы ИЛ-2, ИЛ-3, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-7, колониестимулирующего фактора гранулоцитарно-моноцитарного, тромбоцитопоэтина, пролактина, гормона роста и обеспечивает связывание лиганда (цитокинов, гормонов) с рецептором гемopoэтической клетки. Цитоплазматическая часть этих рецепторов богата пролином, серином и кислыми остатками, а также имеет в проксимальном районе консервативные последовательности – box-1 и box-2, содержащие 20 аминокислотных последовательностей. Карбоксильное окончание рецептора ответственно за сигнализацию, предотвращающую апоптоз клетки. Нарушение функции рецепторов цитокинов может вызвать тяжелые негативные изменения в системе крови (Ю.М. Захаров, 2002; Ю.М. Захаров, А.Г. Рассохин, 2002).

Эритропоэтин посредством передачи сигнала от рецептора к геному клетки активирует транскрипцию гена глобина, его  $\alpha$ - и  $\beta$ -цепей, усиливает пролиферацию и дифференциацию эритропоэтинчувствительных клеток, воздействуя на транскрипционные факторы, находящиеся в цитозоле эритроидных клеток в неактивном состоянии. К ним относятся ядерные факторы NF-E<sub>1</sub> (обозначаемые так же, как GF-1, Eryf-1, GATA-1), NF-E<sub>2</sub>, NF-KB/REL и STAT-5:

NF-E<sub>1</sub> ответствен за регуляцию транскрипции генов  $\alpha$ - и  $\beta$ -цепей глобина, рецепторов ЭП в эритроидных клетках. При нарушении функции NF-E<sub>1</sub> развитие эритроидных клеток-предшественниц обрывается на стадии проэритробластов, которые при этом дефекте быстро погибают;

NF-E<sub>2</sub> – лицинсодержащий фактор транскрипции, связывается с ДНК в районе локуса, контролирующего синтез  $\alpha$ - и  $\beta$ -цепей глобина; NF-E<sub>2</sub> экспрессируется в мультипотентных гемopoэтических клетках-предшественницах до их коммитирования в эритроидную линию;

NF- $\kappa$ B/REL относится к семье факторов транскрипции, реализующих ответ генома гемопоэтических клеток на цитокины – опухольнекротизирующий фактор –  $\alpha$  (ОНФ- $\alpha$ ), ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-10, эритропоэтин;

STAT-5 – латентный цитоплазматический транскрипционный фактор, так называемый сигнальный трансдуктор и активатор транскрипции в гемопоэтических клетках. Выявлены 6 членов этой семьи: STAT-1 – STAT-6 (Ю.М. Захаров, 2000; 2002, 2002а; Ю.М. Захаров, А.Г. Рассохин, 2002; К.В. Судаков, Ю.М. Захаров, 2002).

Уровень ЭП теснейшим образом связан с транспортом кислорода и метаболическими потребностями тканей, при этом эритроциты не только переносят кислород, связанный гемоглобином, но и модулируют сродство гемоглобина и кислорода. Повышение объема доставляемого к тканям кислорода обеспечивают также органы кровообращения (без изменения общего содержания гемоглобина). Однако только функциональное взаимодействие систем крови, дыхания и кровообращения, участвующих в транспорте кислорода, определяют кислородтранспортную емкость крови, и если она оказывается недостаточной для обеспечения физиологических функций, происходит запуск повышенной продукции ЭП, тем самым реализуется механизм экономизации функций организма (В.Н. Черниговский, О.И. Моисеева, 1982).

Регуляция образования эритропоэтина осуществляется при участии нейрогуморальных механизмов, обеспечивающих оптимальное приспособление организма к постоянно изменяющимся условиям существования. Основным стимулом, вызывающим образование эритропоэтина, служит гипоксия (П.Д. Горизонтов, 1983). В процессе образования гормона выделяют две фазы: программную и синтетическую (S.G. Emerson et al., 1985). В первой фазе клетки почек воспринимают эритропоэтический стимул и «определяют» уровень продукции эритропоэтина; во второй – синтезируют гормон (или его предшественника); в этот период клетки уже не способны воспринимать новые стимулы и изменять уровень продукции, запрограммированный в первой фазе (О.И. Моисеева, 1979).

Роль почечного сенсора, реагирующего на изменения парциального давления, выполняют  $\beta$ -адренергические рецепторы метаболического типа. Блокада рецепторов этой группы тормозит

образование эритропоэтина в ответ на гипоксию (R. Fettiplace, D.A. Haydon, 1980).

При стрессах помимо рефлекторных реакций органов кровообращения и дыхания (перераспределение крови), направленных на увеличение количества доставляемого кислорода и модуляции сродства гемоглобина к кислороду, важную роль в изменениях газотранспортной функции гемоглобина играет внутриэритроцитарная среда, в частности внутриклеточная концентрация физиологически активных лигандов гемоглобина:  $H^+$ ,  $CO_2$ , 2,3-ДФГ, рассматриваемых как адаптивный механизм, облегчающий транспорт кислорода к тканям.

Непосредственное влияние на органы, секретирующие ЭП, оказывает гипоталамус; он полностью контролирует гемопоэз. Неспецифическая реакция на экстремальные воздействия реализуется возбуждением гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы и проявляется в изменении эритроцитопоэза грануло- и лимфопоэза. В ходе развития адаптации происходит чередование активности трофо- и эрготропных центров гипоталамуса с соответствующими изменениями картины крови. В этой ситуации гуморальные факторы (АКТГ, глюкокортикоиды, катехоламины, гемопоэтины) становятся доминирующими и маскируют механизмы гипоталамической регуляции (обзор О.Г. Баклаваджян, 1981). Стимуляцию заднего гипоталамуса инициируют ретикулоцитоз, лейко- и тромбопоэз, эритропоэз и быстрое поступление эритроцитов в кровоток, увеличение объема крови (О.И. Моисеева, 1979; T. Feizi, R.A. Childs, 1985; A.M. McLough, R. Josephs, 1990). Для получения положительного эритропоэтического эффекта заднего гипоталамуса необходима целостность холинэргической иннервации. Введение атропина снижает ответ на гипоксию. При повреждении заднего гипоталамуса крысы (Н. Нечаев, А. Логофетов, 1971) и кролики (Э.В. Киракосян, 1969) реагируют на анемию более высоким подъемом ЭП. Многократная стимуляция заднелатерального отдела гипоталамуса вызывает сокращение сроков репарации крови у животных – доноров костного мозга.

Литературные данные, касающиеся участия переднего гипоталамуса в гемопоэзе противоречивы, а развитие эритроцитоза при раздражении переднего гипоталамуса исследователи объясняют диффузным, мозаичным распределением симпатизирующих структур в пределах всей гипоталамической области.

Э.В. Киракосян (1969) наблюдал развитие анемии, но без изменения уровня ЭП при разрушении переднего гипоталамуса. Кратковременная электростимуляция различных отделов гипоталамуса не сопровождалась какими-либо изменениями эритропоэтических свойств плазмы; на фоне продолжительной стимуляции отмечалось повышение концентрации ЭП в плазме у нормальных и нефрэктомизированных животных (S. Halvorsen, 1968; S. Halvorsen et al., 1972; Е.А. Mirand, 1968). Исследованиями М. Монье (1968) установлено, что преобладание симпатического тонуса угнетает лимфопоэз и инициирует развитие лимфопении; преобладание парасимпатического тонуса стимулирует лимфопоэз вследствие синтеза лимфоцитопоэтинов печени через возбуждение блуждающего нерва.

У крыс и кроликов гипофизэктомия снижает эритропоэтический ответ на гипоксию. Такое же влияние оказывает и разрушение вентральной (средней) части гипоталамуса у кроликов. Однако введение перед моделированием гипоксии АКТГ сопровождается появлением у оперированных животных эритропоэтической реакции. В то же время у животных с поврежденным задним гипоталамусом введение АКТГ не восстанавливало эритропоэтический ответ на гипоксию. Следовательно, задний отдел гипоталамуса обладает самостоятельным, не опосредованным через гормоны гипофиза влиянием на продукцию эритропоэтина. Повреждение ядер переднего гипоталамуса приводит к торможению эритропоэтического ответа (К.В. Судаков, Ю.М. Захаров, 2002).

При гипоксии происходит генерализованное усиление эфферентной симпатической импульсации; угнетение почечного кровотока и повышение активности ренина в плазме наблюдается при электростимуляции нервов почек. При денервации почки сохраняют способность реагировать повышением ЭП на кровопотерю и гипоксическую гипоксию. Многоконтурность регуляции внутрипочечного кровообращения позволяет обеспечить адекватную реакцию микроциркуляторного русла почки на гипоксию при ее денервации.

Стимуляция отдельных участков гипоталамуса вызывает у экспериментальных животных множественные изменения, т. е. гипоталамус может непосредственно влиять на секрецию ЭП.

В регуляции эритропоэтинообразующей системы организма принимают участие гормоны. Получено экспериментальное под-



тверждение активирующего влияния гормонов гипофиза, щитовидной железы, надпочечников на продукцию эритропоэтина. Андрогены и эстрогены оказывают противоположное влияние на продукцию эритропоэтина в организме, с чем в значительной мере связаны половые различия эритроцитарного состава крови. Имеются данные, что наряду со стимулирующим влиянием на образование эритропоэтина они инициируют образование эритропоэтинчувствительных клеток из клеток – предшественниц эритропоэза (Е.А. Mirand, A.S. Gordon, 1966; A.S. Gordon et al., 1968).

АКТГ, глюкокортикоиды (кортизол, преднизолон), соматотропин, тиреоидные гормоны ( $T_3$  и  $T_4$ ) стимулируют синтез ЭП у постгипоксических полицетимичных мышей и гипофизэктамированных крыс; у последних значительно редуцирован эритропоэтический ответ на гипоксию (С.И. Рябов, 1971; П.Д. Горизонтов, 1983).

Итак, эритропоэтин играет важнейшую роль в регуляции эритропоэза: инициирует переход ЭЧК в более дифференцированные клетки и процесс их развития; контролирует синтез гемоглобина и величину неэффективного эритропоэза; индуцирует активность гормонов.

Установлено, что продукция форменных элементов крови поддерживается на необходимом уровне посредством выработки не только веществ, стимулирующих гемопоэз, но и факторов, его тормозящих. Научные сведения об ингибиторах гемопоэза достаточно противоречивы. Нет ответа на вопрос: существуют ли специфические ингибиторы или тормозящую эритропоэз функцию выполняют неспецифические вещества (О.И. Моисеева, 1979; Т.Г. Сарычева, Г.И. Козинец, 2001).

В настоящее время детально разрабатываются молекулярные и клеточно-клеточные механизмы регуляции эритропоэза. В результате возникла возможность охарактеризовать физиологию таких процессов, как: дифференциация эритроидных клеток и их регуляция; механизмы, регулирующие продукцию ЭП в организме; рецепция ЭП клеткой-мишенью; передача эритропоэтического сигнала от рецептора к геному клетки; клеточно-клеточные взаимодействия, регулирующие эритропоэз (Л.В. Воргова, Ю.М. Захаров, 1990; М.Ю. Захаров, 2000; Ю.М. Захаров, А.Г. Рассохин, 2002).

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АБ* – актуальные бикарбонаты крови  
*АГ-АТ* – комплекс антиген-антитело  
*АПК* – антигенпрезентирующие клетки  
*АПС* – активированный протеин С  
*АСК* – адаптационный синдром клеточной системы  
*БО* – буферные основания крови  
*БОЕ-Э* – бурстобразующая единица, эритроцитарная  
*БОЕ-МК* – бурстобразующая единица, мегакариоцитарная  
*ВМК* – высокомолекулярный кининоген  
*ВЭГ* – внеэритроцитарный гемоглобин  
*ГАФ* – глицеральдегид-3-фосфат  
*ГАФД* – глицеральдегидфосфатизомераза  
*Г-КСФ* – гранулоцитарный колониестимулирующий фактор  
*ГМ-КСФ* – гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор  
*ГСК* – гемопоэтические стволовые клетки  
*ГФН* – глюкозофосфатдегидрогеназа  
*ГФР* – гемопоэтические факторы роста  
*ГФИ* – гексофосфоизомераза  
*ГSH* – восстановленный глутатион  
*ГSSH* – глутатионредуктаза  
*ГSSG-P* – восстановленная глутатионредуктаза  
*ДАФ* – диоксиацетонфосфат  
*ДЭС* – двойной электрический слой  
*ДФГМ* – дифосфоглицератмутаза  
*Г-1,6-ДФ* – глюкозо-1,6-дифосфат  
*Г-6-ФДГ* – глюкозо-6-фосфат дегидрогеназа  
*Г-6-Ф* – глюкозо-6-фосфат  
*ГЗТ* – гиперчувствительность замедленного типа  
*ИБО* – избыток буферных оснований крови  
*ИГФ* – инозит гексофосфат  
*ИПТФ* – ингибитор пути тканевого фактора  
*КЕК* – кислородная емкость крови  
*КЗПК* – кровезаменители переносчики кислорода  
*КОЕ<sub>c</sub>* – колониеобразующая единица селезенки  
*КОЕ-Ба* – колониеобразующая единица, базофильная  
*КОЕ-Ео* – колониеобразующая единица, эозинофильная  
*КОЕ-ГММ* – колониеобразующая единица, гранулоцитарно-моноцитарно-макрофагальная  
*КОЕ-Л* – колониеобразующая единица, лимфоцитарная  
*КОЕ-Г* – колониеобразующая единица, гранулоцитарная

*КОЕ-ГМ* – колониеобразующая единица, гранулоцитарно-моноцитарная  
*КОЕ-ГЭММ* – колониеобразующая единица, эритроцитарно-моноцитарно-мегакариоцитарная  
*КОЕ-М* – колониеобразующая единица моноцитарная  
*КОЕ-ГН* – колониеобразующая единица, гранулоцитарная  
*КОЕ-МГЦ* – колониеобразующая единица, мегакариоцитарная  
*КОЕ-Э* – колониеобразующая единица, эритроцитарная  
*КОС* – кислотно-основные свойства крови  
*КСФ* – колониестимулирующие факторы  
*ЛИФ* – лейкемию ингибирующий фактор  
*ЛДГ* – лактатдегидрогеназа  
*МАК* – комплекс атаки на мембрану  
*МФС* – моноклеарная фагоцитарная система  
*МФГМ* – монофосфоглицеромутаза  
*НАД* – никотинамидадениндинуклеотид  
*НАД-Н* – никотинамидадениндинуклеотид восстановленный  
*НАДФ* – никотинамидадениндинуклеотидфосфат  
*НАДФ-Н* – никотинамидадениндинуклеотидфосфат восстановленный  
*ПДФ* – продукты деградации фибрина (фибриногена)  
*ПК* – пируваткиназа  
*ПМЯН* – полиморфноядерные лимфоциты  
*ПН-1* – протеаза-нексин-1  
*ПС* – протеин S  
*ПОЛ* – перекисное окисление липидов  
*ПОБ* – перекисное окисление белков  
*ПФП* – пентозофосфатный путь  
*ПФУ* – перфторуглероды  
*ПЭМ* – проницаемость эритроцитарных мембран  
*РАСК* – регуляция агрегатного состояния крови  
*РТПХ* – реакция трансплантат против хозяина  
*САС* – симпатoadреналовая система  
*СБ* – стандартные бикарбонаты крови  
*СГЭ* – среднечеточная концентрация гемоглобина  
*СДГ* – сукцинатдегидрогеназа  
*СКК* – стволовые кроветворные клетки  
*СРО* – свободно-радикальное окисление  
*ССЭ* – сорбционная способность эритроцитов  
*ТПО* – тромбopoэтин  
*ТРФ* – трансформирующий фактор роста  
*ТРФ-β* – трансформирующий фактор роста β  
*ТФИ* – трифосфатизомераза  
*2-ФГ* – 2-фосфоглицеральдегид  
*ФГК* – фосфоглицеракиназа  
*ФНО* – фактор некроза опухолей  
*ФСК* – фактор стволовых клеток  
*Ф-6-Ф* – фруктозо-6-фосфат

*Ф-1,6-ДФ* – фруктозо-1,6-дифосфат  
*ФФК* – фосфофруктокиназа  
*ФЭП* – фосфоенолпируват  
*ЭК* – эндотелиальные клетки  
*ЭКП* – эритроидные клетки-предшественники  
*ЭО* – эритробластический островок  
*ЭП* – эритропоэтин  
*ЭЧК* – эритропоэтинчувствительные клетки  
*ЭФПЭ* – электрофоретическая подвижность эритроцитов  
*ЦТЛ* – цитотоксические лимфоциты  
*ЦХО* – цитохромоксидаза  
*Flt-3* – лиганд  
*1,3-ДФГ* – 1,3-дифосфатглицерат  
*2,3-ДФГ* – 2,3-дифосфоглицерат  
*3-ФГ* – 3-фосфоглицериновая кислота  
*BCR* – B-cell receptor – рецептор В-лимфоцита для антигена  
*BSF* – B- stem factor – фактор роста В-лимфоцитов  
*CD* – cluster of differentiations antigens – антигены кластеров дифференцировки клеток  
*CRP* – С-реактивный протеин  
*FDC* – follicular dendritic cells – фолликулярные дендритные клетки  
*GM-CSF* – granulocitarno-monocitarno cell-stem factor – гранулоцитарно-моноцитарный фактор роста клеток  
*GSSG* – глутатионредуктазная система  
*HLA* – human leukocyte antigens – антигены лейкоцитов человека  
*Ig* – immunoglobulin – иммуноглобулины  
*IFN $\gamma$*  – interferon – интерферон- $\gamma$   
*IL* – inter-leukin – интерлейкин  
*IEL* – внутриэпителиальные лимфоциты  
*MHC* – major histocompatibility complex – главный комплекс гистосовместимости  
*M-CSF* – monocitarno cell-stem factor – моноцитарный фактор роста клеток  
*MCL* – манансвязывающий лектин  
*Mip* – фактор роста тромбоцитов  
*NK* – normal killer – нормальные (натуральные) киллеры  
*PAF* – фактор агрегации тромбоцитов  
*PAMP* – pathogen-associated molecular patterns – паттерны патогенов  
*RVI* – regulatory volume increase – регуляторное увеличение объема  
*RVD* – regulatory volume decrease – регуляторное уменьшение объема  
*SCF* –stimulating colony factor – колониестимулирующий фактор  
*SF* – фактор Стила  
*TLR* – рецепторы толл-подобных белков  
*TCR* – T-cell receptor – рецептор Т-лимфоцитов для антигена  
*Tk* – Т-киллер  
*Ts* – Т-супрессор  
*Th* – Т-хелпер  
*TNF* – tumor necrosisfactor – фактор некроза опухолей

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Абрамов, В.В. Принципы вегетативной регуляции функций иммунокомпетентных клеток: фундаментальное и прикладное значение / В.В. Абрамов, Т.Я. Абрамова, В.А. Козлов // Успехи современной биологии. – 2006. – Т. 126, № 4. – С. 379-387.
2. Авдонин, П.В. Рецепторы и внутриклеточный кальций / П.В. Авдонин, В.А. Ткачук. – М.: Наука, 1994. – 288 с.
3. Авторегуляция неспецифической проницаемости мембраны эритроцита / М.В. Фок, А.Р. Зарицкий, Г.А. Зарицкая, Е.В. Переведенцева. – М.: Наука, 1999. – 77 с.
4. Агаджанян, Н.А. Экологическая физиология человека / Н.А. Агаджанян, А.Г. Марачев, Г.А. Бобков. – М.: КРУК, 1998. – 416 с.
5. Агалакова, Н.И. Транспорт одновалентных катионов через мембрану эритроцитов лягушек *Rana temporaria* и *Rana ridibunda*: автореф. дис. ... канд. биол. наук / Н.И. Агалакова. – Санкт-Петербург, 1996. – 21 с.
6. Агалакова, Н.И. Транспорт ионов натрия в эритроциты лягушек *Rana temporaria* и *Rana ridibunda* / Н.И. Агалакова, А.В. Лапин, Г.Н. Гусев // Биологические мембраны. – 1996. – Т.13, № 2. – С. 153-161.
7. Акмаев, И.Г. Нейроиммуноэндокринология гипоталамуса // И.Г. Акмаев, В.В. Гиневич. – М.: Медицина, 2003. – 166 с.
8. Аллогенная трансплантация стволовых кроветворных клеток в терапии рецидива лимфогранулематоза после аутологичной трансплантации костного мозга / И.А. Крючкова, И.А. Лисуков, А.Д. Кулагин С.А. Сизикова // Гематология и трансфузиология. – 2004. – Т. 49, № 3. – С. 43-47.
9. Антонишкис, Ю.А. Сегментация ядер нейтрофилов: новый взгляд на природу явления / Ю.А. Антонишкис // Клиническая лабораторная диагностика. – 2006. – № 8. – С. 22-24.
10. Антонов, Н.Ф. Биофизика мембран / Н.Ф. Антонов // Соросовский образовательный журнал. – 1966. – № 6. – С. 4-12.
11. Антонов, Н.Ф. Липидные поры: стабильность и проницаемость мембран / Н.Ф. Антонов // Соросовский образовательный журнал. – 1998. – № 10. – С. 10-17.
12. Арманд, А.Д. Иерархия информационных структур мира / А.Д. Арманд // Вестник РАН. – 2001. – Т. 71, № 9. – С. 797-805.
13. Баглаев, Т.Н. Исследование мембран лимфоцитов флуорисцентными зондами (обзор литературы) / Т.Н. Баглаев // Лабораторное дело. – 1986. – № 7. – С. 387-392.
14. Баклаваджян, О.Г. Вегетативные механизмы гипоталамуса / О.Г. Баклаваджян // Физиология вегетативной нервной системы: Руководство по физиологии. – Л.: Наука, 1981. – С. 398-374.
15. Балакирева, С.Ю. Внутривидовые и межвидовые различия кислотной резистентности мышей / С.Ю. Балакирева, М.М. Яшина // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. – 1969. – № 1. – С. 49-54.

16. Барбашова, З.Н. Новые аспекты изучения дыхательной функции крови при адаптации к гипоксии / З.Н. Барбашова // Успехи физиологических наук. – 1977. – Т.8, № 1. – С. 3-18.
17. Барбашова, З.Н. Дыхательная функция крови / З.Н. Барбашова // Экологическая физиология животных. Ч. II. Физиологические системы в процессе адаптации и факторы среды обитания: Руководство по физиологии. – Л.: Наука, 1981. – С. 68-91.
18. Баркова, Э.Н. Роль эритропоэтина в регуляции эритропоэза / Э.Н. Баркова // Физиология системы крови. Физиология эритрона: Руководство по физиологии. – Л.: Наука, 1979. – С. 97-117.
19. Бахов, Н.И. Роль нейтрофилов в регуляции метаболизма тканей / Н.И. Бахов, Л.Э. Александрова, В.Н. Титов // Лабораторное дело. – 1988. – № 6. – С. 3-12.
20. Бессонова, С.В. Чувствительность эритроцитов человека и некоторых видов животных к коллоидно-осмотическому лизису / С.В. Бессонова, Б.А. Ташмухамедов, Р.З. Сабиров // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. – 2004. – Т. 40, № 1. – С. 87-89.
21. Биохимия мембран /Под ред. А.А. Болдырева. Кн. 1. – М.: Высш. шк., 1986. – 112 с.
22. Биохимия человека : в 2 т. / Р. Марри, Д. Грениер, П. Мейес и др. – Т.1. – М.: Мир, 1993. – 381 с.
23. Бойтлер, Э. Нарушение метаболизма эритроцитов и гемолитическая анемия / Э. Бойтлер. Пер с англ. – М.: Медицина, 1981. – 256 с.
24. Болдырев, А.А. Биологические мембраны и транспорт ионов / А.А. Болдырев. – М.: Изд-во МГУ. – 1985. – 93 с.
25. Болдырев, А.А. Введение в биомембранологию / А.А. Болдырев. – М.: Изд-во МГУ. – 1990. – 208 с.
26. Бондаренко, В.П. Состояние осмотической резистентности лимфоцитов у больных туберкулезом легких / В.П. Бондаренко, А.К. Герман, Л.А. Коструб //Врачебное дело. – 1985. – № 5. – С. 80-82.
27. Борисова, Т.К. Дендритные клетки: морфология и функции / Т.К. Борисова // Успехи современной биологии. – 2006. – Т. 126, № 1. – С. 77-86.
28. Бродовская, З.И. Развитие костного мозга у птиц / З.И. Бродовская // Птицеводство. – 1962. – № 11. – С. 13-17.
29. Быков, Л.В. Цитология и общая гистология / Л.В. Быков. – СПб.: Сотис, 2003. – 520 с.
30. Быкова, И.А. Морфологические особенности эритроцитов периферической крови в норме и патологии (световая микроскопия) / И.А. Быкова // Гематология и трансфузиология. – 1991. – Т. 36, № 6. – С. 28-30.
31. Бычков, С.М. Агрегация эритроцитов в крови при различных состояниях организма животного /С.М. Бычков, С.А. Кузьмина // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1993. – Т. 115, №6. – С. 604-607.
32. Васильев, Н.В. Очерки роли кроветворной ткани в антителиобразовании / Н.В. Васильев. – Томск: Изд-во ТГУ, 1975. – 301 с.

33. Васильев, Н.В. Система крови и неспецифическая резистентность в экстремальных климатических условиях / Н. В. Васильев, Ю.М. Захаров, Т.И. Коляда. – Новосибирск: Наука, Сиб. отд-ние, 1992. – 257 с.
34. Вельш, У. Введение в гистологию и цитологию животных / У. Вельш, Ф. Шторх. – М.: Мир, 1976.
35. Вершигора, А.Е. Основы иммунологии / А.Е. Вершигора. – Киев: Выща шк., 1980. – 504 с.
36. Взаимосвязь процессов эритропоэза, эритродиереза и перекисного окисления липидов мембран эритроцитов / А.Г. Марачев, А.В. Корнев, Г.Н. Дегтева, Р.И. Данилова // Вестник АМН СССР. – 1983. – № 11. – С. 65-74.
37. Власов, Ю.А. От молекулы гемоглобина – к системе микроциркуляции / Ю.А. Власов, С.М. Смирнов. – Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1993. – 245 с.
38. Воробьев, А.И. Схема кроветворения / А.И. Воробьев, Н.И. Дризе, И.Л. Чертков // Проблемы гематологии. – 1995. – Т. 1, № 1. – С. 7-14.
39. Воробьев, А.И. Руководство по гематологии / А.И. Воробьев, И.Л. Чертков, М.Д. Бриллиант. – М.: Медицина. – 1985. – 285 с.
40. Ворогова, Л.В. Об изменении эритробластических островков костного мозга у животных при сочетании тепловых и мышечных нагрузок / Л.В. Ворогова, Ю.М. Захаров // Физиологический журнал СССР им. И.М. Сеченова. – 1990. – Т.76, №.2. – С. 200-205.
41. Вылку, Ал. Эритроцитарный ряд: Определение, ограничение, жизненный цикл, морфологические аномалии эритроцита / Ал. Вылку // Клиническая гематология / Под ред. Шт. Берчану. – Бухарест: Медицинское изд-во, 1985. – С. 74-87.
42. Гаврилов, О.К. Клетки костного мозга и периферической крови (структура, биохимия, функция) / О.К. Гаврилов, Г.И. Козинец, Н.Б. Черняк. – М.: Медицина, 1985. – 288 с.
43. Гаврилов, О.К. Гемоагрегатология и хирургия крови / О.К. Гаврилов, А.О. Гаврилов // Вестник РАМН, 2001. – № 12. – С. 7-12.
44. Галактионов, В.Г. Очерки эволюционной иммунологии / В.Г. Галактионов. – М.: Наука, 1995. – 256 с.
45. Галактионов, В.Г. Основные направления исследования в эволюционной иммунологии / В.Г. Галактионов // Известия РАН. Серия Биология, 2004. – № 6. – С. 645-658.
46. Галактионов, В.Г. Иммунология / В.Г. Галактионов. – М.: Нива России, 2000. – 488 с.
47. Галенок, В.А. Гемореология при нарушениях углеводного обмена / В.А. Галенок, Е.В. Гостинская, В.Е. Диккер. – Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1987. – 291 с.
48. Галкин, А.А. Локомоторные свойства нейтрофилов и механизмы регуляции их движения / А.А. Галкин // Успехи современной биологии. – 1997. – Вып. 6, т. 117. – С. 690-703.

49. Галкин, А.А. Роль  $\text{Ca}^{2+}$  в регуляции функций нейтрофилов / А.А. Галкин, В.С. Демидова // Успехи современной биологии. – 2007. – Т. 127, № 1. – С. 58-72.
50. Галкин, А.А. Регуляторное уменьшение объема макрофагов в гипосмотической среде, обусловленной активацией фуросемид-чувствительной системы ионного котранспорта / А.А. Галкин, Б.И. Ходоров // Внутриклеточная сигнализация. – М.: Наука, 1988. – С. 166-171.
51. Гальванотехника и обработка поверхности (экология) / А.В. Сыроешкин, С.С. Плетенев, Т.В. Плетенева и др. // Экология. – 1999. – Т. 3. – С. 48-51.
52. Гацура, В.В. Фармакологические аспекты в экспериментальной медицине и биологии / В.В. Гацура, А.С. Саратиков. – Томск: Изд-во ТГУ, 1977. – 156 с.
53. Гемореологический цистит у детей после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток / П.Е. Трахтман, Д.Н. Балашов, Ю.В. Скворцов, З.М. Дышлевская // Гематология и трансфузиология. – 2004. – Т. 49, № 1. – С. 33-36.
54. Геннис, Р. Биомембраны. Молекулярная структура и функции / Р. Геннис. – М.: Мир, 1997. – 624 с.
55. Гилберто, М. Клеточное взаимодействие / М. Гилберто, Оливеро-Кастро, Джордж А. Дос Рейс // Межклеточное взаимодействие / Под ред. У.К. де Мелло. – М.: Медицина, 1980. – С. 201-222.
56. Гительзон, И.И. Исследование эритрона как управляемой организмом клеточной системы / И.И. Гительзон, И.А. Терсков // Вопросы биофизики, биохимии и патологии эритроцитов / Под ред. Г.М. Франка, В.Т. Поэтовой. – М.: Наука, 1967. – С. 48-62.
57. Гительзон, И.И. Эритрограммы как метод клинического исследования крови / И.И. Гительзон, И.А. Терсков. – Красноярск: Сиб. отд-ние АН СССР, 1959. – 247 с.
58. Голубкова, Е.В. Оценка вклада клеточных факторов в процесс агрегации эритроцитов / Е.В. Голубкова, И.А. Тихомирова, Ю.Н. Волков // Гемореология и микроциркуляция (от молекулярных мишеней к органам и системным изменениям): Международная конференция (Ярославль, 10-13 июня 2007 г.). – Ярославль: Изд-во ЯГПУ, 2007. – С. 152.
59. Гольдберг, Д.И. Гематология животных / Д.И. Гольдберг, Е.Д. Гольдберг, Н.Г. Шубин. – Томск: Изд-во ТГУ, 1973. – 182 с.
60. Гольдберг, Е.Д. Роль вегетативной нервной системы в регуляции гемопоэза / Е.Д. Гольдберг, А.М. Дыгай, И.А. Хлусов. – Томск: Изд-во ТГУ, 1997. – 140 с.
61. Горбунова, Н.А. Эритродиерез при экстремальных воздействиях и его роль в регенерации крови / Н.А. Горбунова // Гематология и трансфузиология. – 1985. – № 2. – С. 23-27.
62. Горизонтов, П.Д. Гомеостаз, его механизмы и значение / П.Д. Горизонтов // Гомеостаз. – М.: Медицина, 1976. – С. 5-23.



63. Горизонтов, П.Д. Стресс и система крови / П.Д. Горизонтов, О.И. Белоусова, М.И. Федотова. – М.: Медицина, 1983. – 239 с.
64. Горожанин, Л.С. Гипоксическая реакция эритроцитарной системы собак, подвергшихся в разном возрасте денервации селезенки / Л.С. Горожанин, А.Н. Булыгин // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. – 1971. – Т. VII, № 4. – С. 398-403.
65. Граник, В.Г. Лекарства: Фармакологический, биохимический и химический аспекты / В.Г. Граник. – М.: Вузовская книга, 2001. – 408 с.
66. Гусев, Г.П. Активация Na/H-обмена в эритроцитах лягушки *Rana ridibunda* / Г.П. Гусев, Т.И. Иванова // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. – 2003. – Т. 39, № 4. – С. 351-355.
67. Дуглас, С.Д. Исследование фагоцитоза в клинической практике / С.Д. Дуглас, П.Г. Куи ; Пер. с англ. – М.: Медицина, 1988. – 112 с.
68. Додхоев, Д.С. Особенности проницаемости эритроцитарных мембран и сорбционная емкость эритроцитов у здоровых доношенных новорожденных детей и их матерей / Д.С. Додхоев // Физиология человека. – 1998. – Т. 24, № 2. – С. 135-137.
69. Духин, С.С. Электрофорез / С.С. Духин, Б.В. Дерягин. – М.: Наука, 1976. – 327 с.
70. Забелинский, С.А. Сравнительное исследование липидов жирных кислот плазмы крови миноги речной *Lampetra fluviatilis* и лягушки травяной *Rana temporaria* в периоды включения экзогенного питания / С.А. Забелинский, М.В. Савина, Г.Б. Белостоцкая // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. – 2006. – Т. 42, № 4. – С. 302-307.
71. Заварзин, А.А. Очерки эволюционной гистологии крови и соединительной ткани / А.А. Заварзин. – Вып 1. – М.: Медгиз, 1945.
72. Заварзин, А.А. Очерки эволюционной гистологии крови и соединительной ткани / А.А. Заварзин. – М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1953. – 716 с.
73. Заварзин, А.А. Основы частной цитологии и сравнительной гистологии многоклеточных животных / А.А. Заварзин. – Л.: Наука, 1976. – 410 с.
74. Заварзин, А.А. Основы сравнительной гистологии / А.А. Заварзин. – Л.: Изд-во ЛГУ, 1985. – 400 с.
75. Задарновская, Г.Ф. Сравнительные материалы по эмбриогенезу домашних птиц: автореф. дис. ... д-ра биол. наук / Г.Ф. Задарновская. – Краснодар, 1966. – 40 с.
76. Заремская, Л.М. Лимфопоз у позвоночных в филогенезе / Л.М. Заремская, М.А. Нишанбаева, А.Т. Акилов // Цитогенетические механизмы гистогенезов. – Ташкент: Фан, 1982. – С. 10-12.
77. Захаров, Ю.М. О гуморальной регуляции созревания красных кровяных клеток / Ю.М. Захаров // Патологическая физиология. – 1970. – № 6. – С. 61-64.
78. Захаров, Ю.М. Молекулярные и клеточно-клеточные механизмы регуляции эритропоэза / Ю.М. Захаров // Вестник РАМН. – 2002. – № 2. – С. 4-9.

79. Захаров, Ю.М. Черты информационной сигнализации, регулирующей гемопоэз /Ю.М. Захаров //Вестник РАМН. – 2002а. – № 6. – С. 58-60.
80. Захаров, Ю.М. Эритробластический островок – функционально-анатомическая единица эритропоэза / Ю.М. Захаров, И.Ю. Мельников // Гематология и трансфузиология. – 1984. – Т. 29, № 10. – С. 51-56.
81. Захаров, Ю.М. О роли межклеточных взаимодействий в регуляции эритропоэза / Ю.М. Захаров, И.Ю. Мельников // Успехи современной биологии. – 1984. – Т. 88, № 4. – С. 60-72.
82. Захаров, Ю.М. Современные взгляды на регуляцию кроветворения / Ю.М. Захаров // Физиологический журнал СССР им. И.М. Сеченова. – 1991. – Т. 77, № 12. – С. 91-101.
83. Захаров, Ю.М. Эритробластический островок / Ю.М. Захаров, А.Г. Рассохин. – М.: Медицина, 2002. – 280 с.
84. Зеленцова, А.С. Влияние адреналина на устойчивость эритроцитов лягушки к гипоосмотическим нагрузкам /А.С. Зеленцова //Биология – наука XXI века: Материалы Восьмой международной школы-конференции молодых ученых. – Пущино, 2004. – С. 113.
85. Зеленцова, А.С. Функциональное состояние эритроцитарной популяции лягушек рода *Rana* в условиях холодовой нагрузки / А.С. Зеленцова, М.Н. Гончаренко // Вестник СНО: Сб. науч. работ. – Белгород: Изд-во БелГУ, 2007. – Ч. 1. – С. 93-94.
86. Зеленцова, А.С. Функциональные параметры эритроцитарной популяции лягушек в условиях холодового стресса /А.С. Зеленцова // Материалы XX съезда Физиологического общества им. И.П. Павлова. – М.: Издательский дом «Русский врач», 2007а. – С. 237-238.
87. Зинчук, В.В. Деформируемость эритроцитов: физиологические аспекты / В.В. Зинчук //Успехи физиологических наук. – 2001. – Т.32, № 3. – С. 66-78.
88. Ефимов, А.С. Сорбитоловый путь обмена глюкозы при стрептозотоциновом диабете разной длительности и тяжести /А.С. Ефимов, И.Г. Обросова, Н.Н. Великий // Проблемы эндокринологии. – 1984. – № 2. – С. 71-75.
89. Иванова, Л.Н. Транспорт воды через клеточные мембраны: аквапорины, их функциональная организация, механизмы регуляции проницаемости /Л.Н. Иванова, Е.И. Соленов // Бюллетень сибирской медицины. – 2005. – Т. 4. – С. 113.
90. Изменение микрореологических свойств эритроцитов под влиянием адреналина / А.В. Муравьев, С.В. Булаева, А.А. Маймистова и др.// Гемореология и микроциркуляция (от молекулярных мишеней к органам и системным изменениям): VI Международная конференция (Ярославль, 10-13 июня 2007 г.). – Ярославль: Изд-во ЯГПУ, 2007. – С. 143.
91. Изучение влияния различных физико-химических факторов на процессы переноса ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  через модель функциональной мембра-

ны / Г.А. Исаева, Е.В. Казак, В.П. Исаев, И.И. Замуравкин // Актуальные проблемы биологии и медицины. – 2004. – № 1-3. – С. 137-141.

92. Изучение проницаемости эритроцитарных мембран и показателей липидного обмена у больных с политравмой при раннем и отсроченном оперативном лечении / Г.П. Макшанова, И.М. Устьянцева, О.В. Петухова, В.В. Агаджанян // Физиология человека. – 2003. – Т. 29, № 1. – С. 95-99.

93. Иммунофизиология / Под ред. Е.А. Корневой. – СПб.: Наука, 1993. – 683 с.

94. Иржак, Л.И. Гемоглобины и их свойства /Л.И. Иржак. – М.: Медицина, 1975. – 238 с.

95. Иржак, Л.И. Газотранспортная функция эритроцитов в онтогенезе / Л.И. Иржак // Физиология системы крови. Физиология эритропоэза: Руководство по физиологии. – Л.: Наука, 1979. – С. 233-255.

96. Иржак, Л.И. Эволюция системы крови / Л.И. Иржак // Эволюционная физиология: Руководство по физиологии / Под ред. Е.М. Крепса. – Ч. 2. – Л.: Наука, 1983. – С. 262-300.

97. Иржак, Л.И. Дыхательная функция крови в условиях гипероксии / Л.И. Иржак, В.В. Гладилов, Н.А. Моисеенко. – М.: Медицина, 1985. – 176 с.

98. Исследование системы крови в клинической практике / Под ред. Г.И. Козинца, В.А. Макарова. – М.: Триада-Х, 1997. – 480 с.

99. Исследования роли  $Ca^{2+}$ -активируемых калиевых каналов в изменении объема эритроцитов человека /И.В. Петрова, С.В. Кременко, А.В. Ситожевский, В.А. Мормышова // Бюллетень сибирской медицины. – 2005. – Т. 4. – С. 118.

100. Исследование кислотной и осмотической резистентности эритроцитов у рабочих нефтехимического производства / Д.Ф. Шакиров, В.М. Самсонов, В.П. Кудрявцев, Ф.Ж. Гильманов // Клиническая лабораторная диагностика. – 2003. – №7. – С. 21-23.

101. Истаманова, Т.С. Функциональная гематология / Т.С. Истаманова, В.А. Алмазов, С.В. Канаев. – Л.: Медицина, 1973. – 310 с.

102. Кагава Я. Биомембраны / Я. Кагава. Пер. с яп. А.А. Семищевой; Под ред. В.Е. Кагана. – М.: Высш. шк., 1985. – 303 с.

103. Казенов, А.М. Структурно-биохимические свойства мембран безъядерных эритроцитов / А.М. Казенов, М.Н. Маслова // Физиологический журнал СССР им. И.М. Сеченова. – 1987. – Т. LXXIII, № 12. – С. 1587-1598.

104. Канаев, С.В. Селезенка и эритроциты / С.В. Канаев, М.М. Тушинская // Физиология системы крови. Физиология эритрона: Руководство по физиологии. – Л.: Наука, 1979. – С. 256-273.

105. Карасев, С.Г. Установка для определения электрофоретической подвижности эритроцитов и других частиц в дисперсных системах / С.Г. Карасев, Л.А. Дьяченко, О.В. Попова // Клиническая лабораторная диагностика. – 1997. – №10. – С.16-18.

106. Карр, Я. Макрофаги. Обзор ультраструктуры и функции / Я. Карр. – М.: Медицина, 1978. – 188 с.
107. Кассиль, Г.Н. Вегетативное регулирование гомеостаза внутренней среды / Г.Н. Кассиль // Физиология вегетативной нервной системы: Руководство по физиологии. – Л.: Наука, 1981. – С. 536-572.
108. Катюхин, Л.Н. Реологические свойства эритроцитов / Л.Н. Катюхин // Физиологический журнал СССР. – 1995. – Т. 81, №6. – С. 122-129.
109. Катюхин, Л.Н. Динамика изменений красной крови у крыс при острой иммобилизации / Л.Н. Катюхин, М.Н. Маслова // Космическая биология и авиакосмическая медицина. – 1984. – Т.18, №3. – С. 43-47.
110. Кинетика форменных элементов крови / Е.Н. Мосягина, Е.Б. Владимировская, Н.А. Торубарова, Н.В. Мызина. – М.: Медицина, 1976. – 270 с.
111. Киракосян, Э.В. Об участии супраоптических ядер гипоталамуса в регуляции эритропоэза / Э.В. Киракосян // Биологический журнал Армении. – 1969. – № 9. – С. 85-86.
112. Киракосян, Э.В. Об участии мамиллярных ядер гипоталамуса в регуляции эритропоэза / Э.В. Киракосян // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1970. – № 3. – С. 22-23.
113. Клинико-лабораторные методы в гематологии / Под ред. В.Г. Михайлова, Г.А. Алексеева. – Ташкент: Медицина УзССР, 1986. – 199 с.
114. Клиническая иммуногенетика и аллергология / Под ред. Л. Йегера: в 3 т. – М.: Медицина, 1990. – Т. 1. – С. 68-92.
115. Клиническая гематология / Под ред. Шт. Берчану. – Бухарест: Медицинское изд-во, 1985. – 1221 с.
116. Клиорин, А.И. Функциональная неравнозначность эритроцитов / А.И. Клиорин, Л.А. Тиунов. – Л.: Наука, 1974. – 148 с.
117. Козинец, Г.И. Оценка деформабельности эритроцитов методом фильтрации / Г.И. Козинец, Т.Г. Сарычева, С.В. Игнатов // Лабораторное дело. – 1990. – № 11. – С. 15-17.
118. Козлов, В.А. Стволовая кроветворная клетка и иммунный ответ / В.А. Козлов, И.Н. Журавкин, И.Г. Цырлова. – Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1982. – 222 с.
119. Козлов, В.А. Супрессивная функция макрофагов в процессе иммуногенеза / В.А. Козлов // Клеточные факторы регуляции иммуногенеза / Под ред. В.А. Труфакина. – Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1985. – С. 88-95.
120. Козлов, В.А. Эритрон как саморегулирующаяся гомеостатическая система / В.А. Козлов // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2001. – № 3. – С. 9-11.
121. Комиссаренко, С.В. Механизмы реализации иммунологического распознавания / С.В. Комиссаренко // Стволовые и иммунокомпетентные клетки в норме и при опухолевом росте: Сб. науч. тр. / Отв. ред. З.А. Бутенко. – Киев: Наук. думка, 1981. – С. 148-159.

122. Комиссарчик, Я.Ю. Роль цитоскелета в гидроосмотическом ответе клетки / Я.Ю. Комиссарчик // Тез. докл. XVII съезда Всерос. физиол. общества им. И.П. Павлова. – Ростов н/Д, 1998. – С.20.
123. Конев, С.В. Структурная лабильность биологических мембран и регуляторные процессы / С.В. Конев. – М.: Наука и техника. – 1987. – 240 с.
124. Контроль и регуляция иммунного ответа / Р.В. Петров, Р.М. Хаитов, В.И. Манько, А.А. Михайлова. – Л.: Медицина, 1981. – 312 с.
125. Коржуев, П.А. Эволюция дыхательной функции крови / П.А. Коржуев. – М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1949. – 182 с.
126. Коржуев, П.А. Гемоглобин. Сравнительная физиология / П.А. Коржуев. – М.: Наука, 1964. – 286 с.
127. Коржуев, П.А. Проблема оксигенации гемоглобина / П.А. Коржуев // Успехи физиологических наук. – 1973. – Т.4, № 3. – С. 69-112.
128. Коржуев, П.А. Дыхательные белки некоторых групп современных животных / П.А. Коржуев. – М.: Наука, 1979. – 163 с.
129. Коштянц, Х.С. Основы сравнительной физиологии: в 2 т. / Х.С. Коштянц. – М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1950. – Т.1. – 523 с.
130. Крепс, Е.М. Очерк по эволюции дыхательной функции крови / Е.М. Крепс // Журнал общей биологии. – 1943. – Т.4, № 3. – С. 159-172.
131. Крепс, Е.М. Липиды клеточных мембран / Е.М. Крепс. – Л.: Наука, 1981. – 144 с.
132. Кровь и инфекция / Г.И. Козинец, В.В. Высоцкий, В.М. Погорелов и др. – М.: Изд-во «Триада-фарм», 2001. – 456 с.
133. Кровь и кроветворение у позвоночных животных в онтогенезе / А.Т. Акилов, Л.М. Заринская, М.А. Нишанбаева и др. // Цитологические механизмы гистогенеза. – Ташкент: Фан, 1983. – С. 10-12.
134. Кровь и кроветворение у позвоночных при лучевых поражениях / Д.Х. Хамидов, Л.А. Турднєв, К.Н. Нишанбаев, А.Т. Акилов. – Ташкент: Фан, 1986. – 176 с.
135. Кружецкая, З.И. Биофизика мембран / З.И. Кружецкая, А.В. Лонский. – СПб: Изд-во СПб. ун-та, 1994. – 288 с.
136. Кудрин, А.Н. Фармакология с основами патофизиологии / А.Н. Кудрин. – М.: Медицина, 1977. – 551 с.
137. Кузник, Б.И. Современные представления о системе иммуногенеза и неспецифической резистентности организма / Б.И. Кузник, Н.В. Васильев, Н.Н. Цыбник // Иммуногенез, гемостаз и неспецифическая резистентность организма. – М.: Медицина, 1989. – С.12-40.
138. Кульминская, А.С. Изучение механизма инактивации генома эритроцитов птиц / А.С. Кульминская, Е.Г. Корвин-Павловская, К.Г. Газарян // Онтогенез. – 1980. – № 3. – С. 222-228.
139. Крыжановский, Г.Н. Дизрегуляторная патология / Г.Н. Крыжановский. – М.: Медицина, 2002. – 632 с.

140. Крымский, Л.Д. Растровая электронная микроскопия сосудов и крови /Л.Д. Крымский, Г.В. Нестайло, А.Г. Рыбалов. – М.: Медицина, 1976. – 168 с.
141. Левин, С.В. Структурные изменения клеточных мембран / С.В. Левин. – Л.: Наука, 1976. – 224 с.
142. Левтов, В.А. Реология крови / В.А. Левтов, С.А. Регирер, И.Х. Шаурина. – М.: Медицина, 1982. – 272 с.
143. Лимфоциты: Выделение, фракционирование и характеристика / Под ред. Дж. Натвика, П. Перлмана, Х. Викзеля. – М.: Медицина, 1980. – 280 с.
144. Лимфоциты: Методы / Под ред. Дж. Клауса. – М.: Мир, 1990. – 310 с.
145. Липунова, Е.А. Влияние многократного введения инсулина на динамику содержания глюкозы в крови и гликогена в тканях кур / Е.А. Липунова //Актуальные проблемы экологии на рубеже третьего тысячелетия: Междунар. науч.-практ. конф. (Брянск, 15-17 июня 1999 г.). – Брянск: Изд-во БГСХА, 1999. – С. 248-253.
146. Липунова, Е.А. Цитокинетические показатели эритроцитарного баланса у птиц в физиологических условиях // Е.А. Липунова, М.Ю. Скоркина // Физиология организмов в нормальном и экстремальном состояниях: Сб. ст. / Под ред. В.И. Гридневой. – Томск: Изд-во ТГУ, 2001. – С. 31-33.
147. Липунова, Е.А. Динамические сдвиги в системе эритрона у птиц при экстремальных воздействиях /Е.А. Липунова, М.Ю. Скоркина //Научные ведомости БелГУ. – 2002. – №1 (6). – С. 101-106. – (Серия «Медицина»).
148. Липунова, Е.А. Регенерация системы красной крови у птиц при стрессировании /Е.А. Липунова, М.Ю. Скоркина //Актуальные проблемы медицины и биологии. Вып. 2 / Под ред. Н.И. Ильинских. – Томск: Изд-во СГМУ, 2003. – С. 25-30.
149. Липунова, Е.А. Эритрокинетика у птиц в условиях хронического стресса /Е.А. Липунова, М.Ю. Скоркина //Науки о человеке: Сб. статей по материалам Четвертого междунар. конгресса молодых ученых и специалистов / Под ред. Л.М. Огородовой, Л.В. Капилевича. – Томск: Изд-во СГМУ, 2003а. – С. 175-177.
150. Липунова, Е.А. Система красной крови: Сравнительная физиология: Моногр. / Е.А. Липунова, М.Ю. Скоркина. – Белгород: Изд-во БелГУ, 2004. – 216 с.
151. Липунова, Е.А. Оценка функционального состояния эритроцитарных мембран у птиц в условиях напряженного эритропоэза / Е.А. Липунова, М.Ю. Скоркина // Актуальные проблемы биологии, медицины и экологии / Под ред. Н.Н. Ильинских. – Томск: Изд-во СГМУ, 2004а. – № 1-3. – С. 142-144.
152. Липунова, Е.А. Влияние гипоосмотической нагрузки на устойчивость эритроцитарных мембран / Е.А. Липунова, М.Ю. Скоркина,

А.С. Зеленцова // Современные наукоемкие технологии. – 2004б. – № 1. – С. 94-95.

153. Липунова, Е.А. Регуляторные возможности эритроцитов лягушек в условиях адреналиновой нагрузки / Е.А. Липунова, М.Ю. Скоркина, А.С. Зеленцова // Гемореология в микро- и макроциркуляции: Материалы международной конференции. – Ярославль: Изд-во ЯГПУ, 2005. – С. 209.

154. Липунова, Е.А. Сезонная активность эритронов лягушек рода *Rana* / Е.А. Липунова, М.Ю. Скоркина, А.С. Зеленцова // Научные труды Первого съезда физиологов СНГ / Под ред. Г.И. Сениашвили. – М.: Медицина–Здоровье, 2005б. – Т. 2. – С. 94.

155. Липунова, Е.А. Проницаемость и сорбционная способность эритроцитов крови птиц при фотодесинхронозе / Е.А. Липунова, М.Ю. Скоркина // Вестник Томского государственного университета. – 2006. – № 21. – С. 89-90.

156. Липунова, Е.А. Функциональная морфология эритроцитов лягушек в условиях адреналиновой нагрузки / Е.А. Липунова, М.Ю. Скоркина, А.С. Зеленцова // XX съезд физиологического общества им. И.П. Павлова. – М.: Русский врач, 2007. – С. 307.

157. Липунова, Е.А. Реологические свойства эритроцитов в условиях активации и блокады мембранных кальциевых каналов / Е.А. Липунова, М.Ю. Скоркина, А.С. Зеленцова // Гемореология в микроциркуляции (от молекулярных мишеней к органным и системным изменениям): Материалы Шестой международной конференции (Ярославль, 10-13 июня 2007 г.). – Ярославль: Изд-во ЯГПУ, 2007. – С.163.

158. Ложкина, А.Н. Система комплемента как связующее звено между иммуногенезом, гемостазом и неспецифической резистентностью организма / А.Н. Ложкина, Б.И. Кузник, Н.Н. Цыбников // Иммуногенез, гемостаз и неспецифическая резистентность организма. – М.: Медицина, 1989. – С. 126-158.

159. Ломакин, М.С. Медиаторы системы иммунологического надзора / М.С. Ломакин, Г. Бочко // Иммунология. – 1987. – № 3. – С. 17-22.

160. Ляшенко, В.А. Механизмы активации иммунокомпетентных клеток / В.А. Ляшенко, В.А. Дрожеников, И.И. Молотковская. – М.: Медицина, 1988. – 240 с.

161. Марку, И. Метаболизм эритроцита / И. Марку // Клиническая гематология / Под ред. Шт. Берчано. – Бухарест: Медицинское изд-во, 1985. – С. 92-99.

162. Маянский, А.Н. Лекции по иммунологии / А.Н. Маянский. – Нижний Новгород: Изд-во НГМА, 2003. – 272 с.

163. Маянский, Д.Н. Хроническое воспаление / Д.Н. Маянский. – М.: Медицина, 1991. – 272 с.

164. Маянский, А.Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге / А.Н. Маянский, Д.Н. Маянский. – Новосибирск: Наука, 1989. – 344 с.

165. Маянский, А.Н. Клинические аспекты фагоцитоза / А.Н. Маянский, О.И. Пикуза. – Казань: Изд-во «Магариф», 1993. – 191 с.

166. Медведев, В.И. Устойчивость физиологических и психических функций человека при действии экстремальных факторов / В.И. Медведев. – Л.: Наука, 1982. – 104 с.

167. Медведев, Ж.А. О некоторых особенностях эритропоэза и старения эритроцитов лягушки / Ж.А. Медведев // Онтогенез. – 1972. – Т. 3, № 4. – С. 394-404.

168. Медведев, Ж.А. Биохимические механизмы старения ядерных и безъядерных эритроцитов / Ж.А. Медведев // Цитология. – 1973. – Т. XV, № 8. – С. 963-975.

169. Мельников, А.А. Понижение деформируемости эритроцитов у спортсменов, вызванное нарушением магниевого баланса / А.А. Мельников, А.Д. Викулов // Физиология человека. – 2005. – Т. 31, № 3. – С. 133-136.

170. Меньшиков, И.В. Основы иммунологии. Лабораторный практикум / И.В. Меньшиков, Л.В. Бедулева. – Ижевск: Изд. дом «Удмуртский университет», 2001. – 136 с.

171. Механизм взаимодействия АБОН с эритроцитами в аутоиммунном гемолизе / Я.И. Пухова, И.А. Терсков, Л.В. Пономаренко, А.Я. Аникина // Механизмы регуляции в системе крови. – Красноярск, 1978. – С. 72-74.

172.

173. Мецлер, Д. Биохимия: Химические реакции в живой клетке : в 3 т. / Д. Мецлер. Пер. с англ. Под ред. А.Е. Браунштейна. – Т. 2. – М.: Мир, 1980. – 606 с.

174. Моженок, Т.П. Распределение активности некоторых дегидрогеназ в процессе эритропоэза у голубей / Т.П. Моженок, В.Л. Немчинская // Цитология. – 1975. – № 10.

175. Моисеева, О.И. Почки и эритропоэз / О.И. Моисеева. – Л.: Наука, 1970. – 123 с.

176. Моисеева, О.И. Эритропоэтинообразующая функция почек / О.И. Моисеева // Физиология системы крови. Физиология эритропоэза: Руководство по физиологии. – Л.: Наука, 1979. – С. 118-158.

177. Моисеева, О.И. Влияние ингибитора эритропоэза на эритрон / О.И. Моисеева // Физиология системы крови. Физиология эритропоэза: Руководство по физиологии. – Л.: Наука, 1979а. – С. 159-171.

178. Моисеева, О.И. Физиологические механизмы регуляции эритропоэза / О.И. Моисеева. – Л.: Наука, 1985. – 183 с.

179. Морщакова, Е.Ф. Изучение места и механизма образования эритропоэтина / Е.Ф. Морщакова, А.Д. Павлов // Молекулярные аспекты регуляции эритропоэза. – Рязань, 1974. – С. 57-86.

180. Муравьев, А.В. Гемореологические профили у лиц с нормальным и повышенным артериальным давлением / А.В. Муравьев, Л.Г. Зайцев // Физиология человека. – 1998. – Т. 24, № 3. – С. 63-66.



181. Муравьев, А.В. Сравнительный анализ влияния ингибиторов фосфодиэстераз и дБ-цАМФ на агрегацию эритроцитов / А.В. Муравьев, В.С. Шинкаренко // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2003. – № 2. – С. 36.
182. Муравьев, А.В. Вне- и внутриклеточные механизмы изменения агрегации эритроцитов / А.В. Муравьев, А.А. Муравьев // Физиология человека. – 2005. – Т. 31, № 4. – С. 108-112.
183. Муравьев, А.В. Анализ изменения агрегации эритроцитов под влиянием фармакологических факторов: *in vitro* исследование / А.В. Муравьев, В.В. Якусевич, С.В. Чопоров // Гемореология в микро- и макроциркуляции: Материалы международной конференции (Ярославль, 21-23 августа 2005 г.). – Ярославль: Изд-во ЯГПУ, 2005. – С. 190.
184. Мэдди, Э., Биохимическое исследование мембран / Э. Мэдди. – М.: Мир, 1979. – 460 с.
185. Натан, Д.Г. Регуляция кроветворения / Д.Г. Натан, К. А. Зифф // Гематология и трансфузиология. – 1994. – № 2. – С. 3-10.
186. Наточин, Ю.В. Новое о природе регуляций в организме человека / Ю.В. Наточин // Вестник РАН. – 2000. – Т. 70, № 1. – С. 21-35.
187. Нейфах, А.А. Проблемы регуляции в молекулярной биологии развития / А.А. Нейфах, М.Я. Тимофеева. – М.: Наука, 1978. – 336 с.
188. Немчинская, В.Л. Некоторые особенности энергетического метаболизма эритроцитов голубей и их ядер / В.Л. Немчинская, Т.П. Моженко, А.Д. Браун // Цитология. – 1974. – № 1. – С. 23-28.
189. Нестеренко, В.Г. Иммунологическая регуляция дифференцировки соматических клеток / В.Г. Нестеренко // Успехи современной биологии. – 1980. – Т. 90, № 6. – С. 211-220.
190. Нестеренко, В.Г. Аутологичные идиотип-антиидиотипические взаимодействия и регуляция иммунного ответа / В.Г. Нестеренко // Иммунология. – 1982. – № 2. – С. 5-15.
191. Нестеренко, В.Г. Регуляторные клетки и сетевые взаимодействия в иммунной системе / В.Г. Нестеренко // Клеточные факторы регуляции иммуногенеза / Под ред. В.А. Труфакина. – Новосибирск: Сиб. отд-ние, 1985. – С. 71-87.
192. Нечаев, Н. Роль гипоталамуса в осуществлении эритропоэтического эффекта / Н. Нечаев, А. Логофетов // Проблемы физиологии гипоталамуса. – Киев: Изд-во КГУ, 1971. – С. 39-43.
193. Никитин, В.Н. Гематологический атлас сельскохозяйственных и лабораторных животных / В.Н. Никитин. – М.: Сельхозгиз., 1956. – 191 с.
194. Нишанбаева, М.А. Кровь и кроветворение амфибий в различные сезоны года под влиянием облучения / М.А. Нишанбаева. – Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Ташкент, 1971. – 23 с.
195. Новодержкина, Ю.К. Конфигурация и поверхность клеток в норме и патологии / Ю.К. Новодержкина, З.Г. Шишканова, Г.И. Козинец. – М.: Триада-фарм, 2004. – 152 с.
196. Новый подход к исследованию патофизиологии клетки: изучение распределения клеток по размерам и форме как метод диагностики и

мониторинга заболеваний / А.В. Сыроешкин, Т.В. Гребенникова, В.Н. Байкова и др. // Клиническая лабораторная диагностика. – 2002. – № 5. – С. 35-40.

197. Овчинников, В.В. Эритрограммы метгемоглобиновых эритроцитов / В.В. Овчинников // Вопросы биофизики, биохимии и патологии эритроцитов / Под ред. Г.М. Франка, В.Т. Поэтовой. – М.: Наука, 1967. – С. 292-295.

198. Озернюк, Н.Д. Перспективы исследований биологии стволовых клеток / Н.Д. Озернюк // Вестник РАН. – 2001. – Т. 74, № 4. – С. 366-367.

199. Орлов, С.Н. Са-насос плазматической мембраны. Механизм функционирования и регуляции / С.Н. Орлов // Кальций – регулятор метаболизма. – Томск: Изд-во ТГУ, 1987. – С. 74-76.

200. Орлов, С.Н. О механизме регуляции транспорта ионов через цитоплазматическую мембрану при изменении объема клетки / С.Н. Орлов, Н.И. Покудин, Г.Г. Ряжский // Биологические мембраны. – 1988. – Т. 5, № 10. – С. 1030-1041.

201. Орлов, С.Н. Механизмы активации ионного транспорта при изменении объема клеток / С.Н. Орлов, Т.Г. Гурло // Цитология. – 1991. – Т. 33, № 11. – С. 101-110.

202. Орлов, С.Н. Регуляция объема клеток: механизмы, сопряженные клеточные реакции и патофизиологическое значение / С.Н. Орлов, К.Н. Новиков // Физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 1996. – Т. 82, № 8-9. – С. 1-15.

203. Оценка функционального состояния системы красной крови лягушек *R. ridibunda* Pall. в условиях естественного водоема / Е.А. Липунова, М.Ю. Скоркина, А.С. Зеленцова, М.С. Кузнецов, М.Н. Гончаренко // Клиническая гемостазиология и гемореология в сердечно-сосудистой хирургии: Материалы Второй Всероссийской научной конференции (с международным участием). – М.: Науч. Центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева РАМН, 2005а. – С. 302-303.

204. Острый разлитой перитонит / Под ред. А.И. Струкова, В.И. Петрова, В.С. Паукова. – М.: Медицина, 1987. – 288 с.

205. Павлов, А.Д. Регуляция эритропоэза: физиологические и клинические аспекты / А.Д. Павлов, В.М. Морщакова. – М.: Медицина, 1987. – 272 с.

206. Павлов, А.Д. Эритроидная дифференциация и механизм действия эритропоэтина / А.Д. Павлов // Успехи современной биологии. – 1988. – Т. 105, вып. 1. – С. 117-133.

207. Пальцын, А.А. Некоторые аспекты современного учения о полиморфно-ядерных лейкоцитах / А.А. Пальцын // Архив патологии. – 1988. – № 8. – С. 85-90.

208. Патент на изобретение № 2224335 РФ. Способ визуализации форменных элементов крови птиц на одном мазке / Е.А. Липунова, М.Ю. Скоркина, заявл. 06.05. 2002 // БИПМ. – 2004. – № 5, Ч. IV. – С. 905.

209. Патент на изобретение № 2227280 РФ. Способ определения ретикулоцитов в инкубированной крови птиц / М.Ю. Скоркина, Е.А. Липунова, заявл. 16.07.2002 // БИПМ. – 2004. – №11, Ч. III. – С. 557.
210. Патент на изобретение 2234701 РФ. Способ идентификации субпопуляций эритроцитарной системы / Е.А. Липунова, В.М. Никитин, М.Ю. Скоркина, Н.А. Чеканов, заявл. 17.12.02 // БИПМ. – 2004. – № 23, Ч. III. – С. 573.
211. Патент на изобретение № 2268463 РФ. Способ оценки активности эритропоэза / Е.А. Липунова, М.Ю. Скоркина, В.М. Никитин, А.С. Зеленцова, заявл. 12.04.04 // БИПМ. – 2006. – № 2, Ч. VII. – С. 1979.
212. Патологическая физиология / Под ред. А.В. Адо, В.В. Новицкого. – Томск: Изд-во ТГУ, 1994. – 468 с.
213. Перцева, М.Н. Молекулярные основы развития гормонокомпетентности / М.Н. Перцева. – Л.: Наука, 1989. – 251 с.
214. Петров, В.Н. Железо и эритропоэз / В.Н. Петров // Физиология системы крови. Физиология эритрона: Руководство по физиологии. – Л.: Наука, 1979. – С. 172-210.
215. Петров, Р.В. Миграция стволовых клеток, Т- и В-лимфоцитов у высоко- и низкореагирующих на эритроциты барана линий мышей / Р.В. Петров, Р.М. Хаитов, А.А. Батырбеков // Журнал микробиологии. – 1976. – № 9. – С. 51-54.
216. Петров, Р.В. Искусственные полиэлектролиты – новые биологически активные соединения, влияющие на иммуногенез / Р.В. Петров, Р.М. Хаитов // Медицинский реферативный журнал. – 1977. – № 7. – С. 18-27.
217. Петров, Р.В. Иммунология / Р.В. Петров. – М.: Медицина, 1987. – 416 с.
218. Пигаревский, В.Е. Зернистые лейкоциты и их свойства / В.Е. Пигаревский. – М.: Медицина, 1978. – 128 с.
219. Погорелов, В.М. Морфология апоптоза при нормальном и патологическом эритропоэзе / В.М. Погорелов, Г.И. Козинец // Гематология и трансфузиология. – 1995. – Т. 40, № 5. – С. 7-24.
220. Погорелов, В.М. Диагностическая значимость морфологических особенностей эритроцитов в мазках периферической крови / В.М. Погорелов, Г.И. Козинец // Гематология и трансфузиология. – 2005. – Т. 50, № 5. – С. 13-17.
221. Погребняк, Т.А. Нейрофизиологические механизмы адаптации птиц к условиям острого и хронического десинхроноза / Т.А. Погребняк. – Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Белгород, 2006. – 19 с.
222. Получение стволовых клеток периферической крови для ауто- и аллогенных трансплантаций гемопоэтических клеток / Л.М. Фрегатова, А.А. Головачева, М.А. Эстрина, Е.В. Бабенко // Терапевтический архив. – 2002. – № 7. – С. 27-30.
223. Потенциалуправляемые кальциевые каналы (часть I) / А.Г. Камкин, И.С. Киселева, С.И. Кирищук, И.Т. Лозинский // Успехи физиологических наук. – 2006. – Т. 36, № 4. – С. 3-33.

224. Потенциалуправляемые кальциевые каналы (часть II) /А.Г. Камкин, И.С. Киселева, С.И. Кирищук, И.Т. Лозинский // Успехи физиологических наук. – 2007. – Т. 38, № 1. – С. 14-38.

225. Прилуцкий, В.И. О формах морфофизиологической перестройки коры надпочечников при действии сильного стрессора и больших доз АКТГ / В.И. Прилуцкий // Фармакология и токсикология. – 1964. – Т. 27, №3. – С. 339-342.

226. Прокоп, О. Группы крови человека / О. Прокоп, Б. Геллер. Пер. с нем. – М.: Медицина, 1991. – 510 с.

227. Проссер, Л. Сравнительная физиология животных / Л. Проссер, Ф. Браун. Под ред. Г.Д. Смирнова. – М.: Мир, 1967. – 766 с.

228. Проссер, Л. Сравнительная физиология животных: в 3 т. / Л. Проссер / Под ред. Т.М. Турпаева. – М.: Мир, 1977. – Т.2. – 571 с.

229. Пухова, Я.И. Механизм и природа гемолиза в норме и при экстремальных воздействиях/ Я.И. Пухова //Успехи физиологических наук. – 1980. – Т. 11, № 2. – С. 84-104.

230. Развитие системы кроветворения у плода человека /И.В. Алексеев, И.В. Замараева, Е.Е. Владимирская и др. //Гематология и трансфузиология. – 1995. – Т. 40, № 5. – С. 26-29.

231. Рассохин, А.Г. Состояние эритропоэза и функциональные характеристики эритробластических островков костного мозга при стимуляции и ингибиции эритропоэза /А.Г. Рассохин, Д.Г. Круглов, Ю.М. Захаров // Вестник РАМН. – 2002. – № 2. – С. 9-14.

232. Реакция адреналовой системы кур-несушек на стресс-голодание / А.Я. Аврутина, В.П. Шинкарева, Г.О. Вольпе и др. // Доклады ВАСХНИЛ. – 1976. – №4. – С. 33-34.

233. Репин, В.С. Эмбриональная стволовая клетка (от фундаментальной биологии к медицине) / В.С. Репин //Успехи физиологических наук. – 2001. – Т. 21, № 1. – С. 3-18.

234. Репин, В.С. Медицинская клеточная биология /В.С. Репин, Г.Т. Сухих. – М.: РАМН: БЭБ и М., 1998. – 2000 с.

235. Ройтман, Е.В. Биореология. Клиническая гемореология. Основные понятия, показатели, оборудование (лекция) / Е.В. Ройтман // Клиническая лабораторная диагностика. – 2001. – № 5. – С. 25-32.

236. Ройтман, Е.В. Изменение реологических свойств крови и осмотической резистентности эритроцитов при активации свободнорадикальных процессов /Е.В. Ройтман, И.И. Дементьева, О.А. Азизова // Клиническая лабораторная диагностика. – 2001. – № 1. – С. 42-43.

237. Роль серотонина в механизме регуляции осмотического гомеостаза /Н.Н. Мелиди, Т.Г. Амстиславская, К.С. Науменко, Л.Н. Кочкаева // Тез. докл. XVII съезда физиол. общества им. И.П. Павлова. – Ростов н/Д, 1998. – С.20.

238. Романова, А.Ф. Справочник по гематологии / А.Ф. Романова. – Ростов н/Д: Феникс, 2000. – 384 с.

239. Росин, А.Я. Регуляция функций / А.Я. Росин. – М.: Наука, 1984. – 171 с.
240. Рубина, Х.М. Биохимия эритроцитов / Х.М. Рубина // Физиология системы крови. Физиология эритропоэза: Руководство по физиологии. – Л.: Наука, 1979. – С. 211-232.
241. Румянцев, А.Г. Эритропоэтин в диагностике, профилактике и лечении анемий / А.Г. Румянцев, Е.Ф. Морщакова, А.Д. Павлов. – М.: Printshop 13. 2003. – 448 с.
242. Рябов, С.И. Основы физиологии и патологии эритропоэза / С.И. Рябов. – Л.: Медицина, 1971. – 255 с.
243. Рябов, С.И. Молекулярно-генетические аспекты эритропоэза / С.И. Рябов, Г.Д. Шостка. – Л.: Медицина, 1973. – 278 с.
244. Рязанцева, Н.В. Типовые нарушения молекулярной организации мембраны эритроцита при соматической и психической патологии / Н.В. Рязанцева, В.В. Новицкий // Успехи физиологических наук. – 2004. – Т. 35, № 1. – С.53-65.
245. Рязанцева Н.В. Вирусиндуцированная дизрегуляция программируемой гибели иммунокомпетентных клеток: адаптация или патология? / Н.В. Рязанцева, В.В. Новицкий, О.В. Жукова // Успехи физиологических наук. – 2005. – Т. 36, № 3. – С. 33-44.
246. Саркисов, Д.С. Очерки по структурным основам гомеостаза / Д.С. Саркисов. – М.: Медицина, 1977. – 351с.
247. Саркисов, Д.С. Рекомбинационные преобразования как один из механизмов многообразия в явлениях природы / Д.С. Саркисов // Рекомбинационные преобразования как один из механизмов качественных изменений в живых системах (материалы методологически-философского семинара) / Под. ред. Г.Х. Шингарова. – М.: Медицина и милосердие, 1994. – С. 3-37.
248. Сарычева, Т.Г. Морфофункциональная характеристика эритрона в норме (обзор литературы) / Т.Г. Сарычева, Г.И. Козинец // Клиническая лабораторная диагностика. – 2001. – № 5. – С. 2-8.
249. Сафронов, Г.А. Стратегия поиска искусственных заменителей крови / Г.А. Сафронов, Е.А. Селиванов, М.Д. Ханевич // Вестник РАМН. – 1999. – № 10. – С. 13-15.
250. Сафронов, Г.А. Новые кровезаменители полифункционального действия / Г.А. Сафронов, Е.А. Селиванов // Вестник РАМН. – 2003. – № 10. – С. 48-51.
251. Сергеев, П.В. Рецепторы физиологически активных веществ / П.В. Сергеев, Н.Л. Шемановский. – М.: Медицина, 1987. – 400 с.
252. Сигал, В.Л. Фильтрационные методы определения деформационных (вязкоупругих) свойств мембран биологических клеток. (Обзор литературы) / В.Л. Сигал. – Лабораторное дело. – 1989. – № 5. – С. 4-9.
253. Сидорова, Е.В. Что нам известно сегодня о В-клетках / Е.В. Сидорова // Успехи современной биологии. – 2006. – № 3. – С. 227-241.

254. Симбирцев, А.С. Толл-белки: специфические рецепторы неспецифического иммунитета / А.С. Симбирцев // Иммунология. – 2005. – Т. 26, №6. – С. 368-377.

255. Скальный, А.В. Биоэлементы в медицине / А.В. Скальный, И.А. Рудаков. – М.: ОНИКС 21 век. Изд-во «Мир», 2004. – 272 с.

256. Скоркина, М.Ю. Физиологические механизмы регуляции устойчивости эритроцитарных мембран в условиях кальциевой нагрузки / М.Ю. Скоркина // Тезисы докладов XX съезда физиологического общества им. И.П. Павлова. – М.: Изд. дом «Русский врач», 2007. – С. 418.

257. Скоркина, М.Ю. Биометрические параметры эритроцитов амфибий при гипоосмотической нагрузке / М.Ю. Скоркина, А.С. Зеленцова, М.Н. Гончаренко // Актуальные проблемы биологии, медицины и экологии. – Томск: Изд-во СГМУ, 2003. – С. 180-182.

258. Скоркина, М.Ю. Резистентность эритроцитов лягушки *Rana ridibunda* Pall в физиологических условиях / М.Ю. Скоркина, А.С. Зеленцова // Актуальные проблемы сохранения устойчивости живых систем: Материалы Восьмой науч. экол. конф. – Белгород: Изд-во БелГУ, 2004. – С. 67-68.

259. Скоркина, М.Ю. Показатели костно-мозгового кроветворения у птиц при экстремальных воздействиях / М.Ю. Скоркина, Е.А. Липунова // Вестник Томского государственного университета. Приложение. – 2006. – № 21. – С. 137-138.

260. Сойфер, В.А. Компьютерная обработка изображений / В.А. Сойфер // Вестник РАН. – 2001. – Т. 71, № 2. – С. 119-129.

261. Соколов, Е.И. Диабетическое сердце /Е.И. Соколов. – М.: Медицина, 2002. – 416 с.

262. Солдатенков, П.Ф. Кровь и кровообращение /П.Ф. Солдатенков // Физиология сельскохозяйственных животных: Руководство по физиологии / Под ред. Н.А. Шманенкова. – Л.: Наука, 1978. – С.308-361.

263. Соловьев, С.В. О роли цитоскелета эритроидных клеток в механизмах ответа системы эритрона на возмущающее воздействие / С.В. Соловьев: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Челябинск, 1989. – 21 с.

264. Сороковой, В.И. Роль плазмолеммы в процессах старения, элиминации и воспроизводства эритроцитов: микровезикулы плазмолеммы как стимуляторы эритропоэза / В.И. Сороковой, Г.М. Никитина, Н.Н. Моченова // Вестник Российской академии медицинских наук. – 1996. – №9. – С. 35-40.

265. Смирнова, Е.А. Перестройка тубулинового и виментинового компонентов цитоскелета при действии гипотонии на L-клетки / Е.А. Смирнова. – 1988. – Т. 22, № 1. – С. 32-35.

266. Стайер, Л. Биохимия: в 3 т. / Л. Стайер. Под ред. С.Е. Северина. – М.: Мир, 1985. – Т. 2. – 308 с.

267. Стародуб, Н.Ф. Гетерогенная система гемоглобина. Синтез гемоглобина отдельных типов в онтогенезе и при патологии организма /

Н.Ф. Стародуб, Ю.Н. Токарев // Успехи современной биологии. – 1986. – Т. 101, вып. 3. – С. 374-389.

268. Стародуб, Н.Ф. Гетерогенная система гемоглобина: структура, свойства, синтез, биологическая роль / Н.Ф. Стародуб, В.И. Назаренко. – Киев: Наук. думка, 1987. – 200 с.

269. Сторожок, С.А. Молекулярная структура мембран эритроцитов и их механические свойства / С.А. Сторожок, А.Г. Санников, Ю.М. Захаров. – Тюмень: Изд-во ТГУ, 1997. – 140 с.

270. Сторожок, С.А. Структурные и функциональные особенности цитоскелета мембраны эритроцита / С.А. Сторожок, С.В. Соловьев // Вопросы медицинской химии. – 1992. – № 2. – С. 14-17.

271. Струков, А.И. Общая патология человека / А.И. Струков, В.В. Серов, Д.С. Саркисов. – М.: Медицина, 1982. – 656 с.

272. Судаков, К.В. Функциональная система, определяющая оптимальный уровень эритроцитов в организме / К.В. Судаков, Ю.М. Захаров // Клиническая медицина. – 2002. – № 4. – С. 4-11.

273. Татишвили, Н.И. Молекулярные и клеточные аспекты иммунного распознавания / Н.И. Татишвили, В.В. Меунория, Т.С. Соселия. – Тбилиси: Мецнереба, 1988. – 226 с.

274. Теппермен, Дж. Физиология обмена веществ и эндокринной системы / Дж. Теппермен, Х. Теппермен. – М.: Мир, 1989. – 656 с.

275. Тимошенко, А.В. Индивидуальная агрегация клеток / А.В. Тимошенко, С.Н. Черенкович // Украинский биохимический журнал. – 1991. – Т.63, № 6. – С. 3-14.

276. Тихомирова, И.А. Изучение адренореактивности и агрегационного ответа эритроцитов на адренергические воздействия в норме и при патологии / И.А. Тихомирова, Е.П. Гусева, А.В. Муравьев // Гемореология в микро- и макроциркуляции: Материалы международной конференции (Ярославль, 21-23 августа 2005 г.). – Ярославль: Изд-во ЯГПУ, 2005. – С. 200.

277. Ткачук, В.А. Роль и место циклических нуклеотидов в нейроэндокринной регуляции клеток тканей / В.А. Ткачук // Биологические науки. – 1987. – № 6. – С. 5-17.

278. Томилов, А.Ф. Эритроцит, ретикулоцит, нормоцит: их место в схеме эритропоэза / А.Ф. Томилов, Т.Я. Колкер // Лабораторное дело. – 1991. – № 6. – С. 26-29.

279. Трикуленко, А.В. Кинетика кислотного лизиса эритроцитов разновозрастных популяций в присутствии лигандов некоторых интегральных белков плазматических мембран / А.В. Трикуленко, У.В. Панишко // Гематология и трансфузиология. – 1999. – Т.4, №1. – С. 16-18.

280. Троицкая, П.А. Изменение кислотной стойкости эритроцитов при введении инсулина и адреналина / П.А. Троицкая // Вопросы биофизики, биохимии и патологии эритроцитов / Под ред. Г.М. Франка, В.Т. Поэтовой. – М.: Наука, 1967. – С. 304-309.

281. Ужанский, Я.Г. Физиологические механизмы регенерации крови / Я.Г. Ужанский. – М.: Медицина, 1968. – 264 с.

282. Устойчивость разных типов клеток к гипотонии / Е.А. Смирнова, Н.Н. Казачкина, В.И. Гребенщикова, Ю.С. Ченцов // Цитология. – 1987. – Т. 29, № 1. – С. 47-53.

283. Ушаков, И.Б. Проблемы формирования, регуляции и прогнозирования неспецифической активности и радиорезистентности организма / И.Б. Ушаков, А.С. Штемберг // XX съезд физиологического общества им. И.П. Павлова (Москва, 4-8 июня 2007 г.): Тезисы докладов. – М.: Русский врач, 2007. – С. 7.

284. Фазлыев, М.М. Исследование структурно-метаболических свойств эритроцитов у больных системными васкулитами /М.М. Фазлыев, А.Ж. Гильманов //Клиническая лабораторная диагностика. – 2005. – № 5. – С. 34-37.

285. Федоров, Н.А. Эритропоэтин /Н.А. Федоров, М.Г. Кахетелидзе. – М.: Медицина, 1973. – 190 с.

286. Федорова, М.З. Реактивность лейкоцитов крови при различных функциональных нарушениях /М.З. Федорова. – Ярославль: Изд-во ЯГПУ, 2001. – 68 с.

287. Федорова, М.З. Использование «мембранного резерва» лимфоцитами крови при деформации и в условиях гипотонии / М.З. Федорова, В.Н. Левин // Биологические мембраны. – 2001. – Т. 18, № 4. – С. 306-311.

288. Физиологическая (запрограммированная) гибель клеток при гемопоэзе / Г.И. Козинец, В.М. Погорелов, Г.М. Хазем и др. // Клиническая лабораторная диагностика. – 1996.– № 1. – С. 35-37.

289. Физиология водно-солевого обмена и почки // Отв. ред. Ю.В. Наточин. – СПб: Наука, 1993. – 576 с.

290. Физиология лейкоцитов человека. – Л.: Наука, 1979. – 232 с.

291. Физиология системы крови /Под ред. В.Н. Черниговского. – 1968. – 280 с.

292. Физиология системы крови. Физиология эритропоэза / Под ред. В.Н. Черниговского. – Л.: Наука, 1979. – 360 с.

293. Фултон, А. Цитоскелет. Архитектура и хореография клетки / А. Фултон. – М: Мир, 1987. – 120 с.

294. Функциональные системы организма: Руководство / Под ред. К.В. Судакова. – М.: Медицина, 1987. – 432 с.

295. Фридман, Л.М. Осмотическая и механическая резистентность эритроцитов при анемических состояниях / Л.М. Фридман // Сб. трудов Научно-исследовательского ин-та переливания крови им. Мухадзе. – 1957. – Т.V. – С. 121-133.

296. Хаитов, Р.М. Воздействия на отдельные этапы становления и взаимодействия Т- и В-клеток /Р.М. Хаитов // Итоги науки и техники. – М.: Наука, 1976. – Т. 4. – С. 101-123.



297. Хаитов, Р.М. Основные задачи клинической иммунологии по изучению функциональной активности фагоцитирующих клеток / Р.М. Хаитов, Б.В. Пинегин // Иммунология. – 1995. – № 3. – С. 6-10.
298. Хаитов, Р.М. Иммунология / Р.М. Хаитов, Г.А. Игнатьева, И.Г. Сидорович. – М.: Медицина, 2000. – 432 с.
299. Хамидов, Д.Х. Кровь и кроветворение у позвоночных животных / Д.Х. Хамидов, А.Т. Акилов, А.А. Труднева. – Ташкент: Фан, 1978. – 168 с.
300. Хомутовский, О.А. Структура и функции примембранных слоев клеток (гликокаликс) / О.А. Хомутовский. – Киев: Наук. думка, 1984. – 160 с.
301. Хрущов, Г.С. Эволюция кроветворных органов позвоночных / Г.С. Хрущов // Лимфоидная ткань в восстановительных и защитных процессах. – М.: Наука, 1966. – С.7-24.
302. Цырлова, И.Г. Супрессия гуморального ответа клетками нелимфоидной природы – эр-супрессорами / И.Г. Цырлова, В.В. Чеглякова // Клеточные основы регуляции иммуногенеза / Под ред. А.В. Труфакина. – Новосибирск: Наука, 1989. – С. 115-125.
303. Черниговский, В.Н. Регуляция эритропоэза / В.Н. Черниговский, С.Ю. Шехтер, А.Я. Ярошевский. – Л.: Наука, 1967. – 101 с.
304. Черниговский, В.Н. Регуляция эритропоэза / В.Н. Черниговский, О.И. Моисеева // Успехи физиологических наук. – 1982. – Т. 13, № 4. – С. 27-44.
305. Черницкий, Е.А. Структура и функции эритроцитарных мембран / Е.А. Черницкий, А.В. Воробей. – Минск: Наука и техника, 1981. – 214 с.
306. Чертков, И.Л. Стволовая кроветворная клетка / И.Л. Чертков, А.Я. Фриденштейн // Успехи современной биологии. – 1966. – № 63. – С. 97-113.
307. Чертков, И.Л. Клеточные основы кроветворения / И.Л. Чертков, А.Я. Фриденштейн. – М.: Наука, 1977. – 270 с.
308. Чертков, И.Л. Стволовая кроветворная клетка, ее дифференцировка в эритроидном направлении, кроветворное микроокружение / И.Л. Чертков, А.Я. Фриденштейн // Физиология системы крови. Физиология эритропоэза: Руководство по физиологии. – Л.: Наука, 1979. – С. 72-96.
309. Чертков, И.Л. Стволовая кроветворная клетка и ее микроокружение / И.Л. Чертков, О.А. Гуревич. – М.: Медицина, 1984. – 238 с.
310. Чертков, И.Л. Нормальное кроветворение / И.Л. Чертков // Гематология и трансфузиология. – 1990. – Т. 35, № 2. – С. 30-33.
311. Чижевский, А.Л. Структурные образования из эритроцитов в движущейся по сосудам крови / А.Л. Чижевский // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1951. – №12. – С. 443-449.
312. Чизмаджев, Ю.А. Мембранная биология: от липидных бислоев до молекулярных машин / Ю.А. Чизмаджев // Соросовский образовательный журнал. – 2000. – Т.6, № 8. – С. 12-17.

313. Шалабодов, А.Д. Биологические мембраны и мембранный транспорт / А.Д. Шалабодов. – Тюмень: Изд-во Тюмен. гос. ун-та, 1999. – 156 с.
314. Чижевский, А.Л. Структурные образования из эритроцитов в движущейся по сосудам крови / А.Л. Чижевский // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1951. – №12. – С. 443-449.
315. Шашкин, А.В. Продукция и деструкция эритроцитов в организме / А.В. Шашкин, И.А. Терсков. – Новосибирск: Наука, 1986. – 89 с.
316. Шилов, В.Н. Молекулярные механизмы структурного гомеостаза / В.Н. Шилов. – М.: Интерсигнал, 2006. – 288 с.
317. Шиффман, Ф. Дж. Патология физиологии крови / Ф. Дж. Шиффман. – М.; СПб.: «Бином» – «Невский Диалект», 2000. – 448 с.
318. Шмидт-Ниельсен К. Физиология животных: Приспособление и среда: в 2 кн. / К. Шмидт-Ниельсен. Под ред. Е.М. Крепса. – М.: Мир, 1982. – Кн. 1. – 414 с.
319. Шубникова, Е.А. Функциональная морфология тканей / Е.А. Шубникова. – М.: Изд-во МГУ, 1981. – 326 с.
320. Эколого-физиологические особенности гемопоэза лягушек рода *Rana* / М.Ю. Скоркина, А.С. Зеленцова, М.С. Кузнецов, В.Н. Шишков // Биология – наука XXI века: Материалы Десятой международной школы-конференции молодых ученых. – Пущино, 2006. – С. 163.
321. Электрофоретическая подвижность эритроцитов как показатель оценки функциональной полноценности мембраны эритроцитов / Н.В. Пурло, О.В. Попова, Л.С. Бирюкова, Г.И. Козинец // Клиническая лабораторная диагностика. – 2005. – № 1. – С. 40-44.
322. Эмерсон, С. Дж. Гемопоэз. Развитие клеток крови / С. Дж. Эмерсон. Под ред. Ф.Дж. Шиффман; Пер с англ. Н.Б. Серебряная, В.И. Соловьев // Патология физиологии крови. – М.; СПб.: «Бином». – «Невский Диалект», 2000. – С. 17-42.
323. Яковлева, М.И. Проблемы и перспективы использования эмбриональных стволовых клеток в медицине / М.И. Яковлева, Е.В. Щербак // Актуальные проблемы биологии, медицины и экологии. – 2004. – № 1-3. – С. 67-68.
324. Ярошевский, А.Я. Роль почек в регуляции эритропоэза и свертывания крови / А.Я. Ярошевский. – Физиология почки. – Л.: Наука, 1972. – С. 286-301.
325. Abdel-Latiff, A.A. Calcium- mobilizing receptors, polyphosphoinositides, and the generation of messengers / A.A. Abdel-Latiff // Pharmacol. Rev. – 1986. – V. 38. – P. 227-257.
326. Androgen action on erythropoiesis / A.S. Gordon, E.A. Mirand, J. Wentg et al. // Ann. N. Y. Acad. Sci., 1968. – V. 149. – P 318-335.
327. Atland, P.D. Red cell life span in the turtle and toad / P.D. Atland, K.C. Brace // Amer. J. Physiol. – 1962. – V. 203, № 6. – P. 1188-1190.

328. Bard, E. Response of human lymphocytes to mitogen at what stage is there a requirement for  $\text{Ca}^{2+}$  / E. Bard, R. Colwill, R.L. Anglais, I.G.Kaplan // *Canad. Biochem.* – 1978. – V. 56, № 9. – P. 900-904.
329. Bartels, H. Oxygen affinity of chicken blood / H. Bartels, Y. Heller, W. Reinhardt // *Respir. Physiol.* – 1966. – V. 1. – P. 345-356.
330. Bennett, V. The membrane skeleton of human erythrocytes and its implications for more complex cells / V. Bennett // *Ann. Rev. Biochim.* – 1985. – V. 54. – P. 273-304.
331. Bennett, V. Brain adducin: a protein kinase C substrate that may mediate site-directed assembly at the spectrin-actin junction / V. Bennett, K. Garden, J. Steiner // *J. Biol. Chem.* – 1988. – V. 263. – P. 5860-5869.
332. Berenbrink, M. Defining the volume dependence of multiple K flux pathways of trout red blood cells / M. Berenbrink, Y.R. Weaver, A.R. Cossins // *American Physiological Society.* – 1997. – P. C1099-C1111.
333. Berridge, M.J. Inositol triphosphate and calcium signaling / M.J. Berridge // *Natur.* – 1993. – V. 361. – P. 315-325.
334. Bessis, M. Living blood cells and their ultrastructure / M. Bessis. – Berlin-Heidelberg. – N. Y., 1973. – 767 p.
335. Bessman, J.D. Heterogeneity of red cell volume: Quantification, clinical correlations, and possible mechanisms / J.D. Bessman // *The Johns Hopkins Medical Journal.* – 1980. – V. 144. – P. 226.
336. Beta-adrenergic agonists regulate cell membrane fluctuations of human erythrocytes / S. Tuvia, A. Moses, N. Gulayev et al. // *J. Physiol.* – 1999. – V. 516. – P. 781.
337. Blocking of the receptor-stimulated calcium entry into human platelets by verapamil and nifedipine / P.V. Avdonin, M. Yu. Menshikov, I.V. Svitina-Ulitina, V.A. Tkachuk // *Thromb. Res.* – 1998. – V. 52. – P. 587-597.
338. Bolton, W. Three dimensional Fourier synthesis of horse deoxy haemoglobin at 2.8 Å resolution / W. Bolton, M.F. Perutz // *Nature.* – 1970. – V. 228, № 5271. – P. 551-552.
339. Bourguignon, L.Y.W. Receptor capping in mouse T-lymphoma cells: a  $\text{Ca}^{2+}$  and calmodulin-stimulated ATP-dependent process / L.Y.W. Bourguignon, M.G.L. Kerik // *J. Membr. Biol.* – 1983. – V. 75, № 1. – P. 65-72.
340. Bornes, M. Cooperative binding of Con A to thymocytes at 4° and microredistribution of Con A receptors / M. Bornes, E. Karsenti, S. Avrameas // *Eur. J. Biochem.* – 1976. – V. 65, № 1. – P. 61-69.
341. Brigitte, F. Structure and erythroid cell-restricted expression of a chicken cDNA encoding a novel zinc finger protein of the Cyst His class / F. Brigitte, W. Torsten, R. Nicole // *Gene.* – 1997. – V. 195, № 2. – P. 277-284.
342. Burg, M.B. Molecular basis of osmotic regulation / M.B. Burg // *Amer. J. Physiol.* – 1995. – V. 268. – P. F983-F996.
343. Cala, P.M. Volume regulation by Amphiuma red blood cells: role of free  $\text{Ca}^{2+}$  and alkali metal-H exchange / P.M. Cala, L.J. Mandel, E. Murphy // *Amer. J. Physiol.* – 1986. – V. 250. – P. C423-C429.

344. Caldwell, P.R.B. The binding of 2, 3-diphosphoglycerate as a conformational probe of human hemoglobin / P.R.B. Caldwell, R.L. Nagel // *J. Molec. Biol.* – 1973. – V. 74, № 4. – P. 605-611.

345. Carandente, O. Role of red cell sorbitol as determinant of reduced erythrocyte filterability in insulindependens diabetics / O. Carandente, R. Cjloambo, A.M. Girardi // *Acta diabetol. Lat.* – 1982. – V. 19, № 4. – P. 359-370.

346. Chen, J. Cytoskeletal dissociation of ezrin during renal anoxia: role in microvillar injury / J. Chen, R.B. Doctor, L.J. Mandel // *Am. J. Physiol.* – 1994. – V. 267. – P. C784-C795.

347. Cherksey, B.D. Cytoskeletal constrain of the  $\beta$ -adrenergic receptor in frog erythrocyte membranes / B.D. Cherksey, J.A. Zadunaisky, R.V. Murphy // *Biochemistry.* – 1980. – V. 77, № 11. – P. 6401-6405.

348. Lipunova, E.A. The method of determining the functional condition of erythropoiesis in frogs / E.A. Lipunova, M. Yu. Skorkina // *European J. of Natural History.* – 2007. – № 2. – P. 64.

349. Cooper, R.A. Lipids of human red cell membrane: normal composition and variability in disease / R.A. Cooper // *The red cell membrane* / Ed. R.I. Weed, E.R. Jaffe. – Miescher. – N.Y. ; L., 1970. – P. 48-74.

350. Cuifetti, G. Blood rheology in men with essential hypertension and capillary rare fraction / G. Cuifetti, L. Pasqualini, M. Pirro // *J. Hum Hypertens.* – 2002. – V. 16, № 8. – P. 529-531.

351. Dales, R.P. The coelomocytes of the terebellid polychaete *Amphitrite jonstioni* / R.P. Dales // *Quart. J. Microscop. Sci.*, 1964. – V. 105. – P. 263-274.

352. De Franceschi, L. K-Cl cotransport modulation by intracellular  $Mg^{2+}$  in erythrocytes from mice bred for low and high  $Mg^{2+}$  levels / L. De Franceschi, E. Villa-Moruzzi, L. Fumagalli // *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* – 2001. – V. 281. – C. 1385.

353. Dipienfass, L. Blood viscosity, hiperviscosity and hyperviscosaemia / L. Dipienfass. – Melbourne: MTP Press, 1986. – 482 p.

354. Doctor, B.R. Loss of plasma membrane strucyural support in ATP-depleted renal epithelia / B.R. Doctor, D.V. Zhelev, L.J. Mandel // *Am. J. Physiol.* – 1997. – V. 272. – P. C439-C449.

355. Dukor, P. Hypothesis: Bound C3 as the second signal for B cell activation / P. Dukor, H.U. Hartman // *Cell immunol.* – 1973. – V. 7. – P. 349.

356. Eskelinene, S. Microscopic observation and video recording of cellular response changes in environment / S. Eskelinene, W.T. Coakley // *J. of Microscopy.* – 1986. – V. 141, Pt. I. – P. 119-126.

357. Emerson, S.G. Purification fo fetal hematopoietic progenitors and demanstration of recombinant multipotential colony stimulating activity / S.G. Emerson, C.A. Sieff, E.A. Wang // *J. Clin. Invest.* – 1985. – V. 76. – P. 1286.

358. Eveloff, J.L. Activation of ion transport systems during volume regulation / J.L. Eveloff, D.G. Warnock // *Amer. J. Physiol.* – 1987. – V. 252. – P. F1-F10.

359. Feizi, T. Carbohydrate structures of glycoproteins and glycolipids as differentiations antigene, tumour-associated antigens and components of receptor systems / T. Feizi, R.A. Childs // *TIBS*. – 1985. – V. 10. – P. 24-29.
360. Feldman, M. Cell interactions in the immune response. IV. Comparison of the effects of antigen specific and allogenic thymus factors / M. Feldman, A. Basten // *J. exp. Med.* – 1972. – V. 136. – P. 722.
361. Feldman, M. Cell interactions in the immune response in vitro. VI. Mediation by T cell surface monomeric IgM / M. Feldman, R.E. Cone, J.J. Marchalonis // *Cell immunol.* – 1973. – V. 9. – P. 1.
362. Fettiplace, R. Water permeability of lipid membranes / R. Fettiplace, D.A. Haydon // *Physiol. Rev.* – 1980. – V. 60. – P. 510-550.
363. Fisher, J.W. Factors influencing renal and extrarenal erythropoietin production / J.W. Fisher, D.L. Roh, Samuels et al. – In: *The regulation of erythrohjesis and haemoglobin synthesis*. – Praha, 1971. – P. 23-40.
364. Flatman, P.W. The magnesium dependence of sodium-mediated sodium-potassium and sodium-sodium exchange in intact human red cells / P.W. Flatman, V.L. Lew // *J. Physiol. (Lond.)*. – 1981. – V. 315. – P. 421.
365. Fletcher, L. Ustem cell policy comes under fire / L. Fletcher // *Nature Biotechnology*. – 2001. – V. 19, № 10. – P. 893-894.
366. Forni, G. Supressor macrophages in tumor-bearing mice. Inconsistency between in vivo and vitro finding / G. Forni, M. Giovarelli, L. Lanfancone // *Int. J. Cancer*. – 1982. – V. 29. – P. 695-698.
367. Fowler, V.M. Erythrocyte membrane tropomyosin: purification and properties / V.M. Fowler, V. Bennett // *J. Biol. Chem.* – 1984. – V. 259. – P. 5978-5989.
368. Fowler, V.M. Identification and purification of a novel Mr 43000 tropomysion binding protein from human erythrocyte membranes / V.M. Fowler // *J. Biol. Chem.* – 1987. – V. 262. – P. 12792-12800.
369. François, D.L. Plsieurs vagues de cellules souches se succèdent-elles pendant le développement hématopoitiïque ? / D.L. François // *Cr. Seahces Soc. Biol.* – 1995. – V. 189, № 4. – P. 591-596.
370. Freeman, M.B. Respiratory properties of blood of chickens / M.B. Freeman, B.H. Misson // *Comp. Biochem Physiol.* – 1970. – V. 33. – P. 763-772.
371. Freedman, A.M. Erythrocytes from magnesium-deficient hamsters dislay an enhanced susceptibility to oxidative stress / A.M. Freedman, T. Mark, R.E. Stafford et al. // *Am. J. Pysiol. Cell Phisiol.* – 1992. – V. 262. – P. 1371.
372. Fujii, J. Role of membrane lipids and proteins in discocytes / J. Fujii // *Acta. Biol. Med. Yerm.* – 1981. – V. 40. – P. 361-367.
373. Gardner, K. A new erythrocyte membrane-associated protein with calmodulin binding activity: identification and purification / K. Gardner, V. Bennett // *J. Biol. Chem.* – 1986. – V. 261. – P. 1339-1348.
374. Garner, M.M. Macromolecular crowding and confinement in cell exposed to hypertonicity / M.M. Garner, M.B. Burg // *Am. J. Physiol.* – 1994. – V. 266, № 35. – P. C877-C892.

375. Godet, J. L'évolution des hémoglobines au cours du développement du poulet. Les hémoglobines du poussin et l'adulte // J. Godet // C.R. Acad. Sci., 1967. – D. 264. – P. 2570-2572.
376. Gordon, A.S. Haemopoietine // A.S. Gordon // Pysiol. Rev., 1959. – V. 39. – P. 1-40.
377. Groudine, M. Lineage-dependent transcription of globin genes // M. Groudine, H. Holtzer, K. Scherrer, A. Therwath // Cell. – 1974. – V. 3. – P. 243-247.
378. Groth, T. The molecular function of hemoglobin as reflected in ligand binding data analysis of data on erythrocytes // T. Groth, C.H. de Verdier, L. Garby // Acta biol. med. germ. – 1977. – Bd. 36, H 314. – S. 523-529.
379. Haest, C.W.M. Interactions between membrane skeleton proteins and erythrocyte membrane // C.W.M. Haest // Biochim. Biophys. Act. – 1982. – V. 694. – P. 331-352.
380. Halversen, S. Erythropoietin production in nephrectomized and hypophysectomized animals // S. Halversen, B.L. Roh, J.W. Fisher // Amer. J. Physiol. – 1968. – V. 215. – P. 349-352.
381. Halversen, S. Hypothalamic influences on erythropoiesis. Effect of hypothalamic stimulation on plasma erythropoietic activity and renal blood flow in intact and hypophysectomized rabbits // S. Halversen R.P. White, B.L. Roh // Regulation of erythropoiesis. 1-st int. conf. on hematopoiesis. – Milano, 1972. – P. 247-257.
382. Hansen, J.C. An elastic network model based on the structure of the red blood cell membrane skeleton // J.C. Hansen, R. Skalak, S. Chien, A. Hoger // Biophys. – 1996. – V. 70. – P. 461-467.
383. Hemoglobin spectrin complexes: interference with spectrin tetramer assembly as a mechanism for compartmentalization of band 3 complexes // C.R. Kiefer, J.F. Trainor, J.B. Mckenney, C.R. Valeri, K.M. Snyder // Blood. – 1995. – V. 86. – P. 366-371.
384. Hernandez, J.A. Modeling cell volume regulation in nonexcitable cell: the role of the Na<sup>+</sup> pump and of cotransport systems // J.A. Hernandez, C. Ernesto // Amer. J. Physiol. – 1998. – V. 275. – P. C1076-C1080.
385. Hilario, S. The effect of adrenaline upon human erythrocyte properties. Sex-related differences? // S. Hilario, C. Saldanha, J. Martins-Suva // Biorheology. – 1999. – V.36, № 1-2. – P. 124.
386. Hill, R.B. Heart circulation and blood cells // R.B. Hill, J.B. Welsh // Physiology of Mollusca // R.B. Hill, Eds K.M. Wilbur, C.M. Jonge. – New York; London: Acad. Press, 1966. – V. 11. – P. 126-174.
387. Increased lipid peroxidation in type II poorly controlled diabetic patients // E. Altomaze, G. Vendemiale, D. Chicco et al. // Diabete Metab. – 1992. – T. 18. – P. 264-271.
388. Influence of Mg<sup>2+</sup>-deficiency on the membrane elastic shear modulus and geometric factors of rat blood cells // W. Meir, W. Kucera, D. Lerche et al. // Biomed. Biochim. Acta. – 1985. – V. 44. – P. 55.

389. In vitro influence of zinc and magnesium on the deformability of red blood cell artificially hardened by heating / C. Dupuy-Fons, J.F. Brun, C. Mallart et al. // *Biol. Tract. Elem. Res.* – 1995. – V.47. – P. 247.

390. Jacobs-Helber, S.M. Tumor necrosis factor-alpha expressed constitutively in erythroid cells or induced by erythropoietin has negative and stimulatory roles in normal erythropoiesis and erythrocytopenia / S.M. Jacobs-Helber, K.H. Roh, D. Bailey // *Blood.* – 2003. – V. 101, № 2. – P. 524-531.

391. Johnson, P. Venous resistance and red cell aggregation / P. Johnson, M. Cabel, A. Popel // *Abstr. Microcirculatory Soc. 41<sup>st</sup> Annu. Conf. Anaheim California, 1994.* – P. 82.

392. Kaplan, J.G. Lymphocyte transformation and calcium transport / J.G. Kaplan, M.R. Quastel // *Immune recognition* / ed. S. Rosenthal. – N.Y.: Acad. Press. – 1975. – P. 391-403.

393. Kennedy, W.L. Regulation of red blood cell production by erythropoietin normal mouse marrow in vitro / W.L. Kennedy, E.L. Alpen, J.F. Garcia // *Exp. Hemat.* – 1986. – V. 8. – P. 1114-1122.

394. Kinne, R. The role of organic osmolytes in osmoregulation: from bacteria to mammals / R. Kinne // *J. Exp. Zool.* – 1993. – V. 265. – P. 346-355.

395. Khodadad, J.K. Remodeling the shape of the skeleton in the intact red cell / J.K. Khodadad, R.E. Waugh, J.L. Podolski, R. Josephs, T.L. Stack // *Biophys. S.* – 1996. – V. 70. – P. 1036-1044.

396. Knowles, D.W. Exogenous ligand binding changes the intrinsic elasticity of connectivity of the spectrin cytoskeleton in red cells / D.W. Knowles, N. Mohandas, E.A. Evans, J.A. Chasis // *Biorheology.* – 1999. – V. 36, № 1/2. – P. 125.

397. Laughlin, M.R. The regulatory role for magnesium in glycolytic flux of the human erythrocyte / M.R. Laughlin, D. Thompson // *J. Biol. Chem.* – 1996. – V. 271, № 46. – P. 28977.

398. Lefkowitz, R.J. Identification and regulation of alpha- and beta-adrenergic receptors / R.J. Lefkowitz // *Fed. Proc.* – 1978. – V. 37. – P. 123.

399. Lim, B. Simulation of red blood cell aggregation in shear flow / B. Lim, P. Bascom, R. Cobbold // *Biorheology.* – 1997. – V. 34, № 6. – P. 423.

400. Lipsky, P.E. Macrophage-lymphocyte interaction. II. Antigen-mediated physical interactions between immune guinea pig lymphocyte node lymphocytes and syngenic macrophages / P.E. Lipsky, A.S. Rosenthal // *J. Exp. Med.* – 1975. – V. 141. – P. 138.

401. Lipovae, V. Hematology in diabetes mellitus / V. Lipovae // *Diab. Yroat.* – 1982. – V. 11. – P. 27-34.

402. Lipunova, E.A. General adaptation reaction of erythrocytic blood population of birds at photodesynchronization / E.A. Lipunova // *European J. of Natural History.* – 2007. – № 2. – P. 69-70.

403. Lombardo, C.R. Calmodulin modulates protein 4.1 binding to human erythrocyte membranes / C.R. Lombardo, P.S. Zow // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1994. – V. 1196, № 2. – P. 139-144.

404. Macario, A.J.L. Immunological unresponsiveness associated with erythropoiesis in genetic low responder mice / A.J.L. Macario, E. Macario, R. Miller // *Clin. Immunol. Immunopathol.* – 1980. – V. 17 №3. – P. 537-546.
405. Maldonado, E.N. Major plasma lipid and fatty acid in HDL mammals / E.N. Maldonado, E.B. Casanave, M.I. Avelano // *Comp. Biochem. Physiol.* – 2002. – V. 132A. – P. 297-303.
406. Manwell, C. Survey of hemoglobins in wild birds / C. Manwell, C.M. Baker // *Proc. Nat. Acad. Sci.* – 1963. – V. 49. – P. 496-504.
407. Manwell, C. Ontogeny of haemoglobin in the chicken / C. Manwell, C.M.A. Baker, T.W. Betz // *J. Embryol. Exp. Morphol.* – V. 16. – P. 65-70.
408. Mc Lough, A.M. On the structure of erythrocyte spectrin in partially exposed membrane skeleton / A.M. Mc Lough, R. Josephs // *Proc. Nat. Acad. Sci. Usa.* – 1990. – V. 87, № 13. – P. 5208-5212.
409. Membrane skeleton – bilayer interaction is not the major determinant of membrane phospholipid asymmetry in human erythrocytes / S.R.P. Yndi, A. Kumar, V. Bhakuni et al. // *Biochim. Biophys. Acta: Biomembranes.* – 1990. – V. 1023, № 1. – P. 63-72.
410. Milis, J.W. The cell cytoskeleton possible role in volume control / J.W. Milis // *Curr. Top. Membr. Transp.* – 1987. – V. 30. – P. 75-101.
411. Mirand, E.A. Extra-renal and renal control of erythropoietin production / E.A. Mirand // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* – 1968. – V. 149, art. 1. – P. 94-106.
412. Mirand, E.A. Mechanism of estrogen action in erythropoiesis / E.A. Mirand, A.S. Gordon // *Endocrinology.* – 1966. – V. 78. – P. 325-329.
413. Mische, S. Erythrocyte adducin: a calmodulin-regulated actin-binding protein that stimulated spectrin-actin-binding / S. Mische, M. Mooseker, S. Morrow // *J. Cell. Biol.* – 1987. – V. 105. – P. 2837-2849.
414. Meyn, A. Blutgruppenforschung bei Tieren / A. Meyn // *Naturwiss. Rundschau.* – 1961. – Bd. 14, № 4. – S. 136-140.
415. Mongin, A.A. Mechanisms of cell volume regulation and possible of the cell volume sensor / A.A. Mongin, S.N. Orlov // *Patophysiology.* – 2006. – V. 8. – P. 77-88.
416. Munt, J.V. Autoxidative glycosylation and possible involvement of peroxides and free radicals in LDL modification by glucose / J.V. Munt, C. Smith, S. Wolff // *Diabetes.* – 1990. – V. 39. – P. 1420-1424.
417. Myocardial membrane cholesterol: effects of ischemia / H. Venter, S. Genage, T. Mouton, B. Huisamen et al. // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 1991. – V. 23. – P. 1271-1286.
418. Pagnier, J. Le «Sang» artificiel / J. Pagnier, C. Poyart // *Recherche.* – 1993. – № 254. – P. 640-649.
419. Pastan, I.H. Role of cyclic nucleotides in growth control / I.H. Pastan, G.S. Jonson, W.B. Anderson // *Annu. Rev. Biochem.* – 1975. – V. 44. – P. 491-522.
420. Presti, F.T. Cholesterol-phospholipid interactions in membranes. 2. Stoichiometry and molecular packing of cholesterol-rich domains / F.T. Presti, R.J. Pace, S.I. Chan // *Biochemistry.* – 1982. – V. 21. – P. 3831-3835.



421. Prunesco, P. Natural and experimental phagocytosis by erythrocytes in Amfibiāns / P. Prunesco // *Naturte New Biology*. – 1971. – S. 143-144.
422. Randiamampita, C. Nitredipine-induced inhibition of calcium influx in a human T-cell clone: role of cell depolarization / C. Randiamampita, G. Bithmuth, A. Trautman // *Cell Calcium*. – 1991. – V. 12. – P. 313-323.
423. Resnitzky, P. Biophysical characteristics of erythrocytes durings acute myocardial infartion and venous thrombosis. Trombos // P. Resnitzky, A. Yaart, D. Dannon // *Diathes Haemorrh. (Stuttd)*. – 1972. – P. 28.
424. Rudolph, S.A. Effects of catecholamine and prostaglandin E on cyclic AMP, cation fluxes and protein phosphorylation in the frog erythrocyte / S.A. Rudolph, P. Greengard // *J. Bio. Chem.* – 1980. – V. 255. – P. 8534-8540.
425. Sager, G. Effect of plasma on human erythrocyte beta-adrenergic receptors / G. Sager, S. Jacobsen // *Biochem. Pharmacol.* – 1985. – V. 343. – P. 767.
426. Samaja, M. The separate effects of  $H^+$  and 2, 3 –DPG on the oxygen equilibrium curve of human blood / M. Samaja, R.M. Winslow // *Brit. J. Haematol.* – 1979. – V. 41, № 3. – P. 373-381.
427. Schalekamp, M. Reevaluation of the multiple haemoglobins during the ontogenesis of the chicken. Electrofphoretic and chromatographic characterization, polipeptide composition and immunochemical properties / M. Schalekamp, D. Van Goor, R. Slingerland // *J. Embriol. Exp. Morphol.* – 1972. – V. 28. – P. 681-713.
428. Sein, D. Functional different subpopulation of mouse macrophages recognized monoclonal antibodies / D. Sein, M.L. Lohmann-Matthes // *Eur. J. Immunol.* – 1982. – V. 12, №2. – P. 134-140.
429. Seiler, S.V. Inhibitors of inositol triphosphhate-induced  $Ca^{2+}$ -relese from isolated platelet membrane vesicles / S.V. Seiler, A.J. Arnold, H.C. Stanton // *Biochem. Pharmacol.* – 1987. – V. 36. – P. 3331-3337.
430. Seidiler, N.W.  $Ca^{2+}$  transport activities of inisede-aut vesicles prepared from density-separated erythrocytes from rat and human / N.W. Seidiler, N.I. Swislocki // *Molec. Cell. Biochem.* – 1991. – V. 105. – P. 159-169.
431. Sennicov, S.V. Cytokine-synthesizing activity of erythroid cells / S.V. Sennikov, L.V. Eremina, T.V. Injelevskaya // *Rus. J. Immunol.* – 2001. – V. 6, № 2. – P. 193-202.
432. Simons, J.A. Embryonice development of hemoglobin in chicken / J. A. Simons // *J. Exp. Zool.* – 1966. – V. 162. – P. 219-230.
433. Smith, J.E. Erythrocyte membrane: structure, function and pathophysiology / J.E. Smith // *Vet. Pathol.* – 1987. – V. 24, № 6. – P. 471-476.
434. Steck, T.L. The organization of proteins in the human red blood cell membrane / T.L. Steck // *J. Cell. Biol.* – 1974. V. 62. – P. 1-19.
435. Stoltz, J.F. Red blood cell aggregation: measurements and clinical applications / J.F. Stoltz, M. Donner // *Turkish J. Med. Sci.* – 1991. – V. 15. – P. 26-39.

436. Stossel, T.P. The machinery of blood cell movements / T.P. Stossel // Blood. – 1994. – V. 82, № 2. – P. 367-379.

437. Strange, K. Cellular and molecular physiology of volum-sensitive anion channels / K. Strange, F. Emma, P.S. Jackson // Am. J. Physiol. – 1996. – V. 270, № 1. – P. 711-730.

438. Sundquist, J. The  $\alpha_1$ -adrenergic receptor in human erythrocyte membranes mediates interaction in vitro of epinephrine and thyroid hormone at the membrane  $\text{Ca}^{2+}$ -ATP-ase / J. Sundquist, S. Bias, J. Hogan et al. // Cellular Signalling. – 1992. – V. 4. – P. 795.

439. Taussing, M.J. Antigenic competition / M.J. Taussing // Curs Topic Microbiol and Immunol. – 1973. – V. 60. – P. 127-174.

440. Tsai, S. Stromal cell associated erythropoiesis / S. Tsai, C.A. Sief // Blood. – 1986. – V. 67. – P. 1418.

441. Vazecka, Z. Vanadate changes  $\text{Ca}^{2+}$  influx pathway properties in human red blood cells / Z. Vazecka, E. Peterojova, J. Sevcik // Jen. Physiol. Biophys. – 1997. – V. 16, № 4. – P. 359-372.

442. Waugh, R.E. Physical measurements of bilayer-skeletal separation forces / R.E. Waugh, R.G. Bauserman // Ann. Biomed. Eng. – 1995. – V. 23. – P. 308-321.

443. Weiss, L.P. The structure of hematopoietic tissue/ L.P. Weiss // Blood: Principles and Practice of Hematology /Ed. R.I. Handin. S. E. Lux, T.P. Stossel. – Philadelphia: J.B. Lippincott, 1995. – P. 155-169.

444. Williams, H. Chemical structure of the red blood cell / H. Williams, B. Erickson, J. Macy // Quart. Rev. Biol. – 1941. – V. 16. – P. 80-89.

445. Winslow, R.M. Hemoglobin – based red cell substitutes / R.M. Winslow. – N.Y.: Jonsons Horkins University Press. – 1992. – 400 p.

446. White, J.G. Overview article: Biostructure of blood platelets / J.G. White, C.C. Clawson // Ultrastructural Pathology. – 1980. – V. 1. – P. 533-558.

447. Yeagle, P.L. Membranes of cells / P.L. Yeagle. – Academic Press. Inc. Orlando. Florida, 1987. – P.120-138.

448. Yataganas, X. Intranuclear haemoglobin in erythroblasts of  $\beta$ -thalassemia / X. Yataganas, G. Gahrton, B. Thorell //Blood. – 1974. – V. 43. – P. 243-250.

449. Zhang, A. Magnesium regulates intracellular free ionized calcium concentration and cell geometry in vascular smooth muscle cells / A. Zhang, T.P. Cheng, B.M. Altura // Biochim. Biophys. Acta. – 1992. – V. 1134. – P. 25.

## СОДЕРЖАНИЕ

Предисловие.....	3
Введение. <b>Функциональная система крови</b> .....	5
Глава 1. <b>Эволюция внутренней среды организма</b> .....	8
1.1. Классификация жидких сред и клеточного состава .....	9
1.2. Филогенез очагов гемопоэза у животных .....	12
Глава 2. <b>Гистофизиология системы крови</b> .....	18
2.1. Распределение, функции, плазма крови.....	18
2.2. Физико-химические свойства крови .....	21
2.3. Форменные элементы крови .....	26
2.3.1. Эритроциты .....	26
2.3.1.1. Количество и классификация .....	26
2.3.1.2. Структурная организация мембраны .....	34
2.3.1.3. Метаболизм эритроцита .....	44
2.3.1.4. Газотранспортная функция эритроцитов.....	57
2.3.2. Лейкоциты .....	76
2.3.2.1. Общие свойства .....	76
2.3.2.2. Гранулоциты .....	77
2.3.2.3. Агранулоциты .....	80
2.3.3. Тромбоциты.....	84
Глава 3. <b>Функциональная гематология</b> .....	87
3.1. Система гемостаза .....	87
3.1.1. Сосудисто-тромбоцитарный гемостаз.....	87
3.1.2. Процесс свертывания крови .....	88
3.1.2.1. Клеточные и плазменные факторы свертывания крови.....	88
3.1.2.2. Пути активации свертывания крови .....	91
3.1.3. Регуляция свертывания крови и фибринолиза.....	94
3.2. Группы крови человека.....	100
3.2.1. Система АВ0.....	101
3.2.2. Искусственные кровезаменители .....	104
3.2.3. Система резус .....	105
3.3. Иммуитет. Иммуногенез.....	108
3.3.1. Виды иммуитета.....	109
3.3.2. Факторы неспецифической резистентности .....	110
3.3.2.1. Система комплемента.....	111
3.3.2.2. Фагоцитоз.....	115
3.3.3. Специфический иммунный ответ.....	117
3.3.3.1. Этапы иммунного ответа.....	117
3.3.3.2. Клеточные кооперации, инициирующие иммунный ответ.....	128
3.3.3.3. Регуляция иммунного ответа .....	142
3.3.3.4. Медиаторы иммунного ответа .....	151
3.3.4. Эффекторные механизмы иммуитета .....	156
3.3.4.1. Аллергия. Развитие аллергической реакции .....	157
3.3.4.2. Анафилаксия – реакция гиперчувствительности немедленного типа.....	165

3.4. Реология крови.....	172
3.4.1. Роль реологии в клиническом исследовании крови .....	172
3.4.2. Методы гемореологического исследования .....	177
3.4.3. Агрегометрия и микрореология .....	182
3.4.4. Реология и электрические свойства клеток крови .....	187
3.5. Резистентность и реактивность клеток крови .....	190
3.5.1. Объем клеток и его регуляция .....	193
3.5.2. Резистентность клеток крови .....	197
3.5.2.1. Резистентность эритроцитов крови амфибий .....	201
3.5.2.2. Резистентность эритроцитов крови птиц .....	208
3.5.3. Реактивность клеток крови .....	222
3.5.3.1. Методы определения.....	222
3.5.3.2. Функциональная морфология эритроцитов крови лягушек в условиях блокады кальциевых каналов.....	224
3.5.3.3. Функциональный профиль эритроцитарной системы лягушек при блокаде $\beta$ -адренорецепторов .....	234
<b>Глава 4. Гемопоз</b> .....	<b>241</b>
4.1. Современная модель гемопоза .....	241
4.2. Эмбриональный гемопоз .....	245
4.3. Постэмбриональный гемопоз .....	252
4.3.1. Кроветворные клетки и их микроокружение .....	253
4.3.2. Эритропоз .....	256
4.3.3. Гранулоцитопоз.....	262
4.3.4. Лимфоцитопоз.....	266
4.3.5. Моноцитопоз .....	268
4.3.6. Тромбоцитопоз.....	270
4.4. Регуляция гемопоза.....	271
4.4.1. Основы регуляции кроветворения .....	272
4.4.2. Механизмы ауторегуляции эритрона .....	277
4.4.3. Роль эритропоэтинов в регуляции эритропоза .....	280
Список сокращений .....	290
Библиографический список.....	293

*Научное издание*

**Липунова** Елена Андреевна  
**Скоркина** Марина Юрьевна

**ФИЗИОЛОГИЯ КРОВИ**

Монографическое исследование

Редактор *З.М. Лычева*  
Компьютерная верстка *Н.А. Гапоненко*  
Корректор *З.М. Лычева*

Подписано в печать 07.12.2007. Формат 60×84/16.  
Гарнитура Times. Усл. п. л. 18,83. Тираж 300 экз. Заказ 490.  
Оригинал-макет подготовлен и тиражирован в издательстве  
Белгородского государственного университета  
308015 г. Белгород, ул. Победы, 85