

Агрегация эритроцитов

*Научно-исследовательский институт механики, Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова
e-mail: sokol@imec.msu.ru*

Реферат

Описан процесс агрегации-деагрегации эритроцитов — его проявления в норме и при патологии, а также способы его изучения. Проведено сопоставление агглютинации, патологической и нормальной агрегации эритроцитов. Обсуждаются классические представления о механизмах эритроцитарной агрегации и направления их развития. Отмечены факторы, способствующие изменению взаимодействия эритроцитов, и его изменчивость, связанная с видом животных, физиологическими и патологическими процессами. Допускается компенсаторный характер умеренного возрастания размера агрегатов; описан слайдж-феномен как проявление крайних случаев патологической агрегации эритроцитов. Приведены данные о функциональных последствиях агрегации-деагрегации эритроцитов, свидетельствующие в пользу необходимости дальнейшего углубленного изучения механизмов этого процесса и его учета при заболеваниях, сопровождающихся микроциркуляторными нарушениями.

Ключевые слова: агрегация эритроцитов, деагрегация эритроцитов, механизмы агрегации, видовая специфичность.

Sokolova I. A.

Erythrocyte aggregation

*Institute of Mechanics, M. V. Lomonosov Moscow State University
e-mail: sokol@imec.msu.ru*

Abstract

This review summarizes the available information on the process of erythrocyte aggregation-disaggregation including its manifestations in health and disease and methods of its investigations. A comparison of agglutination and pathological aggregation is realized. Discussed in this article are the classical concepts and modern ideas about mechanisms of erythrocyte aggregation. In addition, key determinants of the variability of erythrocyte aggregation in association with animal species, physiological and pathophysiological alterations are commented. It is assumed that a moderate increase in the size of erythrocyte aggregates can be interpreted as a compensatory reaction. The blood sludge, defined as a phenomenological expression of extreme case of erythrocyte hyperaggregation, is characterized. Functional consequences of erythrocyte aggregation are described. The data reveal that, in order to understand physiological and pathophysiological significance of erythrocyte aggregation and its mechanisms, further studies are needed.

Keywords: erythrocyte aggregation erythrocyte disaggregation, mechanisms of aggregation, species specificity.

Эритроциты как основной детерминант гемореологических свойств

Результативность работы системы кровообращения достигается благодаря сложным образом организованной регуловке кровотока на уровне микрососудов. Основным объектом регулирования являются сосуды, и на фоне данной ангиоархитектоники (геометрии течения) динамические изменения просвета микрососудов обеспечивают сравнительно быстрые изменения кровотока. Тем не менее, базовым детерминантом кровотока являются свойства самой крови, ее вязкость. Несмотря на то, что обычно оценивают относительно долговременные и общие изменения вязкости крови, возможны кратковременные и мобильные модификации гемореологических свойств. Функциональные последствия такого рода

изменений кажутся несравнимо меньшими, чем последствия изменения сосудистого диаметра [153]. Однако способность к активной регуляции диаметра по-разному выражена в разных группах сосудов, и с ее уменьшением регуляторная значимость других факторов увеличивается.

Эффективная регуляция сопряжена с динамическими процессами. Возможность быстрых изменений реологических свойств крови обеспечивается наличием эритроцитов — изменением их числа и их реологическими свойствами. Действительно, реологические свойства крови определяются реологическими свойствами отдельных ее компонентов и соотношением этих компонентов — плазмы, тромбо-

цитов, лейкоцитов и эритроцитов. Изменение вязкости плазмы связано в основном с изменением концентрации фибриногена, а также концентрации крупных глобулинов, хотя на нее могут воздействовать и другие субстанции, например, альбумин, липопротеины [107, 164]. Обобщение гемореологических данных выявило возможность существования авторегуляторных механизмов, реализация которых способствует сохранению вязкости плазмы, как и крови в целом, на оптимальном уровне [164]. Тенденция к сохранению оптимального уровня вязкости плазмы крови проявляется даже в патологических случаях (например, при множественной миеломе, при макроглобулинемии Вальденстрема [164]) и, конечно, в норме (так, умеренная физическая нагрузка не оказывает существенного влияния на основные детерминанты вязкости плазмы [9]). В физиологических пределах вязкость плазмы считается не зависящей от скорости течения, т. е. в каждом данном случае она может быть охарактеризована одним числом (от 1,1 до 1,3 мПас при 37 °C) [6, 107]. Для потока крови в микрососудах более существенным показателем является толщина пристеночного слоя плазмы, тесно связанная с осевой миграцией эритроцитов [155]. Плазма крови занимает около половины ее объема. Однако затраты на передвижение сравнимых объемов жидкости и твердых тел различны, в последнем случае увеличивается диссипация энергии. Объемная концентрация «твердых тел» — таких форменных элементов, как тромбоциты и лейкоциты, в крови весьма незначительна (~1 %). В связи с этим, пока не активирован процесс свертывания, мелкими тромбоцитами можно пренебречь. Малочисленные лейкоциты не значимы для гемореологических свойств в целом, однако эти крупные клетки способны определять локальные условия течения крови по микрососудам, особенно в активированном состоянии [168, 169]. Эритроциты сложно в полном смысле назвать твердыми телами: в реологическом отношении их можно охарактеризовать как жидкие капли, заключенные в твердые деформируемые оболочки. Тем не менее, вязкость их внутреннего содержимого в 3–4 раза больше вязкости плазмы [73], и эритроциты занимают существенную часть объема крови (~45 %). От их концентрации и реологических свойств зависит вязкость крови в целом. В условиях сравнимости просвета микрососудов и характерных размеров форменных элементов крови последнюю уже нельзя представлять сплошной средой. Кровоток при этом можно рассматривать, в основном, как движение деформируемых эритроцитов, способных к агрегации. Динамичность и обратимость процесса агрегации эритроцитов привлекают к нему особое внимание.

Агрегация эритроцитов представляет собой обратимое взаимодействие клеток, приводящее к их временному совместному передвижению. Этот комплексный процесс характеризуется скоростью образования агрегатов, их размером, морфологией и прочностью. Доступность оценки тех или иных параметров определяется использованной методикой исследования.

Способы исследования агрегации эритроцитов

В общем изучение процесса агрегации-деагрегации эритроцитов может сводиться к наблюдению за отдельными клетками, что затрудняет характеристику свойств данной крови в целом, и к получению усредненных оценок свойств всей суспензии, что затрудняет характеристику индивидуальных вариаций. При прямых наблюдениях сложно проследить за динамикой процесса агрегации-деагрегации, которую оценивают, но преимущественно косвенными методами. Подавляющее большинство способов исследования основано на изучении проб крови *in vitro*.

В ранних работах, в отсутствие специального оборудования, для усредненной оценки агрегационных свойств эритроцитов использовали вискозиметры [132]. Методика основана на связанном с агрегацией эритроцитов нарастании эффективной («кажущейся») вязкости крови по мере уменьшения скорости (напряжения) сдвига [5]. Способ оценки агрегационных свойств эритроцитов на основании данных о вязкости крови при низких скоростях сдвига является весьма косвенным, зависящим от геометрии прибора и метода математической обработки, и он позволяет произвести лишь прикидочную оценку.

Прикидочную усредненную оценку получают также давно используемым в клинике методом измерения скорости оседания эритроцитов (СОЭ) [202, 205]. СОЭ традиционно измеряют в качестве полуэмпирического неспецифического показателя активности заболевания [46]. Его применение для оценки агрегируемости эритроцитов привлекательно своей относительной простотой и основано на том, что под действием гравитационных сил более крупные частицы оседают быстрее, чем более мелкие. Однако на СОЭ влияет множество факторов, в том числе изменяющихся в процессе оседания эритроцитов неконтролируемым образом [186]. Это совместно с трудностями количественной оценки вклада каждого из факторов уменьшает ценность СОЭ как показателя агрегируемости клеток, несмотря на усовершенствования методики и официальное включение ее в список стандартных способов исследования агрегации эритроцитов [42].

В современных исследованиях кинетику процессов агрегации эритроцитов и их деагрегации в сдвиговом потоке изучают, направляя на суспензию клеток непрерывное электромагнитное излучение. По мере агрегации эритроцитов уменьшается количество центров рассеяния, увеличивается пространство между ними. Соответственно, интенсивность отраженного излучения падает, а интенсивность проходящего излучения возрастает. При деагрегации регистрируются противоположно направленные процессы [76, 118]. В качестве излучения используют ультразвуковое [69], но чаще — лазерное, для которого вариант с регистрацией интенсивности обратного светорассеяния, по сравнению с проходящим светом, лучше поддается теоретическому описанию [77, 114, 186]. Сильной стороной данного методиче-

ского приема является возможность характеристики динамики процесса, причем не только агрегации, но и существенной в микроциркуляторном отношении дезагрегации. В результате, несмотря на косвенный и усредненный характер, метод проявил себя как весьма информативный не только в эксперименте, но и в клинической практике [20, 42, 69, 77].

Начиная со времен обнаружения агрегации эритроцитов [95], продолжается наблюдение за отдельными клетками под микроскопом [2, 10, 30, 65]. *In vitro* при этом используют как статичные образцы, так и проточные камеры, и, в зависимости от технических возможностей, применяют различные методы регистрации — от микрофотосъемки до компьютерного преобразования [63, 186]. Микроскопирование привлекает к себе внимание тем, что является прямым способом исследования, хотя, в основном, разбавленных суспензий эритроцитов. Оно дает информацию о морфологии и геометрических параметрах объединенной группы клеток, но характеристика динамики процесса затруднена. В случае статичных образцов практически нельзя судить о прочности эритроцитарных агрегатов. Оценка прочности соединения клеток на основании расстояния между соседними эритроцитами является слишком косвенной и в современном варианте [105] не учитывает все значимые факторы. Непосредственная оценка силы взаимодействия отдельных клеток в статичных образцах осуществляется путем механического разобщения эритроцитов с заданной силой с помощью микроманипуляторов [90]. В настоящее время для этого можно использовать оптические пинцеты.

Метод оптического пинцета основан на том, что луч лазера жестко фокусируется, и в этой области имеется существенная неоднородность в распределении электромагнитного излучения световой волны. Микрочастица удерживается там, где выполняется закон сохранения входного и выходного импульсов — в области «перетяжки» лазерного луча [34]. В применении к агрегирующим эритроцитам метод использовался считанное число раз [58, 108]. С его помощью получают информацию о взвешенных в плазме крови индивидуальных эритроцитах, свойства которых не изменены ни действием микроманипуляторов, ни обычным для работы под микроскопом взаимодействием с подложкой. Такого рода исследования на настоящий момент являются пилотными.

Совмещение прозрачного ротационного вискозиметра-агрегометра и микроскопа, осуществленное Н. Schmid-Schönbein [172], позволяет визуализировать процесс агрегации, а также дезагрегации эритроцитов в условиях вискозиметрического течения и сопоставить оценку сил, действующих на суспензию эритроцитов, с состоянием последней. Аналогичные данные получают, наблюдая за поведением эритроцитов в проточной микрокамере [21, 63]. В последнем случае исследуют процесс агрегации-деагрегации эритроцитов при течении, близком к имеющемуся в сосудистой системе.

Исследование *in vivo*, прижизненное биомикроскопирование доступных для визуализации со-

судистых регионов привлекает внимание тем, что это уникальная возможность оценить образование агрегатов в реальных сосудах [109, 111]. Подобные оценки доступны и в клинике, например, при тестировании сосудистой системы глаза. Начиная с ранних клинических гемореологических исследований, известно, что в этом регионе легко выявляются патологические агрегаты эритроцитов [116], однако пока сосудистую систему глаза пациентов рассматривают преимущественно как объект, позволяющий оценить состояние сосудов и некоторые иммунологические показатели [97, 165]. В условиях, приближающихся к нормальным, идентификация агрегатов эритроцитов практически осуществима лишь в микрососудах с относительно небольшими гематокритом и скоростями потока и более доступна в эксперименте на животных. Одним из последних достижений в этой области является наблюдение за динамикой образования агрегатов индивидуальными эритроцитами *in situ*, в венах [109, 111]. Экспериментальные биомикроскопические данные являются наиболее значимым источником информации о последствиях и физиологическом значении процесса агрегации эритроцитов [49, 52, 110]. Обобщенная оценка агрегационной потенции крови *in vivo* — вопрос будущего, так как в реальном потоке крови имеется слишком много значимых переменных. Очевидно, что применяемое при этом тестовое воздействие должно достаточно глубоко проникать в организм. Наиболее перспективным представляется подход с использованием ультразвукового излучения, находящийся на стадии разработки [166].

В целом все гемореологические оценки, в том числе агрегационных свойств эритроцитов, существенно зависят от прецизионности используемых приборов и методов математического анализа. Относительно последнего в качестве примера можно отметить, что результатом значимых для агрегации эритроцитов оценок скоростей сдвига и напряжений сдвига являются эффективные («кажущиеся») параметры — те, которые были бы свойственны потоку крови, если бы это был поток идеализированной жидкости, текущий в полном соответствии с используемым математическим описанием, но с гидродинамическими показателями, тождественными измеряемым в эксперименте. Имеются также сложности при сопоставлении данных разных исследователей, связанные, в том числе, с различными методическими приемами. Так, можно получить несовпадающие характеристики кинетики процесса агрегации-деагрегации эритроцитов в одном образце крови при регистрации обратного светорассеяния и проходящего света [43]. Кроме того, в рамках одной и той же методики могут использоваться различные показатели. Примером являются разные способы обработки данных регистрации обратного светорассеяния. Исходная система [77] ныне развита Н. Н. Фирсовым и предлагается в качестве стандартной [117]. Вопросы стандартизации гемореологической информации в последнее время во многом решены [42], и это чрезвычайно важно, в частности, в практическом, клиническом отношении.

Агрегация эритроцитов: феноменология и область реализации

Агрегация, взаимодействие двух эритроцитов может протекать как «наполнение» одной клетки на другую или как «схлопывание» их поверхностей после частичного контакта. Эксперименты по образованию парных агрегатов эритроцитов, сближенных с помощью оптических пинцетов, свидетельствуют в пользу того, что наличие «точечного» контакта между клетками стимулирует последующее их полное взаимодействие даже в отсутствие внешних сил [108]. Вовлечение в процесс агрегации новых клеток приводит к формированию «монетных столбиков» («*gouleaux*»), являющихся структурной основой более сложных трехмерных образований, *in vitro* напоминающих сеть [82, 176]. В модельных условиях было показано, что динамика агрегации эритроцитов зависит от того, какая скорость сдвига предшествует началу процесса [156]. Зависимость динамики взаимодействия эритроцитов от предшествующих событий показана также *in vivo*. Так, в венах мышцы крысы образование эритроцитарных агрегатов, мигрирующих к оси сосуда быстрее, чем отдельные клетки, сопровождается изменением вероятности столкновения эритроцитов [112] и, следовательно, изменением динамики их взаимодействия. Время, требующееся для завершения процесса агрегации, оценивают подчас достаточно большими величинами, наблюдая образование агрегатов в пробе крови (методом микроскопирования) в течение ~200–300 с [74]. По данным вискозиметрических исследований, полупериод формирования агрегатов эритроцитов человека составляет 0,5–10 с [174]. В пользу регуляторной значимости агрегации эритроцитов свидетельствуют данные биомикроскопирования *m. spinotrapezius* крысы, согласно которым в венуле парный агрегат эритроцитов может сформироваться достаточно быстро, за 0,15–0,30 с [109].

Деагрегация нормальных эритроцитов происходит относительно легко в результате взаимного скольжения поверхностей клеток в противоположные стороны [58]. Эритроцитарные агрегаты разрушаются сдвиговым течением, и обратные отношения между размером агрегатов и напряжением (скоростью) сдвига показаны не только в модельных опытах, но также в экспериментах *in vivo* [52]. Согласно вискозиметрическим данным, напряжение сдвига, приводящее к полной деагрегации эритроцитов человека, в норме составляет ~0,3–0,5 Н/м² [173, 180]. Аналогичная оценка с использованием понятия скорости сдвига показывает, что ~2,5 с⁻¹ достаточно для разъединения большинства самых крупных агрегатов, а ~50–70 с⁻¹ — для полной деагрегации эритроцитов [20, 114, 170, 171]. В условиях приближенного к имеющемуся *in vivo* распределения напряжений сдвига — в микроканале, имитирующем микрососуд, некоторые агрегаты эритроцитов сохраняются и при эффективных пристеночных скоростях сдвига порядка 140 с⁻¹ [21]. Эффективное пристеночное напряжение сдвига, при котором в крови, текущей по микроканалу, отсутствуют агрегаты эритроцитов, может в 2 раза превышать эффективное напряжение сдвига, соот-

ветствующее полному разъединению эритроцитов при вискозиметрическом течении [180].

Сопоставление приведенных выше оценок с аналогичными характеристиками течения в реальных сосудах показывает, что существование агрегатов эритроцитов *in vivo* в норме возможно лишь в венозной части сосудистой системы. Агрегаты эритроцитов наблюдали в венах. В этой области, при просвете сосудов ~20 мкм, эффективные пристеночные скорости сдвига/напряжения сдвига составляют ~10 с⁻¹/~0,3 Н/м², а при просвете ~70 мкм, ~30 с⁻¹/~1 Н/м² [155]. Расчетные оценки позволяют допустить возможность существования агрегатов эритроцитов и в центральной области потока в крупных венах [180]. В области артериальных микрососудов эффективные пристеночные скорости сдвига/напряжения сдвига для артериол с просветом ~15 мкм составляют ~470 с⁻¹/~14 Н/м², а для артериол с просветом ~60 мкм, ~200 с⁻¹/~6 Н/м² [155], т. е. близ стенки сосудов агрегаты эритроцитов должны разъединяться. Однако отмечено, что профиль скоростей (распределение линейных скоростей течения по диаметру сосуда) нормального потока крови в артериолах с просветом менее ~60 мкм может иметь вид не обычной, а уплощенной параболы [141, 192]. В венах подобное уплощение профиля скоростей сопряжено с образованием агрегатов эритроцитов [49]. В области уплощения профиля скоростей, по сравнению с пристеночной областью, может уменьшаться не только скорость сдвига (в данном случае изменение линейной скорости вдоль диаметра сосуда на единицу длины этого диаметра), но и напряжение сдвига (произведение скорости сдвига на коэффициент вязкости). Для артериол разница в напряжениях сдвига может нивелироваться за счет относительно большей эффективной вязкости около оси потока по сравнению с пристеночной областью, где, при достаточном расстоянии между бифуркациями, формируется преимущественно плазматический слой [155]. Тем не менее, в принципе не исключено, что в некоторых областях около оси артериол напряжение сдвига не всегда превышает порогового значения, необходимого для разъединения клеток. При этом тяготение агрегатов эритроцитов к оси потока [50] может способствовать их сохранению благодаря пребыванию в зоне меньших напряжений сдвига. Косвенным свидетельством в пользу возможного существования агрегатов эритроцитов в артериолах в норме представляются результаты изучения *m. spinotrapezius* крысы [110]. Было показано, что после агрегации эритроцитов, вызванной декстраном-500, но не превышающей нормальных пределов, паттерн функционирующих (содержащих эритроциты) капилляров изменялся, а их плотность слегка уменьшалась. Эффект связан с перераспределением эритроцитов на артериолярных бифуркациях [110], т. е. может отражать, в том числе, наличие агрегатов эритроцитов на уровне артериол. Неравномерное распределение клеток крови в артериолах (диаметром ~30 мкм) зарегистрировали методом кино съемки. Е. Н. Vloch описывает его как

наличие «масс» клеток («не агрегатов»), различимых на фоне плазмы с меньшим содержанием клеток [53]. Эти «массы» действительно могут быть «не агрегатами», но могут быть агрегатами, хотя и непривычных очертаний, и даже агрегатами, имеющими разумное физиологическое предназначение, которое будет описано в соответствующем разделе. Тем не менее, в норме представление об образовании агрегатов эритроцитов в артериальных микрососудах является только гипотезой. Однако несомненно фактическое наличие агрегатов в артериолах при выраженной патологической агрегации эритроцитов [53]. В ранних гемореологических работах патологическую агрегацию эритроцитов приравнивали к агглютинации, и неопределенность в этом вопросе сохранилась до сих пор.

Агрегация и агглютинация эритроцитов

Структурирование крови, связанное с объединением клеток, можно наблюдать и при агрегации, и при агглютинации эритроцитов. Смещение данных понятий объясняется как историей изучения взаимодействия эритроцитов, так и объективно существующей близостью между некоторыми случаями патологической агрегации эритроцитов и их агглютинацией.

Способность эритроцитов передвигаться группой — «кластером, приликая друг к другу» — William Hewson описал еще в 1773 г. [95], хотя интерес к этому явлению возник лишь два века спустя. В основном он был связан с микроциркуляторными осложнениями, сопутствующими патологической агрегации. В результате агрегацию эритроцитов, часто именуемую агглютинацией, рассматривали, преимущественно как патологию, сопровождающуюся нарушением кровотока [115, 116]. Современный взгляд на то, что агрегация эритроцитов (в отличие от агглютинации) является исходно нормальным процессом, базируется на классических работах R. S. Fåhræus [82] и во многом сложился под влиянием исследований Н. Schmid-Schönbein. Последний акцентировал внимание на том, что в норме агрегация эритроцитов является, скорее, следствием действия сил потока крови, чем причиной его изменений и, тем более, нарушений [170]. Различия между агрегацией эритроцитов, реализующейся в норме, и их патологической агглютинацией очевидны. Менее очевидны различия между патологической агрегацией эритроцитов и их агглютинацией. Идеальные феноменологические критерии разделения этих двух понятий найти сложно. Внешние проявления отдельных случаев агглютинации и патологической агрегации могут быть сходными, однако в целом как агглютинации, так и патологической агрегации в большей мере свойственно свое, вполне определенное проявление каждого из перечисленных ниже критериев.

В общем различен внешний вид агглютинировавшихся и агрегировавшихся эритроцитов: в пробе крови в результате агглютинации образуются в основном аморфные скопления клеток, а в результате агрегации — в основном «монетные столбики» [120]. Тем не

менее, в некоторых патологических случаях агрегат может иметь вид аморфного образования, что, вероятно, связано как с композицией белков плазмы крови, так и со свойствами самих эритроцитов и, в частности, с модификацией их поверхностного заряда, а может быть, и гликокаликса [176]. Вероятно, аморфного вида агрегаты образуются в результате дополнительных «боковых» связей исходных «монетных столбиков» [176], хотя наблюдали и исходно неупорядоченное взаимодействие эритроцитов при патологии разного генеза [75]. В последнем случае в разных условиях (нормальная гравитация и микрогравитация) из одной пробы крови могли формироваться агрегаты разного вида (соответственно аморфного и в виде «монетных столбиков») [75].

Различие между агрегацией и агглютинацией эритроцитов по обратимости процесса можно охарактеризовать с нескольких сторон. Патологическая агрегация эритроцитов — в основном обратимый процесс, а термин «агглютинация» переводится как «склеивание». Тем не менее, прочность патологических агрегатов может весьма существенно превышать нормальные значения, хотя в условиях вискозиметрического течения (со скоростями сдвига до $\sim 270\text{c}^{-1}$) клетки, как правило, разъединяются потоком [20, 176]. В принципе, агглютинировавшиеся эритроциты тоже можно разъединить потоком. Необходимая для этого сила сильно зависит от концентрации молекул, провоцирующих взаимодействие. В эксперименте, при минимальной концентрации молекул, способствующих агглютинации эритроцитов, значения напряжения сдвига, требующегося для разобщения «слипшихся» клеток [190], могут быть сравнимы с теми, что необходимы для разъединения агрегата эритроцитов. В плане значимости разделения понятий «патологическая агрегация» и «агглютинация» эритроцитов большее значение имеют не биомеханические, а функциональные и биохимические аспекты обратимости обоих процессов.

В функциональном отношении процесс агрегации эритроцитов, пусть и патологической, в общем случае не предполагает полной потери эритроцитами возможности выполнять свое предназначение. Агглютинация эритроцитов и их разрушение являются проявлениями иммунологической реакции гиперчувствительности второго типа. В основе реакции агглютинации лежит связывание антител с антигенами эритроцитов. После этого антитела обретают способность связывать и активировать компонент C1 системы комплемента. В результате инициируются опосредованный Fc-рецепторами эритрофагоцитоз, их комплементзависимый лизис [8]. Искусственная агглютинация эритроцитов с помощью растительных лектинов тоже может сопровождаться разрушением клеток. Так, конканавалин А, который в ранней гемореологической литературе, а изредка и сейчас, упоминается в контексте «агрегации» эритроцитов, связывается с соответствующими областями клеток и способствует их агглютинации [89, 162]. Конканавалин А также является митогеном и может провоцировать цитотоксические реакции, сопровождающиеся деструкцией эритроцитов [71].

Маннансвязывающие лектины способны вызывать агглютинацию эритроцитов [62] и инициировать лектиновый путь активации системы комплемента [8]. В целом микроциркуляторные нарушения, сопровождающиеся агглютинацией эритроцитов, включают разрушение этих клеток. Последнее таит в себе опасность развития анемии, вазоспазма, тромбоза, а в случае повреждения сосудов — и патологии, обусловленной контактом внутреннего содержимого эритроцитов с окружающими сосуды тканями [134, 152, 185, 206].

Лизис эритроцитов априори не исключен и в некоторых случаях патологической агрегации эритроцитов. Так, иммуноглобулины класса G (IgG) могут способствовать агрегации эритроцитов [99], хотя в норме значимость этого процесса не является бесспорной [86]. IgG-антитела провоцируют разрушение клеток после присоединения к их поверхности [8]. Вместе с тем показано, что даже в патологических случаях эритроциты способны защищаться от IgG-зависимого разрушения, например, путем аккумуляции молекул IgG внутри клетки [57]. Начиная с классических гемореологических исследований, обсуждается также агрегация эритроцитов, провоцируемая другими антителами — иммуноглобулинами класса M (IgM) [176]. В плазме крови пентамерная молекула IgM не активирует систему комплемента. Взаимодействие антигенсвязывающих центров молекул IgM с антигенными эпитопами мембраны эритроцитов осуществляется благодаря многочисленным нековалентным связям (водородным мостикам, ван-дер-ваальсовым силам, электростатическому и гидрофобному взаимодействию) и возможно только при комплементарности взаимодействующих участков по конформации, распределению зарядов, гидрофобности, т. е. является высокоспецифичным. В результате соединения молекулы IgM с антигеном в ней происходят конформационные изменения, она приобретает крабовидную форму, при которой становятся доступными дополнительные участки связывания первого компонента системы комплемента, что позволяет эффективно инициировать классический путь активации системы комплемента в целом [8]. Тем не менее, с использованием реоскопа наблюдали процессы вызванной IgM-агрегации эритроцитов и их последующей дезагрегации в условиях вискозиметрического течения в отсутствие видимых изменений состояния клеток в течение опыта [176]. В принципе возможность лизиса эритроцитов в случае их IgM-опосредованного патологического взаимодействия исключить нельзя, однако клетки организма, как правило, не подвергаются аутоиммунному разрушению. Примером базовых защитных механизмов могут служить реакции, связанные с плазменными и мембранными белками — ингибиторами компонентов системы комплемента. Эритроциты человека защищены от аутоиммунных реакций, например, благодаря мембранным «фактору, ускоряющему распад» (и инактивирующему конвертазы системы комплемента; DAF; CD55), ингибитору мембраноатакующего комплекса (CD59) [184]. Иногда к защитным эритроцитарным молекулам относят

и так называемый рецептор комплемента I (CRI; CD35) [184], хотя эта функция не является для него основной [8]. Кроме того, можно предположить, что конфигурация молекулы IgM в случае ее связи с одной несущей антиген клеткой и в случае, когда она способствует агрегации двух эритроцитов, различна. Молекула IgM, способствующая связи двух эритроцитов, возможно, и не претерпевает крабовидного изменения конформации, необходимого для активации системы комплемента. Таким образом, ответ на вопрос о способе взаимодействия эритроцитов, спровоцированного IgM плазмы крови, следует искать в представлениях о механизмах агрегации.

Противопоставление механизмов агглютинации и агрегации эритроцитов основано на том, что в первом случае имеется специфическое взаимодействие способствующей агглютинации молекулы с рецептором эритроцита. Относительно агрегации эритроцитов общепринятым является представление о неспецифическом взаимодействии способствующих агрегации молекул и эритроцитов. Допускается также, что агрегация определяется не этим взаимодействием, а неравномерным распределением полимерных молекул в плазме крови. Так или иначе, различия в механизмах агрегации и агглютинации эритроцитов наглядно выявляются при разбавлении плазмы крови солевым раствором. В этих условиях могут наблюдаться сохранные агглютинаты в отсутствие агрегатов эритроцитов [130].

Механизмы агрегации эритроцитов

Процесс агрегации-деагрегации эритроцитов реализуется вследствие изменения баланса сил, способствующих динамичному объединению и разъединению клеток [99]. Поддержанию суспензионной стабильности крови способствует электростатическое отталкивание между эритроцитами [82]. Оно связано с присущим эритроцитам отрицательным зарядом, в основном определяющимся карбоксильными группами ацетилированных производных нейраминных кислот (сиаловых кислот [70]; согласно данным об электрофоретической подвижности клеток, так называемый ζ -потенциал эритроцитов в среднем составляет $-15 - 16$ мВ [194]). Не исключено, что потенциально стабилизирующими свойствами обладает окружающий эритроциты гликокаликс благодаря пространственному, геометрическому фактору [144], однако радиус его влияния должен быть меньше, чем расстояние между клетками, задаваемое действием электростатических сил [143]. Разъединение эритроцитов происходит под действием сил потока крови, превышающих упомянутые ранее пороговые значения [170].

С другой стороны, гемодинамические и вискозиметрические исследования показали, что подпороговые (в плане разъединения клеток) силы (в норме — эффективные напряжения сдвига, не превышающие $\sim 0,01$ Н/м², или, в терминах эффективных скоростей сдвига, менее ~ 2 с⁻¹) являются существенным фактором, способствующим столкновению эритроцитов и их последующей агрегации [63, 66, 82, 170, 177]. Исследование формирования агрегатов эритроци-

тов в венах *m. spinotrapezius* крысы подтвердило, что этот процесс зависит от частоты столкновений клеток, но выявило также, что далеко не каждое столкновение приводит к формированию агрегата [111]. Механизмы удержания эритроцитов во взаимной близости остаются до конца не понятыми. Эритроциты, лишенные возможности агрегировать благодаря суспензированию в растворе электролитов, после остановки потока могут быстро объединяться, возможно, в силу явлений, сходных с известными в коллоидной химии энергетически выгодными процессами, сопряженными с уменьшением суммарной поверхности раздела фаз и поверхностного натяжения [22]. Расчеты свидетельствуют в пользу того, что даже в растворе электролитов «монетный столбик» является энергетически выгодной конструкцией, хотя в таких условиях «агрегат» эритроцитов весьма нестабилен [148]. Сложно сказать, насколько подобного рода явления значимы для процесса агрегации эритроцитов, но очевидно, что для образования настоящих, обладающих определенной прочностью агрегатов необходимы крупные белки плазмы крови.

К необходимым для агрегации эритроцитов макромолекулам плазмы крови относится, прежде всего, фибриноген. Действительно, давно известно, что в норме в сыворотке крови (без фибриногена) агрегация эритроцитов ничтожно мала [132]. Было показано, что при реализации процесса агрегации эритроцитов существенным фактором является не только большая молекулярная масса фибриногена, но и его волокноподобная конформация [125]. Общепринятым также является обсуждавшееся выше представление о том, что взаимодействие эритроцитов вызывают крупные иммуноглобулины, хотя в норме их вклад в агрегацию эритроцитов вряд ли существенен [117]. В контексте агрегации эритроцитов упоминаются и некоторые крупные белки острой фазы воспаления, отличные от фибриногена. Впрочем, экспериментальное варьирование их концентрации в пробах крови позволяет отводить этим белкам роль, скорее, модуляторов процесса патологического взаимодействия эритроцитов, чем инициаторов агрегации. Действительно, в аномально высоких концентрациях (85 кДа) гаптоглобин способен ускорить агрегацию эритроцитов, а С-реактивный белок (105–115 кДа) — увеличить прочность эритроцитарных агрегатов [201]. Данные не позволяют заключить, что эти белки значимы для агрегации эритроцитов человека в норме, хотя ставят вопрос об их возможном участии в процессе патологической агрегации [127].

Агрегацию эритроцитов *in vitro* производили и с помощью несвойственных плазме крови высокомолекулярных полимеров, принадлежащих к различным классам веществ и обладающих различными электростатическими свойствами. Пороговая степень их полимеризации, достаточная для реализации процесса агрегации клеток, также различается, но в любом случае агрегация эритроцитов возможна в присутствии именно высокомолекулярных соединений [32, 64]. Показано, что по мере увеличения молекулярной

массы полимера растет расстояние между клетками в агрегате и увеличивается выраженность агрегации — возможно, благодаря возрастанию суммарной силы связывания и из-за снижения электростатического отталкивания по мере удаления клеток друг от друга [64]. Увеличение концентрации полимеров, хотя лишь до определенного предела, также ведет к интенсификации агрегации эритроцитов [67, 128]. Совокупность экспериментальных данных, тем не менее, до сих пор не дает четкого ответа на основной вопрос о том, благодаря каким конкретным механизмам полимерные молекулы способствуют динамичному объединению клеток. Агрегацию эритроцитов принято объяснять неспецифическими процессами, сопряженными с образованием полимерных «мостиков» или «истощенного слоя».

Теория «истощенного слоя» связывает агрегацию эритроцитов с действием осмотических сил [80]. Представления, подобным образом объясняющие поведение частиц в растворе полимеров, известны давно [33], хотя привлекли к себе внимание лишь в конце прошлого века [102]. Данные коллоидной химии позволяют считать, что, благодаря конформационным особенностям полимерных молекул, близ частиц, находящихся в растворе полимера и не адсорбирующих его, может формироваться, так сказать, «истощенный слой», с меньшей, чем в основной массе раствора, концентрацией полимера. Молекулярная масса и концентрация полимера в растворе учитываются при расчете толщины «истощенного слоя» [198]. Для эритроцитов, окруженных гликокаликсом, исключить их взаимодействие с молекулами полимера нельзя. Этот фактор тоже учитывается и даже допускается, что включение молекул в гликокаликс может способствовать стабилизации суспензии эритроцитов. Однако считается, что после насыщения гликокаликса около эритроцитов также формируется «истощенный слой» [45]. Тогда в зазоре между сближенными эритроцитами концентрация полимера должна быть меньше, чем в плазме крови в целом. Подобное неравномерное распределение полимера может приводить к возникновению осмотического градиента, способствующего движению воды из зазора между клетками, дальнейшему сближению и агрегации эритроцитов [100, 143].

Авторы теории объясняют агрегацию действием осмотических (*in vivo* — онкотических) сил, обуславливаемых неравномерным распределением макромолекул (*in vivo* — высокомолекулярных белков). Известно, что среди белков плазмы крови основной вклад в онкотическое давление вносят многочисленные, но небольшие (~67 кДа) молекулы альбумина, в растворе которого эритроциты не агрегируют [126]. Неоднозначное влияние альбумина на агрегацию эритроцитов под действием фибриногена и иммуноглобулинов [126] выявляет необходимость учета происходящих при этом физико-химических взаимодействий, и альбумин трудно рассматривать просто как вещество, обеспечивающее онкотическое давление [164], на фоне которого реализуется осмотическое влияние макромолекул. В качестве экспериментального подтверждения наличия базового «ис-

тощенного слоя» представляют данные по изучению электрофоретической подвижности эритроцитов. Было показано, что подвижность суспензии клеток (0,01 %) в растворе декстрана-70, вязкость которого была больше вязкости плазмы крови на ~90 %, замедлялась по сравнению с подвижностью эритроцитов в плазме лишь на ~20 %, что может быть связано с наличием близ поверхности клеток «истощенного слоя» [144].

Теория «мостиков» объясняет агрегацию эритроцитов тем, что полимерные молекулы выступают в роли элементов, связывающих соседние клетки [59, 65]. Эти представления были развиты на основе данных изучения агрегатов эритроцитов, образовавшихся с помощью молекул полилизина. Взаимное расположение клеток и молекул полилизина позволило объяснить взаимодействие эритроцитов наличием межклеточных «мостиков» [104]. Экспериментальное подтверждение необходимости макромолекул плазмы крови для агрегации эритроцитов [132] и данные электронно-микроскопических исследований, выявивших увеличение расстояния между соседними эритроцитами с ростом молекулярной массы участвующего в их агрегации полимера, привели к формированию теории молекулярных «мостиков» [65]. В подтверждение теории можно привести эксперименты с использованием оптических пинцетов. Оказалось, что разъединяемые ими эритроциты могут продолжать взаимодействовать практически в одной «точке», причем с возросшей (по сравнению с наблюдавшейся во время взаимодействия большими поверхностями) силой [58, 108].

В рамках классической теории «мостиков» (как и в теории «истощенного слоя») подразумевается, что полимеры способствуют агрегации эритроцитов неспецифическим образом. Представление о неспецифическом характере связи молекулярных «мостиков» с эритроцитами не противоречит тому, что агрегации клеток способствуют полимеры разной природы, и тому, что процесс агрегации в норме достаточно легко обратим. Описание взаимодействия полимеров (в том числе отрицательно заряженного фибриногена) с поверхностью эритроцитов принято сводить к упоминанию водородных мостиков и вандер-ваальсовых сил [65]. В случае положительно заряженных полимеров (например, полилизина) в качестве дополнительных сил, связывающих полимер с отрицательно заряженными клетками, рассматривают электростатические силы [104]. Различия в процессе агрегации эритроцитов в присутствии положительно заряженных макромолекул и в естественных условиях пытались объяснить и тем, что разные реологически значимые макромолекулы связываются с разными областями на поверхности клеток [81].

Молекулы фибриногена способны адсорбироваться на поверхности эритроцита [138]. Единичные данные говорят о возможности преимущественного связывания фибриногена с поверхностными структурами основного анионного обменника, белка полосы 3 (band 3; anion exchanger 1; CD233). Согласно этим данным, блокатор анионного транспорта DIDS

(4,4'-диизотиоциано-2,2'-стильбен-дисульфоновая кислота) дозозависимым образом ингибирует агрегацию эритроцитов в пробе крови [81]. Известно, что в патологических случаях и при старении эритроцитов поверхностные структуры белка полосы 3 обретают способность связывать аутоантитела с последующей активацией системы комплемента и фагоцитоза [56]. Тем не менее, в норме с помощью DIDS можно заблокировать образование «монетных столбиков», не влияя на результаты серологического тестирования [145]. Не исключено, что в процессе агрегации эритроцитов некоторую роль играет связь С-терминалей аминокислот γ^2 -полипептидов молекулы фибриногена с клетками. В пользу этого свидетельствует возможность ингибирования агрегации эритроцитов, происходящей под действием одной из фракций фибриногена человека, с помощью соответствующего синтетического пептидного ингибитора [140]. Возможность специфического связывания фибриногена с поверхностью эритроцитарной мембраны была показана в работах D. Lominadze и W. Dean, изучавших тени эритроцитов крыс и интактные человеческие эритроциты, инкубированные с меченным фибриногеном [122]. Известный в качестве антагониста интегриновых рецепторов пептид Arg-Gly-Asp-Ser (RGDS) в концентрации порядка 2 мМ и выше ингибировал это связывание, а также исследованную в статических условиях агрегацию эритроцитов крыс, спровоцированную фибриногеном человека. Авторы предположили, что в добавление к неспецифическому взаимодействию фибриноген способен специфическим образом связываться с мембраной эритроцитов с помощью RGD-опосредованного механизма [122]. Возможно, рецепторы подобного типа экспрессируются на эритроцитах лишь при наличии некоторых (потокзависимых?) условий. Не исключено, что это происходит при гипертензии [123], а, может быть, и при тех патологических состояниях [178], которые сопровождаются проявлением аномальных адгезивных свойств эритроцитов. В любом случае на поверхности эритроцитов выявлены потенциально адгезивные структуры пока не ясного предназначения [72]. Таким образом, характер взаимодействия вызывающих агрегацию полимеров с поверхностью эритроцитов требует уточнения, как, впрочем, и механизмы агрегации эритроцитов в целом.

В настоящее время выбор объяснений процесса агрегации эритроцитов практически ограничен двумя вышеописанными теориями. Против каждой из них существуют возражения. Так, эритроциты «окутывали» относительно низкомолекулярным полиэтиленгликолем (ПЭГ, 35 кДа), который модифицировали (мПЭГ) для возможности ковалентной связи мПЭГ с поверхностью клетки. Считали, что в случае сопутствующего образования прочных межэритроцитарных мостиков агрегированность преинкубированных эритроцитов как в плазме крови, так и в растворе ПЭГ должна увеличиться. Результат был противоположным. Отбросив возможности того, что молекулы мПЭГ занимают и блокируют все области клеток, необходимые для реализации агрегации, или/и что молекулы мПЭГ связываются

обоими концами не с двумя, а с одной и той же клеткой, авторы пришли к отрицанию «теории мостиков» [31]. С другой стороны, при агрегации эритроцитов с помощью декстранов исследовали зависимость порогового значения напряжения сдвига, необходимого для разъединения парного агрегата, от ионной силы раствора. Немонотонный характер этой зависимости не объяснялся с позиций теории «истощенного слоя», но определялся известными свойствами молекул декстранов, т. е. хорошо объяснялся теорией «мостиков» [158]. В целом же исследование агрегации эритроцитов с последующим сопоставлением экспериментальных и расчетных данных показывает, что как сил, определяемых «мостиками», так и осмотических сил может быть достаточно для обеспечения регистрируемых феноменов [64, 99, 143, 144, 176, 212]. Выбрать одну из двух теорий не удалось и математическими методами [35, 68]. Не исключено, что процесс агрегации, особенно патологической, определяется несколькими механизмами. Тогда описанные выше примеры трансформации морфологии агрегатов эритроцитов в космосе [75] и отмечаемые иногда различия в морфологии агрегатов в норме и при патологии [176] можно объяснить не изменением вклада разных детерминантов в пределах одного и того же механизма, а «смещением акцента» в выборе основного пути развития реакции.

Совмещению теорий «мостиков» и «истощенного слоя» мешает явное противоречие между ними: согласно первой теории, молекулы полимера должны быть сосредоточены в зазоре между соседними эритроцитами, а согласно второй, полимера в зазоре, напротив, должно быть меньше, чем вне агрегата. Разрешить это противоречие можно, вводя фактор времени и представляя, что осмотические силы сближают эритроциты на расстояние, достаточное для реализующегося в финале образования «мостиков» [58]. Тем не менее, характерные размеры «истощенного слоя» [143] для фибриногена могут быть меньше длины предполагаемого «мостика» (согласно электронно-микроскопическим данным, расстояние между соседними эритроцитами в сложившемся агрегате для полимера со сравнимой с фибриногеном молекулярной массой, декстрана-300, составляет ~30 нм [64], а длина молекулы самого фибриногена (340 кДа) — 45–46 нм [200]). При характерных размерах «мостиков», превышающих характерные размеры «истощенного слоя», реализация сценария с первоначальным действием осмотических сил и последующим образованием «мостиков», естественно, затрудняется. Противоречие между двумя теориями можно преодолевать с использованием не временного, а пространственного фактора. В агрегатах эритроцитов, предварительно обработанных для получения электронно-микроскопических фотографий, проявлялось уплощение взаимодействующих клеток, потеря ими двояковогнутой формы [64]. Однако в модельном исследовании реологического поведения эритроцитов в потоке было показано, что при небольших силах взаимодействия клеток эритроциты в агрегате могут иметь двояковогнутую форму [211].

В опытах по изучению образования и разбивки

парных агрегатов эритроцитов с использованием оптических пинцетов тоже было обнаружено, что экспериментально выявленный характер зависимости силы взаимодействия клеток от площади их перекрытия воспроизводится расчетным путем тогда, когда эритроциты представляются не в виде дисков, а в виде колец [108]. Таким образом, в агрегате эритроциты могут сохранять подобие свойственной клеткам в покое двояковогнутой формы. В этом случае их расположенные по окружности «валики» сближены сильнее, чем центральные «вдавленные» области. Пространство между центральными областями дискоцитов (с максимальным характерным размером ~1 мкм) может быть достаточным для присутствия там полимера, несмотря на «истощение» — уменьшение его концентрации непосредственно близ поверхности клеток. В итоге, не исключено одновременное действие осмотического градиента на периферии, в области сближенных «валиков» эритроцитов, и образование «мостиков» молекулами полимера из центральной области.

В настоящее время неясность механизмов агрегации эритроцитов стимулирует поиск не только подтверждений каждой из теорий или компромиссов между ними, но и новых решений. Так, проведенное R. Ben-Ami et al. исследование выраженности агрегации эритроцитов пациентов в зависимости от концентрации иммуноглобулина, фибриногена и альбумина выявило возможность увеличения агрегированности клеток лишь на фоне одновременного присутствия всех трех белков в нормальных и более высоких концентрациях. Это позволило авторам выдвинуть гипотезу о том, что агрегация эритроцитов происходит в результате действия сложных мультибелковых комплексов, возможно, формирующих межклеточный матрикс, скрепляющий клетки [47]. В свете этих данных результаты межвидового обследования, выявившие корреляцию между выраженностью агрегации эритроцитов и содержанием в плазме крови глобулинов (а не фибриногена; [146]), могут рассматриваться как косвенное свидетельство в пользу значимой проагрегантной роли глобулинов.

Новый взгляд на проблему агрегации эритроцитов складывается в результате поиска внутриклеточных сигнальных механизмов, сопряженных с взаимодействием клеток. Эритроциты окружает большое количество биологически активных веществ. Выявлено воздействие многих из них — катехоламинов, ацетилхолина, кининов, простаглицлина, тромбоксана, гистамина, серотонина, свободных жирных кислот и т. д. — на агрегацию эритроцитов [18, 131, 133, 161]. Имеются аргументы в пользу того, что действие биологически активных соединений опосредуется стимуляцией/ингибированием внутриэритроцитарных сигнальных механизмов. Так, E. Friederichs et al. было показано, что увеличение внутриклеточной концентрации ионов кальция (с использованием ионофора A23187) может существенно увеличить агрегированность эритроцитов. Авторы предположили, что это происходит в результате кальцийзависимого изменения свойств эритроцитарных рецепторов, задействованных в реализации процесса агрегации

клеток [85]. В работах А. В. Муравьева и соавт. было обнаружено, что повышение уровня катехоламинов в плазме крови сопряжено с усилением агрегации эритроцитов, связанным с активацией эритроцитарных α -адренорецепторов. Было найдено соответствие между степенью агрегированности эритроцитов и состоянием их аденилатциклазного, кальциевого сигнальных путей: на фоне активированной системы аденилатциклаза-цАМФ, а также уменьшения концентрации ионов кальция агрегируемость клеток была снижена, а эритроциты с большим содержанием ионов кальция агрегировали сильнее [2, 10, 18]. С помощью ионов кальция удалось заставить агрегировать даже эритроциты тех животных (коров), у которых они практически не проявляют агрегационных свойств [139].

Недостаточность схематизированных представлений выявляется при анализе как механизмов действия факторов-модуляторов, так и базовых механизмов процесса агрегации эритроцитов. В подтверждение этого можно привести следующие данные. Выраженность агрегации эритроцитов у многих видов животных, в отличие от аналогичного процесса у человека, не коррелирует с концентрацией фибриногена в плазме крови [146, 203]. Результаты оценки роли альбумина противоречивы [47, 126]. Разные протеолитические энзимы, уменьшающие заряд эритроцитов и увеличивающие агрегацию, стимулированную декстранами, неоднозначно влияют на агрегацию, вызванную действием фибриногена [161]. Показано также, что стимулирование агрегации в смеси эритроцитов разных видов животных сопровождается преимущественно не меж-, а внутривидовым взаимодействием клеток [84]. Таким образом, хотя на настоящем этапе трудно оценить роль эритроцитов — их поверхностных рецепторов и внутриклеточных сигнальных механизмов — в модуляции процесса агрегации и, тем более, в самом этом процессе, очевидно, что классические представления требуют уточнения и расширения.

Значимые для агрегации клеток факторы могут представлять собой необходимые элементы этого процесса или быть его модуляторами. По своей природе они могут быть биофизическими и биохимическими. Их можно также условно разделить на «внешние» по отношению к эритроцитам и связанные со свойствами самих клеток. Разнообразие значимых факторов определяет вариабельность проявлений процесса агрегации эритроцитов.

Изменчивость процесса агрегации эритроцитов

Способность к агрегации выражена не одинаково у разных эритроцитов одной пробы крови [58], у эритроцитов разного «возраста» [161]. В среднем процесс агрегации-деагрегации эритроцитов различен у разных индивидуумов и на разных этапах жизни данного индивидуума, в норме и при патологии, у разных видов животных [161].

Из внеэритроцитарных факторов, определяющих изменчивость процесса агрегации, основное внимание уделяют содержанию в крови фибриногена,

а также глобулинов, что объясняется ключевым проагрегантным действием макромолекул плазмы крови и, в некоторой степени, общеизвестной ролью фибриногена в процессе свертывания крови, а иммуноглобулинов — в реализации защитных реакций. Разница в уровне реологически значимых белков наблюдается не только при сравнении нормы и патологии [107], но также в норме, при разном физиологическом состоянии, изменение которого спровоцировано специальным образом (например, курсом физических тренировок [9]), или происходит просто в течение жизни. Так, у новорожденных отмечено неполное развитие системы гемостаза и уменьшенная концентрация фибриногена [28], однако эмбриональная кровь, по сравнению с кровью взрослых людей, содержит больший процент молекул фибриногена, у которых две α -цепи, обычные для 340-килодальтонной формы, заменены на α_E («extended»)-цепи, благодаря чему масса молекул возрастает до 420 кДа [91]. Концентрация реологически значимых белков различается и у животных разных видов. В некоторых случаях (например, у лошадей, свиней), так же как у человека, наиболее значимым параметром является концентрация фибриногена. Тем не менее, она коррелирует с выраженностью процесса агрегации эритроцитов не у всех видов животных [38, 203]. Межвидовые различия в выраженности процесса агрегации связывают, скорее, с уровнем не фибриногена, а глобулинов [94, 146]. Не исключено, что вклад в межвидовую изменчивость эритроцитарной агрегации могут вносить и отличные от фибриногена белки острой фазы воспаления [147]. Согласно некоторым исследованиям, для данного вида животных уровень плазменных белков является значимым фактором изменчивости процесса агрегации, если выраженность последней сравнима с имеющейся у людей или превышает ее, в то время как у животных, обладающих эритроцитами со слабыми агрегационными свойствами, увеличение концентрации плазменных белков не в состоянии потенцировать агрегацию эритроцитов [182].

Накоплено немало данных, выявляющих значимость агрегационных свойств самих эритроцитов. Так, межвидовые различия в процессе агрегации сохраняются после замены плазмы крови на стандартизированные солевые растворы, содержащие искусственные полимеры [161]. Более того, агрегация эритроцитов, внешне одинаковая в собственной плазме крови (например, для человека и ехидны), в стандартизированных растворах может становиться различной (менее выраженной у ехидны), демаскируя разницу в агрегационных свойствах эритроцитов [44]. Убедительным примером является также разница в агрегационной потенции клеток одной и той же пробы крови, более выраженная в случае старых эритроцитов, обладающих повышенной плотностью [161]. *In vivo*, при изучении *m. spinotrapezius* крысы, было обнаружено, что основная масса эритроцитарных агрегатов формируется на участке, не превышающем 30 мкм от входа клеток в венулу, а ниже по течению эффективность образования агрегатов уменьшается. Согласно данным опытам и модельным

ОБЗОРЫ

построениям, одной из причин этого уменьшения может быть пониженная агрегационная потенция оставшихся одиночными эритроцитов [111].

В качестве значимых характеристик, определяющих агрегационные свойства клеток, рассматривают не только биохимические свойства эритроцитарных мембран, но также геометрические и биомеханические показатели [203]. Так, методами реоскопического исследования и определения вязкости крови при низких скоростях сдвига было показано, что практически не агрегируют эритроциты, сморщенные и уплотненные в результате пребывания в гиперосмотической среде [171], и весьма незначительна агрегация жестких [179] оваловидных эритроцитов, свойственных представителям отряда мозолоногих, верблюдам [27]. Соответственно, противоположные качества — хорошую деформируемость клеток и возможность контактировать достаточными площадями — рассматривают как факторы, способствующие нормальному процессу агрегации эритроцитов. В подтверждение значимости первого фактора приводят не столько наблюдения, сделанные *in vivo*, сколько результаты исследования влияния искусственного изменения деформируемости клеток на их агрегируемость [161]. Данные такого рода получены как экспериментальным путем (например, в работе Т. М. Amin и J. A. Sirs, ухудшавших деформируемость эритроцитов у животных с разным ее исходным уровнем [27]), так и методом математического моделирования [199]. Что же касается площади возможного межэритроцитарного контакта, то, скорее всего, ограничения на нее накладываются не столько исходной формой клеток, сколько трудностями изменения этой формы. Примером может служить поведение эхиноцитов (клеток с шиповидными выпячиваниями мембраны). Трансформация дискоцитов в эхиноциты (и в стоматоциты, клетки со впячиванием мембраны) не рассматривается как проявление патологии [120] и осуществляется достаточно легко [191]. Эхиноциты, образовавшиеся в результате разных воздействий, могут характеризоваться разными реологическими свойствами [163], и эхиноцитоз может не только не препятствовать образованию агрегатов, но сопровождаться формированием агрегатов повышенной прочности [48]. Это связано с изменением физико-химических свойств поверхности эритроцитов. Последние являются существенным фактором различия всех фаз процесса агрегации клеток. Так, суспензионной стабильности эритроцитов упомянутых верблюдов, помимо отмеченных изменений их формы и деформационных свойств, может содействовать также электростатический фактор (связанный с увеличенным по сравнению с другими видами животных содержанием сиаловых кислот [79]). Не исключено, что на регулировку процесса агрегации (а, может быть, и на сам этот процесс) влияют специфические внутриклеточные особенности, характерные для эритроцитов верблюдов [54]. Специфические особенности показаны и для практически неагрегирующих эритроцитов овец и коров, у которых, например, выявлено несовершенство регуляции энергетического обмена — отсутствие 2,3-дифосфо-

глицератного шунта [1]. Однако в контексте агрегации эритроцитов основное внимание, естественно, отводят особенностям не клеток как таковых, а свойствам их поверхностей. Так, при рассмотрении разных видов животных, у которых по сравнению с человеком процесс агрегации эритроцитов выражен слабее или, напротив, сильнее, обнаружена разница в композиции фосфолипидов бислоя [183], в распределении углеводных групп на поверхности клеток, в содержании мембранных белков [38]. Изменчивость агрегационных свойств эритроцитов связывают также с толщиной и свойствами окружающих клетки слоев гликокаликса [7, 161].

В целом причины разной агрегируемости эритроцитов, как и вообще суспензионной стабильности крови, достаточно многообразны, и относительный вклад различных групп факторов в изменчивость процесса эритроцитарной агрегации остается неясным. На фоне неопределенности, свойственной проблеме механизмов агрегации эритроцитов, эти факторы можно, скорее, перечислить, чем классифицировать. Тем не менее, очевидно, что один из основных процессов, определяющих реологическое поведение крови при низких скоростях сдвига, — агрегация-деагрегация эритроцитов — характеризуется широкой изменчивостью, значимой как в практическом, так и в теоретическом отношении.

Одно из практических последствий разной агрегационной потенции крови заключается в возможном затруднении кровотока у особей с интенсивной агрегацией эритроцитов. В приложении к межвидовой изменчивости эта проблема может решаться с привлечением не только гемореологических механизмов, но и системных сосудистых реакций. Последние способствуют оптимизации вязкости крови, например, у обладающих интенсивной эритроцитарной агрегацией лошадей, которые в покое аккумулируют значительные объемы крови в селезенке со снижением гематокритного числа до 30–35 % [27]. Решение на уровне гемореологических показателей осуществлено, например, у африканских слонов, характеризующихся высокой концентрацией плазменных белков и выраженной эритроцитарной агрегацией, но увеличенной деформируемостью эритроцитов [204]. Вообще в норме, несмотря на различия в эффективной вязкости крови у разных видов животных [203], отмечена общая тенденция к поддержанию этого показателя на оптимальном уровне [164].

В теоретическом плане особый интерес представляет межвидовая изменчивость процесса агрегации эритроцитов. Ее изучение подчас имеет феноменологический характер, а сопутствующий биохимический анализ позволяет лишь приблизиться к пониманию причин этих различий, но любое исследование такого рода поднимает вопрос о том, почему некоторым животным агрегация эритроцитов нужна, а другим — нет. В связи с этим возникает второй, более общий вопрос: необходима ли вообще агрегация эритроцитов, если без нее можно обойтись?

Ответ на первый вопрос — о различной «востребованности» агрегации эритроцитов у разных видов животных — связан с определением признаков,

объединяющих особи с тем или иным уровнем выраженности процесса агрегации эритроцитов. Поиск этих признаков не является синекурой. Дополнительные сложности возникают в связи с тем, что ряды видов животных, построенные в зависимости от выраженности процесса агрегации их эритроцитов, не всегда полностью совпадают у разных исследователей. Различия в деталях легко объясняются не только различиями в выборках, состоянии животных и т. п., но также особенностями проведения гемореологического обследования и использованием разных показателей комплексного процесса агрегации-деагрегации эритроцитов (примером могут служить немного различающиеся межвидовые соотношения, которые можно построить на основании различных показателей, приводимых U. Windberger et al., [203]). В целом анализ агрегации эритроцитов (выполненный с использованием нескольких методов) не подтвердил возможной связи ее видовой изменчивости с разным положением животных в эволюционной систематике [7]. Наиболее перспективным оказалось решение, предложенное A. S. Popel et al. Авторы показали, что выраженность процесса агрегации эритроцитов увеличена у «атлетических» животных (например, лошадей) и снижена у представителей малоподвижных видов (например, коров) [154]. При подвижном образе жизни, в условиях резко меняющихся гемодинамических параметров, сложнее сохранять постоянство давления на уровне капилляров, и его стабилизации может способствовать процесс агрегации-деагрегации эритроцитов [51] (более подробное объяснение представлено ниже).

Второй вопрос — о необходимости агрегации эритроцитов вообще — конечно, является риторическим. Действительно, даже замкнутая система кровообращения, как и сами эритроциты, есть не у всех видов животных, но их преимущества очевидны. Высокий уровень подвижности требует адресной доставки большого количества кислорода. Заключение гемоглобина в специальную гладкую и хорошо деформируемую оболочку позволяет снизить сопротивление потоку и, таким образом, сочетать высокую кислородную емкость с минимизацией затрат на движение крови [4, 55]. Вопрос о необходимости агрегации эритроцитов также сводится к вопросу о физиологическом значении этого феномена.

Возможные последствия агрегации эритроцитов

Функциональная значимость агрегации эритроцитов наиболее очевидным образом проявляется в сопутствующих изменениях гемодинамического сопротивления, так как в соответствии с его величинами осуществляется основной процесс распределения и перераспределения потоков крови. Гемодинамические последствия агрегации эритроцитов могут быть неоднозначными на уровне артериол (и это, скорее, относится к характеристике патологической агрегации). В венозной же части сети микрососудов, где в норме и реализуется процесс агрегации эритроцитов, последний сопровождается однотипной реакцией — увеличением сопротивления кровотоку.

Для венул показана не только взаимосвязь агрегации эритроцитов и изменения гемодинамических параметров — рост гемодинамического сопротивления и затруднение кровотока при стимулировании агрегации эритроцитов и, наоборот, облегчение процесса агрегации при замедлении скорости течения [155]. Исследование сосудов *m. gastrocnemius lateralis* кошки (перфузируемых суспензией эритроцитов с нормальным гематокритом) выявило, что реципрокные отношения между скоростью кровотока и гемодинамическим сопротивлением реализуются в венах в основном именно за счет процесса агрегации-деагрегации эритроцитов, а не за счет сосудистых реакций [60]. Благодаря этому агрегация-деагрегация эритроцитов в посткапиллярных венах может являться важным звеном стабилизации капиллярного давления. Действительно, перепад давления можно представить как произведение объемной скорости потока на гидродинамическое сопротивление, т. е. для поддержания постоянства давления необходимо уменьшать сопротивление при росте скорости и увеличивать сопротивление при уменьшении скорости. Первое характерно для состояния физической активности, когда при возрастании перфузии тканей распадаются агрегаты эритроцитов. Второе свойственно состоянию покоя, когда на фоне уменьшения скорости кровотока агрегаты, наоборот, формируются. Такого рода реакции имеются и в посткапиллярных венах, в непосредственной близости к капиллярам. В результате процесс агрегации-деагрегации эритроцитов способствует относительному постоянству капиллярного давления и, следовательно, нормальному осуществлению обменной функции крови у физически активных видов животных [51].

В сетях микрососудов усиление эритроцитарной агрегации может сопровождаться уменьшением числа капилляров, содержащих эритроциты. Связанное с агрегацией эритроцитов увеличение неравномерности их пространственного распределения, скорее всего, незначительно в норме [110], при функционировании в относительно постоянных условиях. Однако даже в норме этот эффект может быть выражен сильнее в специфических случаях, например, у животных, приспособленных к нырянию. Действительно, оказалось, что такого рода животным свойственны не только широко известные особенности, способствующие улучшению доставки и перераспределения кислорода (например, возрастание содержания миоглобина, концентрации гемоглобина и относительного объема крови, способность к регуляции концентрации эритроцитов, брадикардия, вазоконстрикция). Исследование гемореологических свойств показало, что морские млекопитающие (например, тюлени и киты) характеризуются также существенной интенсификацией (по сравнению с человеком) как процесса агрегации в целом, так и агрегационных свойств самих эритроцитов [61]. M. Castellini et al. обнаружили, что у превосходных ныряльщиков — тюленей Уэдделла (Weddell) — увеличенная агрегируемость эритроцитов не является исходно данным свойством, а развивается (как и

ОБЗОРЫ

гематологические изменения) с формированием у детенышей способности к длительному нырянию. Интерпретировать эти данные, как справедливо отмечают авторы, довольно сложно [61]. Тем не менее, не исключено, что значительное возрастание агрегируемости эритроцитов не только помогает, при необходимости задерживать «излишки» клеток в селезенке, но также способствует возникающей благодаря сосудистым реакциям неравномерности распределения потока крови при нырянии — известному феномену централизации кровообращения с преимущественным снабжением жизненно важных органов и уменьшением кровотока в остальных областях.

Агрегация эритроцитов влияет не только на распределение клеток в сетях микрососудов, но также на их положение в пределах одного сосуда. Давно известно, что даже одиночные эритроциты в потоке крови стремятся занять центральное положение [155]. Осевая миграция агрегатов эритроцитов в венулах происходит быстрее, чем миграция одиночных клеток [50]. Ускоренной миграции агрегатов сопутствует более выраженное уменьшение концентрации эритроцитов близ стенки сосудов, увеличение так называемого пристеночного плазматического слоя. Этим объясняют подчас сопровождающее агрегацию эритроцитов снижение гемодинамического сопротивления в артериолах [181], влияние эритроцитарной агрегации на сосудистые потокзависимые реакции [40]. Однако в сети венул, характеризующейся относительно широкими и короткими отдельными фрагментами, из-за частых вливаний новых эритроцитов пристеночный слой трудно рассматривать как чисто плазматический [50]. Его вклад в суммарное сопротивление потоку незначителен, а связанные с его изменением сосудистые реакции в норме проблематичны. Для венул более существенным является само наличие агрегатов эритроцитов в центральной области потока. Экспериментально показано, что там сосредотачивается большее количество более крупных агрегатов [52]. В венулах они оттесняют к стенке сосудов лейкоциты, которые прежде, в артериолах, занимали в потоке центральное положение [149]. Протеолитические ферменты и активные формы кислорода, выделяемые активированными лейкоцитами, усиливают процесс агрегации эритроцитов [39], возможно, и в процессе осуществления повседневных защитных реакций. В этом случае активированные лейкоциты могут способствовать процессу зависящей от агрегации эритроцитов маргинации других лейкоцитов, находящихся ниже по течению. Гипотеза о реализации такого рода обратных связей в норме, конечно, нуждается в проверке, но основное положение о связанной с агрегацией эритроцитов маргинации лейкоцитов не вызывает сомнений. Действительно, оказалось, что даже умеренного возрастания степени агрегированности эритроцитов (вызванного повышением концентрации фибриногена и наблюдавшегося в посткапиллярных венулах брыжейки крысы) достаточно для значительного усиления маргинации лейкоцитов [150]. Было также обнаружено, что эритроцитарные

агрегаты с различными геометрическими параметрами в разной степени воздействуют на поперечное движение лейкоцитов. Процесс маргинации выражен незначительно при наличии в крови аморфных агрегатов эритроцитов с широкими и доступными для лейкоцитов просветами плазмы между ними. Оптимальными в этом плане оказались нормальные эритроцитарные агрегаты [150]. Таким образом, формирование «монетных столбиков» способствует маргинации лейкоцитов и, следовательно, их адгезии, являющейся необходимым элементом реализации защитных функций системы крови.

Эритроциты оттесняют к сосудистой стенке и мелкие тромбоциты, однако этот процесс реализуется не только при наличии эритроцитарных агрегатов [142]. Рассмотрение влияния эритроцитов на процесс тромбообразования, прежде всего, производится на основании того, что эритроциты составляют существенную часть тромба, формирующегося при низких напряжениях сдвига. Классические представления допускают лишь пассивную «поимку» эритроцитов в сеть фибрина. Тем не менее, показано, что эритроциты могут контактировать с тромбоцитами [29, 93]. Клинические данные, накопленные к настоящему времени, — сопряженность повышения агрегации эритроцитов, гематокрита с усилением тромбообразования; тромботические явления, сопровождающие заболевания с генетически обусловленной патологией эритроцитарных мембран (в том числе, на фоне нормальных классических компонентов системы гемостаза); интенсификация свертывания крови при лечении повышенной кровоточивости путем увеличения концентрации эритроцитов (в том числе на фоне нормальной или сниженной концентрации тромбоцитов); воздействие на эритроциты антитромботических препаратов — способствуют формированию представления об активном влиянии эритроцитов на систему гемостаза [29]. Возможные механизмы, позволяющие эритроцитам содействовать тромбообразованию, связывают с кислород- и рН-зависимым выделением ими АДФ, с кальцийзависимой экспрессией фосфатидилсерина на их поверхности, с увеличением их адгезивной потенции [29]. Хотя в присутствии эритроцитов отмечено усиление тромбообразования [151], у них выявлены и потенциальные антитромботические свойства, объясняемые, в частности, способностью эритроцитов выделять NO (уменьшающий ответ тромбоцитов на действие агонистов), а также экспрессировать энзимы разлагающих АДФ [29]. *In vitro* было показано, что, варьируя содержание эритроцитов в нормальных пределах, можно модулировать процесс коагуляции, причем на фоне лишь нормального состояния системы гемостаза [167]. Таким образом, основное внимание акцентируется на протромбогенных свойствах биоактивных субстанций и поверхности эритроцитов и на включении клеток в формирующийся тромб. При этом к процессу нормальной, обратимой агрегации эритроцитов в потоке косвенное отношение имеют лишь «адгезивные» потенции клеток. Клинические наблюдения выявляют сочетание повышенного тромбообразования с повышенной агрегируемостью

эритроцитов и с усилением их способности к контакту с другими клетками — патологическим прилипанием эритроцитов к сосудистому эндотелию [29]. Сопоставление обратимой агрегации эритроцитов в потоке и процесса перехода крови в неподвижное состояние, тромбообразование, открывает и другие возможности. Действительно, не исключено, что образование эритроцитарных агрегатов сопряжено с уменьшением маргинации тромбоцитов [142], а ослабление эритроцитарной агрегации сопровождается протромботической активацией сосудистого эндотелия [135, 136]. Вызываемое агрегацией эритроцитов изменение их влияния на систему гемостаза может опосредоваться разными процессами. При агрегации может происходить рассматриваемое ниже изменение эффективности освобождения эритроцитами биоактивных субстанций. Агрегация может вносить вклад в распределение напряжений близ стенки сосудов [136] и вообще в локальные условия течения крови [37]. Поведение эритроцитов в потоке может механически влиять на вероятность столкновения тромбоцитов между собой, с сосудистой стенкой [29, 142], а также на распространение вдоль стенки растущего тромба [137]. Однако в норме гемостатические последствия процесса агрегации-деагрегации эритроцитов остаются под вопросом и требуют специального изучения [142].

Агрегация эритроцитов может влиять и на сосудистые реакции, в том числе на потокзависимую вазодилатацию. Потокзависимая вазодилатация развивается в ответ на увеличение скорости течения или/и вязкости крови и стимулируется возрастанием касательных напряжений, действующих на стенку сосуда [83]. Теоретически агрегация эритроцитов может не только модулировать, но и вызывать эту реакцию. Потенциальным стимулом к расширению сосудов может быть связанное с агрегацией увеличение эффективной вязкости крови. Сопровождающее агрегацию эритроцитов уплощение профиля скоростей [49] также может (при прочих равных) способствовать увеличению градиента касательных напряжений близ стенки сосуда. С другой стороны, последнее вряд ли можно рассматривать как значимый фактор в условиях сопутствующего агрегации эритроцитов уменьшения средних значений скорости течения. Кроме того, возрастанию касательных напряжений непосредственно около стенки может противодействовать и относительно быстрая осевая миграция агрегатов эритроцитов [50], сопряженная со снижением эффективной вязкости в пристеночной области. Отдельные экспериментальные исследования говорят в пользу, скорее, анти-, чем провазодилаторного влияния агрегации. Так, было показано, что на фоне длительного возрастания агрегированности эритроцитов выраженность потокзависимой вазодилатации уменьшается [40]. Подавление агрегации эритроцитов (осуществленное, однако, в условиях, не исключавших не зависящего от этого процесса изменения пристеночных касательных напряжений — при изоводемической гемодилюции, произведенной с помощью коллоидного раствора), напротив, может сопровождаться активацией эндо-

телиальных клеток сосудов разных органов и тканей [136]. Экстраполяции подобных экспериментальных данных на реальную ситуацию мешает не только искусственность опытов, но также и то, что в венах, где реализуется обычная агрегация эритроцитов, связанные с ней изменения в пристеночном слое нивелируются частыми добавками клеток из боковых ветвей [50]. В целом вопрос о возможности и эффективности влияния агрегации эритроцитов на потокзависимые сосудистые реакции в норме остается открытым.

На сосудистые реакции может влиять и вызванная агрегацией эритроцитов модификация их способности к депонированию/освобождению вазоактивных субстанций. Среди такого рода биоактивных субстанций особое внимание привлекает оксид азота. NO может связываться с цистеином β -цепи гемоглобина эритроцитов (β -93 Cys) и в такой стабилизированной форме S-нитрозотиола (R-SNO) депонироваться и транспортироваться клеткой. Гипоксия способствует аллостерической трансформации гемоглобина, вызывающей освобождение NO, которое может приводить к вазодилатации. Не исключено также, что эритроциты аккумулируют NO в виде нитритов. Образовавшиеся в результате взаимодействия нитрита с гемоглобином F(II)NO соединения могут подвергаться последующей «биоактивации». Этому процессу приписывают, скорее, вазоконстрикторное действие, однако в ходе реоксигенации гемоглобин, содержащий Fe-NO, может трансформироваться в SNO-гемоглобин, что увеличивает пул нитрозотиолов и, таким образом, вазодилаторные потенциалы эритроцитов [25]. В эритроцитах также обнаружены ферменты, определяющие биодоступность NO. Не исключено, что NO-синтазы эритроцитов активируются при возрастании напряжения сдвига [196], хотя их каталитическая активность не является бесспорной [103]. Из эритроцитов человека давно выделены и соответствующие аргиназы [106]. Данные позволяют допустить, что не только внешний, но и синтезируемый самими эритроцитами NO влияет на их биомеханические свойства [197]. С другой стороны, биомеханические изменения — деформация эритроцитов — может способствовать высвобождению из клеток как NO [196], так и АТФ [159], способной стимулировать продукцию NO в сосудах [101]. Агрегат эритроцитов также подвержен деформациям, и характер деформаций данной клетки может различаться в случаях ее свободного состояния и при связи с другими клетками. Это, в свою очередь, может сказываться на функциональном состоянии эритроцита [124]. Между эритроцитами в свободном и взаимодействующем состояниях имеется и еще более очевидное различие: при агрегации клеток уменьшается площадь, доступная для обмена молекулами (например, NO и АТФ) между эритроцитами и «свободной» плазмой. Благодаря этому агрегация может сопровождаться снижением эффективности действия освобождаемых эритроцитами биоактивных субстанций. Косвенным подтверждением такой возможности является недавнее экспериментальное наблюдение, связавшее основной проагрегантный

ОБЗОРЫ

белок фибриноген и обмен NO в эритроцитах [26]. Было показано, что инкубация нормальных эритроцитов с разными (физиологическими) концентрациями фибриногена сопровождается уменьшением отдачи клетками NO. Авторы объяснили этот эффект изменением состояния белка полосы 3 в результате связывания его с фибриногеном [26].

Несмотря на отдельные экспериментальные данные и теоретические построения, вопрос о влиянии агрегации эритроцитов на сосудистые реакции в норме практически не исследован. Перспективность такого рода работ ограничивается тем, что сосудистый компонент регуляции гемодинамического сопротивления в венах играет не столь значительную роль, как на уровне артериол [60]. Пока не является общепризнанной и физиологическая значимость экзогенных влияний депонированных и особенно синтезированных эритроцитами биоактивных субстанций [25, 87]. Исследования, посвященные изменению функциональных возможностей эритроцитов в процессе агрегации, единичны, и их значение в настоящее время оценивается лишь на уровне гипотез. Тем не менее, приведенные данные представляют интерес в качестве свидетельства потенциальной способности крови изменять свои функциональные возможности благодаря процессу структурирования. Аналогичные свидетельства можно представить, рассматривая и основную функцию эритроцитов, перенос ими кислорода.

Достаточно давно известно, что агрегация эритроцитов сопровождается уменьшением оксигенации тканей [121]. При объяснении этого феномена обращали внимание в основном на связанное с агрегацией затруднение кровотока. Однако недавнее исследование суспензии эритроцитов, текущей с заданной скоростью по проницаемой для кислорода трубке, показало, что структурирование суспензии уменьшает суммарную отдачу кислорода. Авторы объясняли это связанным с агрегацией эритроцитов уменьшением эффективной обменной площади, уменьшением сдвиговых деформаций и, следовательно, перемешивания внутреннего содержимого клеток, а также сопутствующим увеличением толщины пристеночного плазматического слоя [193]. Спровоцированное агрегацией эритроцитов увеличение толщины пристеночного плазматического слоя существенно для кровотока не в венах, а в артериолах [155], что обостряет вопрос о реальной значимости описанного явления. Для ответа на него от нормы надо перейти к явлениям, граничащим с патологическим состоянием.

В артериолах агрегация эритроцитов отмечена лишь в случае патологического усиления этого процесса [53], хотя выше обсуждалась возможность аналогичного явления в норме. По своим функциям артериолы традиционно рассматривались преимущественно как «транспортные» сосуды, и одной из физиологических сенсаций прошлого века явилось обнаружение выхода из них значительного количества кислорода [78]. В связи с этим капиллярам стали отводить роль образований, которые в основном лишь демпфируют неравномерность в распределении

кислорода [98]. Однако недавно было показано, что такой подход, скорее всего, является результатом методических ошибок, сопровождавших развитие техники регистрации напряжения кислорода. Данные, приведенные в работе A. S. Golub и R. N. Pittman, позволяют вернуть капиллярам главенствующую роль в кислородоснабжении тканей [88]. С учетом всего этого образование агрегатов эритроцитов в артериолах может быть функционально выгодным. Действительно, вне сосудов кислород распространяется только диффузией, и его выход в ткани из близко расположенных источников — плотной сети микрососудов — уменьшает вероятность возникновения локальных зон гипоксии. В соответствии с приведенными выше данными об уменьшении отдачи кислорода при агрегации эритроцитов ([193]) интенсификация агрегации и появление агрегатов в артериолах может снижать потери газа в их менее плотной сети, способствуя эффективному транспорту кислорода в более плотную сеть капилляров. Вообще в сосудистой системе кислород транспортируется в связанном с гемоглобином состоянии, т. е. эффективность его доставки определяется легкостью передвижения эритроцитов. Вместе с тем показано, что специальное стимулирование агрегации эритроцитов может снижать сопротивление кровотоку на уровне артериол [39, 155]. Таким образом, наличие агрегатов эритроцитов в артериолах может облегчать доставку кислорода к капиллярным сетям, хотя остается вопрос о разъединении таких агрегатов на уровне капилляров. Заведующий лабораторией биомеханики А. А. Шахназаров обратил внимание на то, что доставка к капиллярной сети совокупности клеток — их агрегатов, увеличивает неравномерность снабжения капилляров эритроцитами. Чередование эпизодов большего и меньшего притока эритроцитов может оказывать благоприятное действие, подобное известному влиянию импульсной гипоксической или ишемической тренировки [11, 14]. Не исключено также, что агрегация эритроцитов сопровождается более равномерным распределением тромбоцитов по просвету сосуда, т. е. является одним из факторов, предохраняющих от нежелательного тромбообразования [142]. Кроме того, благодаря стимуляции маргинации лейкоцитов [150], усиленное образование «монетных столбиков» может интенсифицировать защитные реакции. Все это позволяет усомниться в общепринятом представлении об усиленной агрегации эритроцитов исключительно как о деструктивном процессе.

Известно, что любой патологический процесс, помимо деструктивной, имеет и компенсаторную компоненту. Методом регистрации обратного светорассеяния на пробах крови больных с неактивной формой системной красной волчанки нами были получены первичные данные, свидетельствующие о различии в динамике развития заболевания: положительной — на фоне ускоренного образования укрупненных агрегатов эритроцитов практически нормальной прочности и отрицательной — для пациентов с аномально прочными агрегатами эритроцитов [17]. Вероятно, последствия усиления агрегации

эритроцитов зависят и от степени интенсификации этого процесса, и от того, какие из его параметров затронуты. Формирование агрегатов эритроцитов повышенной прочности, существенные гемореологические нарушения являются универсальной основой для развития микроциркуляторной патологии.

Патологическая агрегация эритроцитов

Клиницисты и экспериментаторы, наблюдая за некоторыми характеристиками эритроцитарной агрегации, в отдельных случаях отмечают ее аномальное ослабление [92, 157]. Вместе с тем известно, что различные параметры, характеризующие комплексный процесс агрегации-деагрегации клеток, при заболевании могут изменяться в разной степени, вплоть до «разнонаправленных» реакций. Так, при серповидно-клеточной анемии (в условиях стандартизированного гематокрита) была показана возможность уменьшения скорости и интенсивности агрегации одновременно с существенным увеличением прочности эритроцитарных агрегатов [195]. Для основной массы патологических состояний, сопровождающихся гемореологическими нарушениями, типичной является «гиперагрегация» эритроцитов. Патологическая агрегация эритроцитов с ускоренным образованием агрегатов увеличенного размера и прочности выявлена достаточно давно [39, 176] и является одним из факторов, определяющих так называемый синдром повышенной вязкости (крови).

Синдром повышенной вязкости и, в частности, патологическая агрегация эритроцитов выявлены в случае самых разных заболеваний — и при сравнительно редких гематологических болезнях [23], и при миелопролиферативной патологии [24], и при весьма распространенных заболеваниях разного генеза, примерами которых могут служить артериальная гипертензия, сахарный диабет, инсульт, инфаркт, гломерулонефрит [3, 15, 20, 119, 186, 209], причем этот список продолжает расширяться [16, 127, 160]. Таким образом, синдром повышенной вязкости крови и патологическую агрегацию эритроцитов можно рассматривать как типовой патологический процесс.

Синдром повышенной вязкости первоначально связывали с увеличением вязкости плазмы крови, сопряженным с возрастанием концентрации, а также с изменением композиции и свойств ее крупных белков [189]. Однако реологические свойства плазмы, как известно, являются далеко не единственным детерминантом, определяющим обмен импульсами между слоями текущей крови, т. е. ее вязкость. С развитием экспериментальных и клинических исследований к числу причин развития синдрома повышенной вязкости добавили увеличение числа форменных элементов крови (преимущественно эритроцитов) и изменение биомеханических свойств эритроцитов — уменьшение их деформируемости, а также интенсификацию процесса эритроцитарной агрегации [187]. При этом синдром повышенной вязкости стали рассматривать, как комплексное явление, и не только в связи с комплексным характером нарушений реологических свойств крови (ее плазмы и

форменных элементов как единого целого), но также связывая собственно повышение вязкости крови с сопутствующими гемодинамическими, микроциркуляторными изменениями [187, 188]. На фоне других этиологических факторов, определяющих синдром повышенной вязкости, патологическая агрегация эритроцитов может вносить столь значимый вклад в сопутствующие микроциркуляторные нарушения [20], что Н. Н. Фирсов предложил переименовать синдром повышенной вязкости крови в синдром гиперагрегации эритроцитов.

Исследование динамики процесса патологической агрегации эритроцитов *in vitro*, как правило, выявляет увеличение параметров, характеризующих скорость и выраженность агрегации [19]. В результате могут формироваться не только привычные «монетные столбики», но и относительно аморфные образования [75, 176]. Весьма существенным показателем, во многом определяющим последствия патологической агрегации, является увеличенная прочность эритроцитарных агрегатов [187], присущая образованиям разных размеров [19, 176]. Кроме того, в тяжелых патологических случаях, *in vitro*, в условиях возрастающего напряжения сдвига отмечена не только ожидаемая дезагрегация, но и парадоксальная агрегация клеток [15, 20].

Механизмы патологической агрегации эритроцитов считаются подобными тем, которые определяют образование агрегатов в норме. Тем не менее, при патологии отмечают не только увеличение концентрации реологически значимых белков плазмы крови, но также изменение их композиции и свойств, что может сказываться на процессе взаимодействия эритроцитов. Ранее обсуждался вопрос об агрегации эритроцитов под действием иммуноглобулинов. Упомянулась также возможность усложнения механизмов взаимодействия клеток при аномальном возрастании концентрации гаптоглобина и С-реактивного белка. Последние случаи не противоречат классическим представлениям о неспецифическом взаимодействии полимерных молекул и клеток. Однако известно, что ускорение и усиление агрегации эритроцитов происходит и в присутствии большого количества (4,4г/л и более) другого белка острой фазы воспаления, церулоплазмينا (132 кДа) [201]. Для церулоплазмينا показана возможность специфического взаимодействия с эритроцитами [13, 36]. Известно, что, помимо рецепторов к церулоплазмину, эритроциты обладают рядом молекул с потенциально адгезивными свойствами [72]. Сопровождающие патологию изменения эритроцитарной мембраны и реологически значимых плазменных белков, потенциальная возможность структурирования крови в результате как неспецифического, так и специфического взаимодействия белков плазмы крови с эритроцитами затрудняют разделение процессов агглютинации и патологической агрегации эритроцитов и открывают возможность модификации механизмов агрегации в патологических случаях.

Последствия патологической агрегации эритроцитов исходно проявляются в нарушениях на микроциркуляторном уровне. Тем не менее, аномально

ОБЗОРЫ

увеличенная эритроцитарная агрегация не всегда является синонимом возрастания эффективной вязкости крови и гемодинамических нарушений. Действительно, сопутствующие ей ускорение формирования пристеночного слоя плазмы и скольжение группы эритроцитов как единого целого могут способствовать снижению энергетических потерь и даже сопровождаться уменьшением гемодинамического сопротивления на уровне артериол, а также отдельных органов и тканей [155]. Кроме того *in vivo* продемонстрирована гемодинамическая эффективность противодействия, оказываемого гемореологическим нарушениям сосудами [207]. Тем не менее, при патологии компенсаторный потенциал сети сосудов может снижаться, например, в результате склеротических явлений [129], дисфункции эндотелия [12]. Обнаружено также, что длительное увеличение агрегированности эритроцитов сопровождается хроническим уменьшением экспрессии NO-синтазы в эндотелиальных клетках. Таким образом, сама интенсификация агрегации эритроцитов может приводить к уменьшению выраженности компенсаторных сосудорасширительных реакций [40]. В целом гемодинамические последствия патологической агрегации эритроцитов не являются однозначными и во многом зависят от сохранности компенсаторных процессов и от степени гемореологических нарушений.

В эксперименте интенсификация агрегации эритроцитов, как правило, достигается введением возрастающих концентраций высокомолекулярных соединений, что само по себе может способствовать обычно наблюдаемому увеличению затрудненности кровотока на уровне микрососудов [96]. Недавно благодаря уникальному методу объединения эритроцитов с помощью ковалентно связывающегося с ними полимера (Pluronic F-98), т. е. в отсутствие влияния на вязкость плазмы, продемонстрировали, что по мере интенсификации взаимодействия клеток сопротивление кровотоку в сосудистом бассейне задней части тела морской свинки сначала увеличивается, потом уменьшается, затем опять возрастает, т. е. в сети сосудов зависимость гемодинамического сопротивления от степени агрегированности эритроцитов может иметь немонотонный характер [207]. Использование аналогичной методики объединения эритроцитов и четкий контроль позволили О. К. Baskurt et al. показать, что однократной изоволемической замены ~30 % эритроцитов крыс на клетки, «сшитые» с помощью Pluronic F-98, достаточно для увеличения системного артериального давления, регистрируемого и через 4 дня после операции. У крыс уменьшалась также экспрессия эндотелиальной NO-синтазы [40]. Это, совместно с известным фактом хронического повышения артериального давления в ответ на уменьшение синтеза NO [210], позволило авторам объяснить возрастание давления у крыс подавлением синтеза NO сосудами и снижением вазодилататорного потенциала в связи с сопутствующим агрегации эритроцитов уменьшением пристеночного напряжения сдвига. В данном случае, в отсутствие уменьшения перфузионного давления, снижение

напряжения сдвига на стенке артериол могло быть результатом сопряженного с осевой миграцией агрегатов уменьшения эффективной вязкости крови в пристеночной области. Локальные изменения, связанные с перераспределением гидродинамической нагрузки, могли также возникать из-за увеличения неравномерности распределения эритроцитов в сетях микрососудов [40].

Патологическая агрегация сопровождается перераспределением эритроцитов в прекапиллярных сетях и уменьшением плотности содержащих эритроциты («функционирующих») капилляров. В частности, было показано, что неравномерность распределения эритроцитов на уровне капилляров увеличивается тогда, когда в крови присутствуют аномально прочные (образованные при участии $\alpha 2$ -макроглобулинов) агрегаты, выявляемые в прекапиллярных артериолах [113]. Наличие патологически прочных агрегатов эритроцитов препятствует вхождению клеток в узкие капилляры и способствует их шунтированию по более широким сосудам, в обход капиллярных сетей [53, 155]. В свою очередь, снижение плотности функционирующих капилляров приводит к уменьшению эффективной площади обмена и увеличению дистанции, которую должны преодолеть приносимые кровью субстанции в ткани [175]. Кроме того, при аномальном возрастании агрегации эритроцитов уменьшается зависимость от нее гидродинамических параметров в венах, и, таким образом, теряет эффективность описанный выше механизм, позволяющий нормальному процессу агрегации-деагрегации эритроцитов в посткапиллярных венах способствовать стабилизации давления в капиллярах [60]. В результате нарушения, связанные с патологической агрегацией эритроцитов, часто обусловлены не столько ее гемодинамическими последствиями, сколько влиянием на обменные процессы на уровне капилляров [175].

В тяжелых случаях патологической агрегации эритроцитов проявляется сладж-феномен («blood sludge»). *In vivo* в микрососудах при этом можно наблюдать значительное замедление кровотока. Агрегаты эритроцитов и плазматические сосуды обнаруживаются даже на уровне артериол. Кровоток в микрососудах становится весьма неравномерным [115, 116]. В функциональном отношении существенно то, что выраженная гемореологическая патология часто сопряжена с ишемическими повреждениями [188]. Отягощающим обстоятельством является нередко отмечаемое сочетание гемореологических нарушений и тромботических явлений [29]. При образовании агрегатов эритроцитов с аномальными морфологическими характеристиками не исключено также патологическое снижение обычного влияния агрегации эритроцитов на маргинацию лейкоцитов и, следовательно, на защитные процессы [150]. Таким образом, выраженная патологическая агрегация эритроцитов, особенно в сочетании с другими процессами, создает основу для развития микроциркуляторной патологии. Возможно, по аналогии с синдромом повышенной вязкости крови вообще [188], усиленную агрегацию эритроцитов следует

считать действительно патологической именно тогда, когда она сопровождается микроциркуляторными нарушениями. Оценку долевого вклада в эти нарушения аномальных адгезивных («агрегационных») свойств эритроцитов, определяющих их прилипание к сосудистой стенке, и патологической агрегации эритроцитов в потоке еще предстоит произвести [41, 208], но уже сейчас очевидно, что выраженная патологическая агрегация эритроцитов может спо-

собствовать развитию заболеваний самого разного генеза [3, 15, 16, 20, 23, 24, 119, 127, 160, 186, 209].

Анализ процесса агрегации -деагрегации эритроцитов в норме и при патологии позволяет заключить, что дальнейшие исследования в этой области представляют интерес как для развития теоретических представлений о токе крови на уровне микрососудов, так и для клинической практики.

Литература

1. Атауллаханов, А. И. 2,3-дифосфоглицератный шунт и стабилизация уровня АТФ в эритроцитах млекопитающих / А. И. Атауллаханов [и др.] // Биохимия. — 1985. — № 50 (6). — С. 1005–1011.
2. Булаева, С. В. Анализ действия гормонов и их синтетических аналогов на микрореологические свойства эритроцитов / С. В. Булаева [и др.] // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. — 2007. — № 6 (2). — С. 18–23.
3. Ионова, В. Г. Реологические свойства крови при ишемических нарушениях мозгового кровообращения / В. Г. Ионова, З. А. Суслина // Невролог. журн. — 2002. — № 3 (7). — С. 4–10.
4. Иржак, Л. И. Эволюция системы крови / Л. И. Иржак // Эволюционная физиология. — Л., 1983. — № 2. — С. 262–300.
5. Каро, К. Механика кровообращения / К. Каро [и др.]. — М., 1981.
6. Левтов, В. А. Реология крови / В. А. Левтов, С. А. Регирер, Н. Х. Шадрина. — М., 1982.
7. Левтов, В. А. Особенности агрегации эритроцитов у разных животных и человека / В. А. Левтов, И. В. Потапова // Физиолог. журн. СССР им. И. М. Сеченова. — 1983. — № 69 (5). — С. 660–665.
8. Мейл, Д. Иммунология / Д. Мейл [и др.]. — М., 2007.
9. Мельников, А. А. Реологические свойства крови спортсменов / А. А. Мельников, А. Д. Викулов. — Ярославль, 2008.
10. Муравьев, А. В. Вне- и внутриклеточные механизмы изменения агрегации эритроцитов / А. В. Муравьев, А. А. Муравьев // Физиология человека. — 2005. — № 31 (4). — С. 108–112.
11. Петрищев, Н. Н. Ишемическая адаптация миокарда : патофизиологические механизмы и возможные перспективы практического применения (обзор литературы) / Н. Н. Петрищев [и др.] // Рос. физиолог. журн. — 2001. — № 87 (5). — С. 688–705.
12. Петрищев, Н. Н. Физиология и патофизиология эндотелия / Н. Н. Петрищев, Т. Д. Власов // Дисфункция эндотелия : причины, механизм, фармакологическая коррекция. — СПб., 2003. — С. 4–38.
13. Саенко, Е. Л. Рецепция церулоплазмينا на эритроцитах человека / Е. Л. Саенко, В. В. Басевич, А. И. Яроповлов // Биохимия. — 1988. — № 53 (8). — С. 1310–1315.
14. Самойленкова, Н. С. Нейропротекторный и ангиопротекторный эффекты ишемического/гипоксического прекодиционирования мозга / Н. С. Самойленкова, С. А. Гаврилова, В. Б. Кошелев // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. — 2008. — № 1 (25). — С. 82–92.
15. Смыр, К. В. Агрегационные свойства эритроцитов у больных хроническим гломерулонефритом / К. В. Смыр [и др.] // Клин. фармакол. и терапия. — 2008. — № 4. — С. 93–96.
16. Соколова, И. А. Гемореологические особенности больных с разными клиническими проявлениями системной красной волчанки / И. А. Соколова [и др.] // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. — 2008. — № 7 (3). — С. 45–53.
17. Соколова, И. А. Некоторые компенсаторные последствия изменения агрегантного состояния крови / И. А. Соколова, С. Ю. Рыкова, Т. Н. Краснова // Тезисы докл. VII Всерос. конф. с международ. участием, посвященной 160-летию со дня рождения И. П. Павлова «Механизмы функционирования висцеральных систем» : сборник. — СПб., 2009. — С. 405.
18. Тихомирова, И. А. Физиологическая роль и механизмы объединения эритроцитов в агрегаты / И. А. Тихомирова, А. В. Муравьев // Рос. физиолог. журн. им. И. М. Сеченова. — 2007. — № 93 (12). — С. 1382–1393.
19. Фирсов, Н. Н. Классификация тяжести гемореологических расстройств / Н. Н. Фирсов, Т. В. Коротаева, М. А. Вышлова // Тромбоз, гемостаз и реология. — 2000. — С. 1 (3). — С. 22–23.
20. Фирсов, Н. Н. Введение в экспериментальную и клиническую гемореологию / Н. Н. Фирсов, П. Х. Джанашия. — М., 2005.
21. Шадрина, Н. Х. Исследование агрегации эритроцитов текущей крови методом микрофотосъемки / Н. Х. Шадрина [и др.] // Физиолог. журн. СССР им. И. М. Сеченова. — 1974. — № 60 (10). — С. 1548–1555.
22. Щукин, Е. Д. Коллоидная химия / Е. Д. Щукин, А. В. Перцов, Е. А. Амелина. — М., 2007.
23. Accorsi, P. Hyperviscosity syndrome in hematological diseases and therapeutic apheresis / P. Accorsi [et al.] // Int. J. Artif. Organs. — 2005. — № 28 (10). — P. 1032–1038.
24. Adams, B. D. Myeloproliferative disorders and the hyperviscosity syndrome / B. D. Adams [et al.] // Emerg. Med. Clin. North Am. — 2009. — № 27 (3). — P. 459–476.
25. Allen, B. W. How do red blood cells cause hypoxic vasodilation? The SNO-hemoglobin paradigm / B. W. Allen, C. A. Piantadosi // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. — 2006. — № 291 (4). — P. H1507–H1512.
26. Almeida de, J. P. Fibrinogen-dependent signaling in microvascular erythrocyte function : implications on nitric oxide efflux / J. P. de Almeida, T. Freitas-Santos, C. Saldanha // J. Membr. Biol. — 2009. — № 231 (1). — P. 47–53.
27. Amin, T. M. The blood rheology of man and various animal species / T. M. Amin, J. A. Sirs // Q. J. Exp. Physiol. — 1985. — № 70 (1). — P. 37–49.
28. Andrew, M. Development of the hemostatic system

ОБЗОРЫ

- in the neonate and young infant / M. Andrew, B. Paes, M. Johnston // *Am. J. Pediatr. Hematol. Oncol.* — 1990. — № 12 (1). — P. 95–104.
29. Andrews, D. A. Role of red blood cells in thrombosis / D. A. Andrews, P. S. Low // *Curr. Opin. Hematol.* — 1999. — № 6 (2). — P. 76–82.
30. Arbell, D. Premature red blood cells have decreased aggregation and enhanced aggregability / D. Arbell [et al] // *J. Physiol. Sci.* — 2008. — № 58 (3). — P. 161–165.
31. Armstrong, J. K. Evidence against macromolecular «bridging» as the mechanism of red blood cell aggregation induced by nonionic polymers / J. K. Armstrong [et al] // *Biorheology.* — 1999. — № 36 (5–6). — P. 433–437.
32. Armstrong, J. K. The hydrodynamic radii of macromolecules and their effect on red blood cell aggregation / J. K. Armstrong [et al] // *Biophys. J.* — 2004. — № 87 (6). — P. 4259–4270.
33. Asakura, S. On interaction between two bodies immersed in a solution of macromolecule / S. Asakura, F. Oosawa // *J. Chem. Phys.* — 1954. — № 22. — P. 1255–1256.
34. Ashkin, A. Acceleration and trapping of particles by radiation pressure / A. Ashkin // *Phys. Rev. Lett.* — 1970. — № 24 (4). — P. 156–159.
35. Bagchi, P. Computational fluid dynamic simulation of aggregation of deformable cells in a shear flow / P. Bagchi, P. C. Johnson, A. S. Popel // *J. Biomech. Eng.* — 2005. — № 127 (7). — P. 1070–1080.
36. Barnes, G. Ceruloplasmin receptors of erythrocytes / G. Barnes, E. Frieden // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 1984. — № 125 (1). — P. 157–162.
37. Barshtein, G. Role of red blood cell flow behavior in hemodynamics and hemostasis / G. Barshtein // *Expert Rev. Cardiovasc. Ther.* — 2007. — № 5 (4). — P. 743–752.
38. Baskurt, O. K. Erythrocyte aggregation tendency and cellular properties in horse, human, and rat : a comparative study / O. K. Baskurt, R. A. Farley, H. J. Meiselman // *Am. J. Physiol.* — 1997. — № 273 (6 Pt. 2). — P. H2604–H2612.
39. Baskurt, O. K. Blood rheology and hemodynamics / O. K. Baskurt, H. J. Meiselman // *Semin. Thromb. Hemost.* — 2003. — № 29 (5). — P. 435–450.
40. Baskurt, O. K. Modulation of endothelial nitric oxide synthase expression by red blood cell aggregation / O. K. Baskurt [et al] // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2004. — № 286 (1). — P. H222–H229.
41. Baskurt, O. K. RBC aggregation : more important than RBC adhesion to endothelial cells as a determinant of in vivo blood flow in health and disease / O. K. Baskurt, H. J. Meiselman // *Microcirculation.* — 2008. — № 15 (7). — P. 585–590.
42. Baskurt, O. K. New guidelines for hemorheological laboratory techniques / O. K. Baskurt [et al] // *Clin. Hemorheol. Microcirc.* — 2009. — № 42 (2). — P. 75–97.
43. Baskurt, O. K. Photometric measurements of red blood cell aggregation : light transmission versus light reflectance / O. K. Baskurt [et al] // *J. Biomed. Opt.* — 2009. — № 14 (5).
44. Baskurt, O. K. Assessment of the hemorheological profile of koala and echidna / O. K. Baskurt [et al] // *Zoology (Jena).* — 2010. — № 113 (2). — P. 110–117.
45. B?umler, H. Basic phenomena of red blood cell rouleaux formation / H. B?umler [et al] // *Biorheology.* — 1999. — № 36 (5–6). — P. 439–442.
46. Bedell, S. E. Erythrocyte sedimentation rate. From folklore to facts / S. E. Bedell, B. T. Bush // *Am. J. Med.* — 1985. — № 78 (6 Pt. 1). — P. 1001–1009.
47. Ben-Ami, R. A synergistic effect of albumin and fibrinogen on immunoglobulin-induced red blood cell aggregation / R. Ben-Ami [et al] // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2003. — № 285 (6). — P. H2663–H2669.
48. Berling, C. The RBC morphological dependence of the RBC disaggregability / C. Berling [et al] // *Biorheology.* — 1988. — № 25 (5). — P. 791–798.
49. Bishop, J. J. Effect of erythrocyte aggregation on velocity profiles in venules / J. J. Bishop [et al] // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2001. — № 280 (1). — P. H222–H236.
50. Bishop, J. J. Effects of erythrocyte aggregation and venous network geometry on red blood cell axial migration / J. J. Bishop [et al] // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2001. — № 281 (2). — P. H939–H950.
51. Bishop, J. J. Rheological effects of red blood cell aggregation in the venous network : a review of recent studies / J. J. Bishop [et al] // *Biorheology.* — 2001. — № 38 (2–3). — P. 263–274.
52. Bishop, J. J. Relationship between erythrocyte aggregate size and flow rate in skeletal muscle venules / J. J. Bishop [et al] // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2004. — № 286 (1). — P. H113–H120.
53. Bloch, E. H. Principles of the microvascular system / E. H. Bloch // *Investigative Ophthalmology.* — 1966. — № 5 (3). — P. 250–256.
54. Bogner, P. Osmotic and diffusive properties of intracellular water in camel erythrocytes : effect of hemoglobin crowdedness / P. Bogner [et al] // *Cell Biol. Int.* — 2005. — № 29 (9). — P. 731–736.
55. Boron, W. F. Medical physiology / W. F. Boron, E. L. Boulpaep. — Philadelphia, 2009.
56. Bosman, G. J. Comparative proteomics of erythrocyte aging in vivo and in vitro / G. J. Bosman [et al] // *J. Proteomics.* — 2010. — № 73 (3). — P. 396–402.
57. Brittain, N. J. Non-opsonising aggregates of IgG and complement in haemoglobin C erythrocytes / N. J. Brittain [et al] // *Br. J. Haematol.* — 2007. — № 136 (3). — P. 491–500.
58. Bronkhorst, P. J. The mechanism of red cell (dis) aggregation investigated by means of direct cell manipulation using multiple optical trapping / P. J. Bronkhorst [et al] // *Br. J. Haematol.* — 1997. — № 96 (2). — P. 256–258.
59. Brooks, D. E. The effect of neutral polymers on the electrokinetic potential of cells and other charged particles. I : Models for the zeta potential increase / D. E. Brooks, G. V. F. Seaman // *J. Colloid Interface Sci.* — 1973. — № 43 (3). — P. 670–686.
60. Cabel, M. Contribution of red blood cell aggregation to venous vascular resistance in skeletal muscle / M. Cabel [et al] // *Am. J. Physiol.* — 1997. — № 272 (2 Pt. 2). — P. H1020–H1032.
61. Castellini, M. Blood rheology of Weddell seals and bowhead whales / M. Castellini [et al] // *Biorheology.* — 2006. — № 43 (1). — P. 57–69.
62. Chen, C. Detection and characterization of a mannan-binding lectin from the mosquito, *Anopheles stephensi* (Liston) / C. Chen, P. F. Billingsley // *Eur. J. Biochem.* — 1999. — № 263 (2). — P. 360–366.
63. Chen, S. Monitoring of red blood cell aggregability in a flow-chamber by computerized image analysis / S. Chen [et al] // *Clin. Hemorheology.* — 1994. — № 14 (4). — P. 497–508.
64. Chien, S. Electrochemical and ultrastructural aspects of red cell aggregation / S. Chien // *Bibl. Anat.* — 1973. — № 11. — P. 244–250.
65. Chien, S. Ultrastructure basis of the mechanism of rouleaux formation / S. Chien, K. Jan // *Microvasc. Res.* — 1973. — № 5 (2). — P. 155–166.
66. Chien, S. Determination of aggregation force in

- rouleaux by fluid mechanical technique / S. Chien [et al] // *Microvasc. Res.* — 1977. — № 13 (3). — P. 327–333.
67. Chien, S. Aggregation of red blood cells / S. Chien // *Advances in Chemistry. Ser. 188 : Bioelectrochemistry : Ions, Surfaces, Membranes.* — Washington, 1980. — P. 3–83.
68. Chung, B. Application of chimera grid to modeling cell motion and aggregation in a narrow tube / B. Chung, P. C. Johnson, A. S. Popel // *Intern. J. Numerical Methods in Fluids.* — 2006. — № 53 (1). — P. 105–128.
69. Cloutier, G. Ultrasound backscattering from non-aggregating and aggregating erythrocytes : a review / G. Cloutier, Z. Qin // *Biorheology.* — 1997. — № 34 (6). — P. 443–470.
70. Cook, G. M. W. Sialic acids and the electrokinetic charge of the human erythrocyte / G. M. W. Cook, D. H. Heard, G. V. T. Seaman // *Nature.* — 1961. — № 191. — P. 44–47.
71. Cortens, M. The detection and identification of subpopulations of circulating human lymphocytes, monocytes and neutrophils capable of effecting a mitogen-induced cell-mediated cytotoxic reaction towards erythrocytes of various species / M. Cortens, S. Sklar, M. Richter // *Immunology.* — 1980. — № 41 (3). — P. 623–634.
72. Daniels, G. Functions of red cell surface proteins / G. Daniels // *Vox Sang.* — 2007. — № 93 (4). — P. 331–340.
73. Daveloose, D. A new spin label method for the measurement of erythrocyte internal microviscosity / D. Daveloose [et al] // *Biochim. Biophys. Acta.* — 1983. — № 763 (1). — P. 41–49.
74. Dintenfass, L. Photographic, stereological and statistical methods in evaluation of aggregation of red cells in disease. Part I : Kinetics of aggregation / L. Dintenfass, H. Jedrzejczyk, A. Willard // *Photographic. Biorheology.* — 1982. — № 19 (4). — P. 567–577.
75. Dintenfass, L. Aggregation of red cells in disease: some deductions and speculations based on results of «ARC» experiment on the space shuttle «Discovery» STS 51-C / L. Dintenfass. — *Biorheology.* — 1988. — № 25 (1–2). — P. 65–76.
76. Dognon, A. ?tude optique de l'agr?gation r?versible des h?maties / A. Dognon, J. Loeper, E. Housset // *Soc. Biol.* — 1949. — № 143 (11–12). — P. 769–771.
77. Donner, M. Erythrocyte aggregation : approach by light scattering determination / M. Donner, M. Siadat, J. F. Stoltz // *Biorheology.* — 1988. — № 25 (1–2). — P. 367–375.
78. Duling, B. R. Longitudinal gradients in periarteriolar oxygen tension : a possible mechanism for the participation of oxygen in local regulation of blood flow / B. R. Duling, R. M. Berne // *Circ. Res.* — 1970. — № 27 (5). — P. 669–678.
79. Esievo, K. A. High sialic acid content of camels' erythrocytes / K. A. Esievo, D. I. Saror, S. S. Tulpule // *Vet. Rec.* — 1981. — № 109 (18). — P. 414.
80. Evans, E. Attraction between lipid bilayer membranes in concentrated solutions of nonadsorbing polymers : comparison of mean-field theory with measurements of adhesion energy / E. Evans, D. Needham // *Macromolecules.* — 1988. — № 21 (6). — P. 1822–1831.
81. Fabry, T. L. Mechanism of erythrocyte aggregation and sedimentation / T. L. Fabry // *Blood.* — 1987. — № 70 (5). — P. 1572–1576.
82. F?hr?us, R. S. The suspension-stability of the blood / R. S. F?hr?us // *Acta Med. Scand.* — 1921. — № 55. — P. 1–228.
83. Folgering, J. H. Molecular basis of the mammalian pressure-sensitive ion channels : focus on vascular mechanotransduction / J. H. Folgering [et al] // *Prog. Biophys. Mol. Biol.* — 2008. — № 97 (2–3). — P. 180–195.
84. Forsdyke, D. R. Segregation into separate rouleaux of erythrocytes from different species / D. R. Forsdyke, P. M. Ford // *Biochem. J.* — 1983. — № 214 (1). — P. 257–260.
85. Friederichs, E. Influence of the red blood cell Ca²⁺-ion concentration on the erythrocyte aggregation in stasis / E. Friederichs, H. Winkler, W. Tillmann // *Biochem. Med. Metab.* — 1989. — № 41 (2). — P. 85–92.
86. Game, L. Do physiological concentrations of IgG induce a direct aggregation of red blood cells : comparison with fibrinogen / L. Game [et al] // *Biochim. Biophys. Acta.* — 1996. — № 1291 (2). — P. 138–142.
87. Gladwin, M. T. Role of the red blood cell in nitric oxide homeostasis and hypoxic vasodilation / M. T. Gladwin // *Adv. Exp. Med. Biol.* — 2006. — № 588. — P. 189–205.
88. Golub, A. S. PO₂ measurements in the microcirculation using phosphorescence quenching microscopy at high magnification / A. S. Golub, R. N. Pittman // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2008. — № 294 (6). — P. H2905–H2916.
89. Goto, S. Quantitative estimation of interaction between carbohydrates and concanavalin A by surface plasmon resonance biosensor / S. Goto [et al] // *Chem. Pharm. Bull.* — 2002. — № 50 (4). — P. 445–449.
90. Grendahl, M. J. Intercellular forces and separation energy of red cells sludged by contrast medium / M. J. Grendahl, C. R. Olson, R. L. Evans // *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* — 1965. — № 118. — P. 1124–1127.
91. Grieneringer, G. Fib420, the novel fibrinogen subclass : newborn levels are higher than adult / G. Grieneringer [et al] // *Blood.* — 1997. — № 90 (7). — P. 2609–2614.
92. Halis, H. Hemorheological parameters in children with iron-deficiency anemia and the alterations in these parameters in response to iron replacement / H. Halis [et al] // *Pediatr. Hematol. Oncol.* — 2009. — № 26 (3). — P. 108–118.
93. Hermand, P. Red cell ICAM-4 is a novel ligand for platelet-activated alpha IIb beta 3 integrin / P. Hermand [et al] // *J. Biol. Chem.* — 2003. — № 278 (7). — P. 4892–4898.
94. Herrera, M. Factors associated with adverse reactions induced by caprylic acid-fractionated whole IgG preparations : comparison between horse, sheep and camel IgGs / M. Herrera [et al] // *Toxicon.* — 2005. — № 46 (7). — P. 775–781.
95. Hewson, W. On the figure and composition of the red particles of the blood, commonly called the red globules / W. Hewson. *Philos. Trans. R. Soc. Lond.* — 1773. — № 63. — P. 303–323.
96. Hirata, C. Effect of normal human erythrocytes on blood rheology in microcirculation / C. Hirata [et al] // *Osaka City Med. J.* — 2007. — P. 53 (2). — P. 73–85.
97. Houben, A. J. A novel approach to the study of human microcirculation : Reactivity to locally applied angiotensin II in the conjunctival microvascular bed / A. J. Houben [et al] // *J. Hypertens.* — 2006. — № 24 (11). — P. 2225–2230.
98. Intaglietta, M. Microvascular and tissue oxygen distribution / M. Intaglietta, P. C. Johnson, R. M. Winslow // *Cardiovasc. Res.* — 1996. — № 32 (4). — P. 632–643.
99. Izumida, Y. Erythrocyte aggregation : bridging by macromolecules and electrostatic repulsion by sialic acid / Y. Izumida, A. Seiyama, N. Maeda // *Biochim. Biophys. Acta.* — 1991. — № 1067 (2). — P. 221–226.
100. Janzen, J. Do plasma proteins absorb to red cells? / J. Janzen, D. E. Brooks // *Clin. Hemorheol.* — 1989. — № 9. — P. 695–714.
101. Jensen, F. B. The dual roles of red blood cells in tissue oxygen delivery : oxygen carriers and regulators of local blood flow / F. B. Jensen // *J. Exp. Biol.* — 2009. — № 212 (21). — P. 3387–3393.
102. Joanny, J. F. Effects of polymer solutions on colloid stability / J. F. Joanny, L. Leibler, P. G. De Gennes // *J.*

ОБЗОРЫ

Polymer Sci. Polym. Phys. Ed. — 1979. — № 17 (6). — P. 1073–1084.

103. Kang, E. S. Normal circulating adult human red blood cells contain inactive NOS proteins / E. S. Kang // *J. Lab. Clin. Med.* — 2000. — № 135 (6). — P. 444–451.

104. Katchalsky, A. Interactions of basic polyelectrolytes with the red blood cell. II Agglutination of red blood cells by polymeric bases / A. Katchalsky [et al] // *Biochim. Biophys. Acta.* — 1959. — № 33 (1). — P. 120–138.

105. Kavitha, A. Assessment of human red blood cell aggregation using image processing and wavelets / A. Kavitha, S. Ramakrishnan // *Measurement Sci. Rev. Section 2. Measurement in Biomedicine.* — 2007. — № 7 (5). — P. 43–51.

106. Kedra-Lubońska, M. The isolation and immunological properties of two arginase forms from human erythrocytes / M. Kedra-Lubońska, E. Zamecka, Z. Porembka // *Biochem. Med. Metab. Biol.* — 1988. — № 39 (3). — P. 247–257.

107. Křemřký, G. Plasma viscosity: a forgotten variable / G. Křemřký [et al] // *Clin. Hemorheol. Microcirc.* — 2008. — № 39 (1–4). — P. 243–246.

108. Khokhlova, M. D. Peculiarities of RBC aggregation studied by double trap optical tweezers / M. D. Khokhlova [et al] // *Proc. of SPIE.* — 2010. — № 7715(0M). — P. 1–8.

109. Kim, S. Aggregate formation of erythrocytes in postcapillary venules / S. Kim [et al] // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2005. — № 288 (2). — P. H584–H590.

110. Kim, S. Effect of erythrocyte aggregation at normal human levels on functional capillary density in rat spinotrapezius muscle / S. Kim [et al] // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2006. — № 290 (3). — P. H941–H947.

111. Kim, S. Contributions of collision rate and collision efficiency to erythrocyte aggregation in postcapillary venules at low flow rates / S. Kim [et al] // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2007. — № 293 (3). — P. H1947–H1954.

112. Kim, S. Effect of dextran 500 on radial migration of erythrocytes in postcapillary venules at low flow rates / S. Kim, P. K. Ong, P. C. Johnson // *Mol. Cell. Biomech.* — 2009. — № 6 (2). — P. 83–91.

113. Kirschkamp, T. Effects of fibrinogen and alpha2-macroglobulin and their apheretic elimination on general blood rheology and rheological characteristics of red blood cell aggregates / T. Kirschkamp [et al] // *Ther. Apher. Dial.* — 2008. — № 12 (5). — P. 360–367.

114. Klose, H. J. Microrheology and light transmission of blood. I. The photometric effects of red cell aggregation and red cell orientation / H. J. Klose [et al] // *Pflugers Archiv.* — 1972. — № 333 (2). — P. 126–139.

115. Knisely, M. H. Microscopic observation of intravascular agglutination of red cells and consequent sludging of the blood in human diseases / M. H. Knisely, E. H. Bloch // *Anat. Rec. (suppl.)* — 1942. — № 82. — P. 426.

116. Knisely, M. H. Sludged blood / M. H. Knisely [et al] // *Science.* — 1947. — № 106 (2758). — P. 431–440.

117. Korotaeva, T. V. Erythrocytes aggregation in healthy donors at native and standard hematocrit: the influence of sex, age, immunoglobulins and fibrinogen concentrations. Standardization of parameters / T. V. Korotaeva [et al] // *Clin. Hemorheol. Microcirc.* — 2007. — № 36 (4). — P. 335–343.

118. Kramer, K. Ein Verfahren zum fortlaufenden Messen des Sauerstoffgehaltes im strömenden Blut an uneröffneten Gefäßen / K. Kramer [et al] // *Ztschr. f. Biol.* — 1935. — № 96. — P. 61–75.

119. Kwaan, H. C. The hyperviscosity syndromes / H. C. Kwaan, A. Bongu // *Semin. Thromb. Hemost.* — 1999. — № 25 (2). — P. 199–208.

120. Lichtman, M. A. *Williams Hematology* / M. A. Lichtman [et al]. — 7th ed. — N.-Y., 2006.

121. L'fström, B. Intravascular aggregation and oxygen consumption: aggregation of red blood cells produced by high molecular weight dextran or by hypothermia / B. L'fström // *Acta anaesthesiol. Scand.* — 1959. — № 3 (1). — P. 41–51.

122. Lominadze, D. Involvement of fibrinogen specific binding in erythrocyte aggregation / D. Lominadze, W. Dean // *FEBS Lett.* — 2002. — № 517 (1–3). — P. 41–44.

123. Lominadze, D. Mechanisms of fibrinogen-induced microvascular dysfunction during cardiovascular disease / D. Lominadze [et al] // *Acta Physiol (Oxf).* — 2010. — № 198 (1). — P. 1–13.

124. Lundbæk, J. A. Lipid bilayer regulation of membrane protein function: gramicidin channels as molecular force probes / J. A. Lundbæk [et al] // *J. R. Soc. Interface.* — 2010. — № 7 (44). — P. 373–395.

125. Maeda, N. Rheological characteristics of desialylated erythrocytes in relation to fibrinogen-induced aggregation / N. Maeda [et al] // *Biochim. Biophys. Acta.* — 1984. — № 776 (1). — P. 151–158.

126. Maeda, N. Opposite effect of albumin on the erythrocyte aggregation induced by immunoglobulin G and fibrinogen / N. Maeda, T. Shiga // *Biochim. Biophys. Acta.* — 1986. — № 855 (1). — P. 127–135.

127. Maharshak, N. Increased strength of erythrocyte aggregates in blood of patients with inflammatory bowel disease / N. Maharshak [et al] // *Inflamm. Bowel Dis.* — 2009. — № 15 (5). — P. 707–713.

128. Marton, Z. Red blood cell aggregation measurements in whole blood and in fibrinogen solutions by different methods / Z. Marton [et al] // *Clin. Hemorheol. Microcirc.* — 2001. — № 24 (2). — P. 75–83.

129. Mathieu, P. Obesity, inflammation, and cardiovascular risk / P. Mathieu, I. Lemieux, J. P. Després // *Clin. Pharmacol. Ther.* — 2010. — № 87 (4). — P. 407–416.

130. McPherson, R. *A Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods* / R. A. McPherson, M. R. Pincus. — 21st ed. — Philadelphia, 2007.

131. Meiselman, H. J. RBC aggregation: laboratory data and models / H. J. Meiselman [et al] // *Indian J. Exp. Biol.* — 2007. — № 45 (1). — P. 9–17.

132. Merrill, E. W. Rheology of human blood and the red cell plasma membrane / E. W. Merrill [et al] // *Bibl. Anat.* — 1965. — № 7. — P. 11–17.

133. Minetti, M. The microenvironment can shift erythrocytes from a friendly to a harmful behavior: pathogenetic implications for vascular diseases / M. Minetti [et al] // *Cardiovasc. Res.* — 2007. — № 75 (1). — P. 21–28.

134. Minneci, P. C. Hemolysis-associated endothelial dysfunction mediated by accelerated NO inactivation by compartmentalized oxyhemoglobin / P. C. Minneci [et al] // *J. Clin. Invest.* — 2005. — № 115 (12). — P. 3409–3417.

135. Morariu, A. M. Red blood cell aggregation during cardiopulmonary bypass: a pathogenic cofactor in endothelial cell activation? / A. M. Morariu [et al] // *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* — 2004. — № 26 (5). — P. 939–946.

136. Morariu, A. M. Acute isovolemic hemodilution triggers proinflammatory and procoagulatory endothelial activation in vital organs: role of erythrocyte aggregation / A. M. Morariu [et al] // *Microcirculation.* — 2006. — № 13 (5). — P. 397–409.

137. Mori, D. Computational study on effect of red blood cells on primary thrombus formation / D. Mori [et al] // *Thromb Res.* — 2008. — № 123 (1). — P. 114–121.

138. Müller, H. E. Untersuchungen am natürlichen Serumproteinfilm der Erythrocytenoberfläche / H. E. Müller, F. Gramlich // *Acta Haematologica.* — 1963. — № 29 (3). —

P. 135–140.

139. Musielak, M. Are there two functionally distinguished Neu5Gc pools with respect to rouleau formation on the bovine red blood cell? / M. Musielak // *Clin. Hemorheol. Microcirc.* — 2004. — № 30 (3–4). — P. 435–438.

140. Musielak, M. Different RBC aggregating properties of the Aalpha2Bbeta2gammaA2 and Aalpha2Bbeta2gammaAgamma' subpopulations of human fibrinogen / M. Musielak, J. Ko?cielak // *Clin. Hemorheol. Microcirc.* — 2006. — № 35 (1–2). — P. 301–303.

141. Nakano A., Sugii Y., Minamiyama M., Niimi H. Measurement of red cell velocity in microvessels using particle image velocimetry (PIV) / Nakano. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* 2003; 29(3-4): 445–455.

142. Nash, G. B. Red cell aggregation as a factor influencing margination and adhesion of leukocytes and platelets / G. B. Nash [et al] // *Clin. Hemorheol. Microcirc.* — 2008. — № 39 (1–4). — P. 303–310.

143. Neu, B. Depletion-mediated red blood cell aggregation in polymer solutions / B. Neu // *Biophys. J.* — 2002. — № 83 (5). — P. 2482–2490.

144. Neu, B. Cell-cell affinity of senescent human erythrocytes / B. Neu, S. O. Sowemimo-Coker, H. J. Meiselman // *Biophys. J.* — 2003. — № 85 (1). — P. 75–84.

145. Norris, S. S. Evaluation of 4,4'-diisothiocyanatostilbene-2,2'-disulfonic acid in the inhibition of rouleaux formation / S. S. Norris [et al] // *Transfusion.* — 1996. — № 36 (2). — P. 109–112.

146. Ohta, K. Animal species differences in erythrocyte aggregability / K. Ohta [et al] // *Am. J. Physiol.* — 1992. — № 262 (4 Pt. 2). — P. H1009–H1012.

147. Okumura, M. Isolation, characterization, and quantitative analysis of ceruloplasmin from horses / M. Okumura [et al] // *Am. J. Vet. Res.* — 1991. — № 52 (12). — P. 1979–1985.

148. Oss van, C. J. Zeta potentials, van der Waals forces and hemagglutination / C. J. Oss van // *Vox Sang.* — 1983. — № 44 (3). — P. 183–190.

149. Pearson, M. J. Influence of erythrocyte aggregation on leukocyte margination in postcapillary venules of rat mesentery / M. J. Pearson, H. H. Lipowsky // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2000. — № 279 (4). — P. H1460–H1471.

150. Pearson, M. J. Effect of fibrinogen on leukocyte margination and adhesion in postcapillary venules / M. J. Pearson, H. H. Lipowsky // *Microcirculation.* — 2004. — № 11 (3). — P. 295–306.

151. Peerschke, E. I. Ex vivo evaluation of erythrocytosis-enhanced platelet thrombus formation using the cone and plate(let) analyzer : effect of platelet antagonists / E. I. Peerschke [et al] // *Br. J. Haematol.* — 2004. — № 127 (2). — P. 195–203.

152. Petz, L. D. Immune hemolytic anemias / L. D. Petz, G. Garratty. — 2nd ed. — Philadelphia, 2004.

153. Poiseuille, J.-L. M. Recherches expérimentales sur le mouvement des liquides dans les tubes de très-petits diamètres / J.-L. M. Poiseuille // *Annales de Chimie et de Physique.* — 1847. — № 3 (21). — P. 76–110.

154. Popel, A. S. Capacity for red blood cell aggregation is higher in athletic mammalian species than in sedentary species / A. S. Popel [et al] // *J. Appl. Physiol.* — 1994. — № 77 (4). — P. 1790–1794.

155. Popel, A. S. Microcirculation and hemorheology / A. S. Popel, P. C. Johnson // *Annu. Rev. Fluid Mech.* — 2005. — № 37. — P. 43–69.

156. Pribush, A. Dielectric approach to investigation of erythrocyte aggregation. II : Kinetics of erythrocyte aggregation-disaggregation in quiescent and flowing blood / A. Pribush [et al] // *Biorheology.* — 2000. — № 37 (5–6).

— P. 429–441.

157. Pribush, A. A novel technique for quantification of erythrocyte aggregation abnormalities in pathophysiological situations / A. Pribush [et al] // *Clin. Hemorheol. Microcirc.* — 2007. — № 36 (2). — P. 121–132.

158. Pribush, A. The mechanism of the dextran-induced red blood cell aggregation / A. Pribush, D. Zilberman-Kravits, N. Meyerstein // *Eur. Biophys. J.* — 2007. — № 36 (2). — P. 85–94.

159. Price, A. K. Deformation-induced release of ATP from erythrocytes in a poly(dimethylsiloxane)-based microchip with channels that mimic resistance vessels / A. K. Price [et al] // *Anal. Chem.* — 2004. — № 76 (16). — P. 4849–4855.

160. Rampling, M. W. Hyperviscosity as a complication in a variety of disorders. Semin / M. W. Rampling // *Thromb. Hemost.* — 2003. — № 29 (5). — P. 459–465.

161. Rampling, M. W. Influence of cell-specific factors on red blood cell aggregation / M. W. Rampling [et al] // *Biorheology.* — 2004. — № 41. — P. 91–112.

162. Rando, R. R. Threshold effects on the concanavalin A-mediated agglutination of modified erythrocytes / R. R. Rando, G. A. Orr, F. W. Bangerter // *J. Biol. Chem.* — 1979. — № 254 (17). — P. 8318–8323.

163. Reinhart, W. H. Red cell rheology in stomatocyte-echinocyte transformation : roles of cell geometry and cell shape / W. H. Reinhart [et al] // *Blood.* — 1986. — № 67 (4). — P. 1110–1118.

164. Reinhart, W. H. Molecular biology and self-regulatory mechanisms of blood viscosity : a review / W. H. Reinhart // *Biorheology.* — 2001. — № 38 (2–3). — P. 203–212.

165. Rosenbaum, J. T. Imaging ocular immune responses by intravital microscopy / J. T. Rosenbaum [et al] // *Int. Rev. Immunol.* — 2002. — № 21 (2–3). — P. 255–272.

166. Rouffiac, V. A new ultrasound principle for characterizing erythrocyte aggregation : in vitro reproducibility and validation. Investigative / V. Rouffiac [et al] // *Radiology.* — 2002. — № 37 (8). — P. 413–420.

167. Sagesaka, T. Influence of red blood cell concentration on the initiation time of blood coagulation : risk of thrombus formation in pregnant females with anemia / T. Sagesaka, H. Juen, M. Hayashi // *Clin. Hemorheol. Microcirc.* — 2007. — № 36 (2). — P. 155–161.

168. Schmid-Schonbein, G. W. Biomechanics of microcirculatory blood perfusion / G. W. Schmid-Schonbein // *Annu. Rev. Biomed. Eng.* — 1999. — № 1. — P. 73–102.

169. Schmid-Schonbein, G. W. Biomechanical aspects of the auto-digestion theory / G. W. Schmid-Schonbein // *Mol. Cell Biomech.* — 2008. — № 5 (2). — P. 83–95.

170. Schmid-Schonbein, H. On the shear rate dependence of red cell aggregation in vitro / H. Schmid-Schonbein [et al] // *J. Clin. Invest.* — 1968. — № 47 (6). — P. 1447–1454.

171. Schmid-Schonbein, H. Microscopy and viscometry of blood flowing under uniform shear rate (rheoscopy) / H. Schmid-Schonbein, R. Wells, R. Schildkraut // *J. Appl. Physiol.* — 1969. — № 26 (5). — P. 674–678.

172. Schmid-Schonbein, H. A counter-rotating «rheoscope chamber» for the study of the microrheology of blood cell aggregation by microscopic observation and microphotometry / H. Schmid-Schonbein [et al] // *Microvasc. Res.* — 1973. — № 6 (3). — P. 366–376.

173. Schmid-Schonbein, H. Hypothermia and blood flow behavior / H. Schmid-Schonbein [et al] // *Res. Exp. Med. (Berl.).* — 1973. — № 161 (1). — P. 58–68.

174. Schmid-Schonbein, H. Velocity of red cell aggregation (RCA). Photometric determination of the half-time and aggregation constant / H. Schmid-Schonbein [et al] // *Bibl. Anat.* — 1975. — № 13. — P. 91–92.

175. Schmid-Schonbein, H. Microrheology of erythrocytes,

ОБЗОРЫ

- blood viscosity, and the distribution of blood flow in the microcirculation / H. Schmid-Schonbein [et al] // *Int. Rev. Physiol.* — 1976. — № 9. — P. 1–62.
176. Schmid-Schonbein, H. Pathological red cell aggregation (clump aggregation). Molecular and electrochemical factors / H. Schmid-Schonbein [et al] // *Bibl. Anat.* — 1977. — № 16 (Pt. 2). — P. 484–489.
177. Shiga, T. Kinetics of rouleaux formation using TV image analyzer. I: Human erythrocytes / T. Shiga [et al] // *Am. J. Physiol.* — 1983. — № 245 (2). — P. H252–H258.
178. Shiu, Y. T. In vitro studies of erythrocyte-vascular endothelium interactions / Y. T. Shiu, L. V. McIntire // *Ann. Biomed. Eng.* — 2003. — № 31 (11). — P. 1299–1313.
179. Smith, J. E. Variability in erythrocyte deformability among various mammals / J. E. Smith, N. Mohandas, S. B. Shoheit // *Am. J. Physiol.* — 1979. — № 236 (5). — P. H725–H730.
180. Snabre, P. Cell disaggregation behavior in shear flow / P. Snabre, M. Bitbol, P. Mills // *Biophys. J.* — 1987. — № 51 (5). — P. 795–807.
181. Soutani, M. Quantitative evaluation of flow dynamics of erythrocytes in microvessels: influence of erythrocyte aggregation / M. Soutani [et al] // *Am. J. Physiol.* — 1995. — № 268 (5 Pt. 2). — P. H1959–H1965.
182. Spengler, M. I. Influence of plasma proteins on erythrocyte aggregation in three mammalian species / M. I. Spengler, M. Rasia // *Vet. Res. Commun.* — 2001. — № 25 (7). — P. 591–599.
183. Spengler, M. I. Study on membrane fluidity and erythrocyte aggregation in equine, bovine and human species / M. I. Spengler [et al] // *Clin. Hemorheol. Microcirc.* — 2008. — № 38 (3). — P. 171–176.
184. Spitzer, D. In vivo correction of complement regulatory protein deficiency with an inhibitor targeting the red blood cell membrane / D. Spitzer [et al] // *J. Immunol.* — 2005. — № 175 (11). — P. 7763–7770.
185. Stief, T. W. Thrombin generation by hemolysis / T. W. Stief // *Blood Coagul. Fibrinolysis.* — 2007. — № 18 (1). — P. 61–66.
186. Stoltz, J. F. Erythrocyte aggregation: experimental approaches and clinical implications / J. F. Stoltz, M. Donner // *Int. Angiol.* — 1987. — № 6 (2). — P. 193–201.
187. Stoltz, J. F. Introduction to hemorheology: theoretical aspects and hyperviscosity syndromes / J. F. Stoltz, M. Donner, A. Larcen // *Int. Angiol.* — 1987. — № 6 (2). — P. 119–132.
188. Stoltz, J. F. New trends in clinical hemorheology: an introduction to the concept of the hemorheological profile / J. F. Stoltz, M. Donner // *Schweiz Med. Wochenschr. Suppl.* — 1991. — № 43. — P. 41–49.
189. Stone, M. J. Waldenström's macroglobulinemia: hyperviscosity syndrome and cryoglobulinemia / M. J. Stone // *Clin. Lymphoma Myeloma.* — 2009. — № 9 (1). — P. 97–99.
190. Sung, L. A. Interaction energies in lectin-induced erythrocyte aggregation / L. A. Sung, E. A. Kabat, S. Chien // *J. Cell Biol.* — 1985. — № 101 (2). — P. 652–659.
191. Tachev, K. D. On the mechanism of stomatocyte-echinocyte transformations of red blood cells: experiment and theoretical model / K. D. Tachev, K. D. Danov, P. A. Kralchevsky // *Colloids Surf. B. Biointerfaces.* — 2004. — № 34 (2). — P. 123–140.
192. Tangelder, G. J. Velocity profiles of blood platelets and red blood cells flowing in arterioles of the rabbit mesentery / G. J. Tangelder [et al] // *Circ. Res.* — 1986. — № 59 (5). — P. 505–514.
193. Tateishi, N. O(2) release from erythrocytes flowing in a narrow O(2)-permeable tube: effects of erythrocyte aggregation / N. Tateishi [et al] // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2001. — № 281 (1). — P. H448–H456.
194. Tokumasu, F. Altered membrane structure and surface potential in homozygous hemoglobin C erythrocytes / F. Tokumasu [et al] // *PLoS ONE.* — 2009. — № 4 (6). — P. e5828.
195. Tripette, J. Red blood cell aggregation, aggregate strength and oxygen transport potential of blood are abnormal in both homozygous sickle cell anemia and sickle-hemoglobin C disease / J. Tripette [et al] // *Haematologica.* — 2009. — № 94 (8). — P. 1060–1065.
196. Ulker, P. Mechanical stimulation of nitric oxide synthesizing mechanisms in erythrocytes / P. Ulker [et al] // *Biorheology.* — 2009. — № 46 (2). — P. 121–132.
197. Uyklu, M. Role of hemoglobin oxygenation in the modulation of red blood cell mechanical properties by nitric oxide / M. Uyklu [et al] // *Nitric Oxide.* — 2009. — № 21 (1). — P. 20–26.
198. Vincent, B. The calculation of depletion layer thickness as a function of bulk polymer concentration / B. Vincent // *Colloids Surfaces.* — 1990. — № 50. — P. 241–249.
199. Wang, T. Numerical stimulation of rheology of red blood cell rouleaux in microchannels / T. Wang [et al] // *Phys. Rev. E.* — 2009. — № 79 (4). — P. 41916.
200. Weisel, J. W. Fibrinogen and fibrin / J. W. Weisel // *Adv. Protein Chem.* — 2005. — № 70. — P. 247–299.
201. Weng, X. Influence of acute-phase proteins on erythrocyte aggregation / X. Weng [et al] // *Am. J. Physiol.* — 1996. — № 271 (6 Pt. 2). — P. H2346–H2352.
202. Westergren, A. The technique of the red cell sedimentation reaction / A. Westergren [et al] // *Am. Rev. Tuberc.* — 1926. — № 14. — P. 94–100.
203. Windberger, U. Whole blood viscosity, plasma viscosity and erythrocyte aggregation in nine mammalian species: reference values and comparison of data / U. Windberger [et al] // *Exp. Physiol.* — 2003. — № 88 (3). — P. 431–440.
204. Windberger, U. The fluidity of blood in African elephants (*Loxodonta africana*) / U. Windberger [et al] // *Clin. Hemorheol. Microcirc.* — 2005. — № 33 (4). — P. 321–326.
205. Wintrobe, W. W. A standardized technique for blood sedimentation test / W. W. Wintrobe, J. W. Landsberg // *Am. J. Med. Sci.* — 1935. — № 189. — P. 102–115.
206. Xi, G. Mechanisms of brain injury after intracerebral haemorrhage / G. Xi, R. F. Keep, J. T. Hoff // *Lancet Neurol.* — 2006. — № 5 (1). — P. 53–63.
207. Yalcin, O. Graded alterations of RBC aggregation influence in vivo blood flow resistance / O. Yalcin [et al] // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2004. — № 287 (6). — P. H2644–H2650.
208. Yedgar, S. RBC adhesion to vascular endothelial cells: more potent than RBC aggregation in inducing circulatory disorders / S. Yedgar, D. K. Kaul, G. Barshtein // *Microcirculation.* — 2008. — № 15 (7). — P. 581–583.
209. Zannad, F. Blood rheology in arterial hypertension / F. Zannad, J. F. Stoltz // *J. Hypertens. Suppl.* — 1992. — № 10 (5). — P. S69–S78.
210. Zatz, R. Chronic nitric oxide inhibition model six years on / R. Zatz, C. Baylis // *Hypertension.* — 1998. — № 32 (6). — P. 958–964.
211. Zhang, J. Red blood cell aggregation and dissociation in shear flows simulated by lattice Boltzmann method / J. Zhang [et al] // *J. Biomech.* — 2008. — № 41 (1). — P. 47–55.
212. Zhang, Z. W. Role of macromolecular depletion in red blood cell adhesion / Z. W. Zhang, B. Neu // *Biophys. J.* — 2009. — № 97 (4). — P. 1031–1037.