

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ МОЛДОВА

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ МЕДИЦИНЫ И ФАРМАЦИИ

"НИКОЛАЕ ТЕСТЕМИЦАНУ"

# **ПАТОФИЗИОЛОГИЯ**

*патологических процессов в системе крови*

Теоретический курс

Профессор Василе Лутан

Кишинёв, 2022

**Патофизиология патологических процессов в системе крови.** Теоретический курс.

Публикация апробирована Советом по менеджменту качества Государственного Университета Медицины и Фармации «Николае Тестемицану» (Протокол от 28 октября 2021).

**Рецензенты:** Стела Тодираш, доктор медицинских наук, доцент, Виктория Ротару, доктор медицинских наук, доцент.

Рекомендуется в качестве учебного пособия для всех специальностей высшего медицинского образования.

**Автор:** Василе Лутан, доктор хабилитат биологических наук, профессор.

Профессор кафедры патологической физиологии Государственного Университета Медицины и Фармации «Николае Тестемицану»

**Аннотация.** Настоящий теоретический курс содержит информации относительно этиологии и патогенеза первичных и реактивных патологических процессов в системе крови.

## Содержание

<b>I.</b>	<b>Патофизиология анемий .....</b>	<b>3</b>
<b>II.</b>	<b>Патофизиология эритроцитозов .....</b>	<b>9</b>
<b>III.</b>	<b>Патофизиология сидеропении и железодефицитной анемии .....</b>	<b>12</b>
<b>IV.</b>	<b>Патофизиология дефицита витамина В12 / фолиевой кислоты и мегалобластической анемии .....</b>	<b>28</b>
<b>V.</b>	<b>Патофизиология гемолиза .....</b>	<b>39</b>
<b>VI.</b>	<b>Патофизиология гемобластозов .....</b>	<b>52</b>
<b>VII.</b>	<b>Патофизиология лейкоцитозов и лейкоцитопений .....</b>	<b>62</b>

### **I. Патофизиология анемий**

Потребности взрослого организма в кислороде, как в состоянии покоя, так и при максимальной физической нагрузке, удовлетворяются 750 г нормального гемоглобина, распределенного примерно в  $25 \times 10^{12}$  (триллионов) эритроцитов, подвешенных примерно в 5 л крови. Нормальный взрослый гемоглобин (HbA) состоит из 4 белковых цепей глобина (2 альфа и 2 бета) и 4 молекул гема, каждая из которых содержит двухвалентный ион железа. Физиологически каждый эритроцит содержит 29 пг (пикограмм,  $29 \times 10^{-12}$  г). В условиях чрезмерного напряжения, например при длительной физической нагрузке, общее количество эритроцитов и гемоглобина могут быть значительно повышены, в то время как при длительном покое, например у пожилых людей или у больных иммобилизованных в постели, значения показателей крови уменьшаются, что также является физиологическим явлением - "физиологическая анемия".

Анемия определяется как патологический процесс, проявляемый уменьшением количества эритроцитов, содержания гемоглобина или обоих параметров одновременно. Так как возможно раздельное преимущественное изменение каждого параметра, то используются и термины эритроцитопения и гемоглобинопения.

Пролиферация клеток эритроцитарного ряда и синтез гемоглобина стимулируются эритропоэтическими факторами (эритропоэтином), но эти процессы не сопряжены. По этой причине возможно разобщение этих процессов: нормальный эритропоэз может сочетаться с недостаточным синтезом гемоглобина (гипохромная железodefицитная анемия) либо нормальный синтез гемоглобина сочетается с недостаточной пролиферацией эритробласта (гиперхромная В12-дефицитная анемия).

**Неспецифические проявления** анемии. Все анемии, независимо от их этиологии и патогенеза, имеют общие патологические проявления и вызывают стереотипный комплекс компенсаторных реакций и патологических явлений.

**Специфические проявления** описаны ниже для конкретных форм анемий.

### **Компенсаторные реакции при анемии.**

Обеспечение организма кислородом – это совместный процесс с участием нескольких систем: эритроцитов, сердечно-сосудистой системы, внешнего дыхания, обменных процессов. Так как ключевым явлением в анемии является гипоксия, все эти системы привлекаются в компенсаторный процесс.

Триггером запускающим компенсаторные реакции при анемиях является гипоксия, вызванная снижением кислородной емкости крови – максимальное количество (объем) кислорода, транспортируемый кровью, рассчитанной производным общего количества гемоглобина в крови (у взрослых около 750 г) и способностью гемоглобина связывать кислород (кислороднопектическая способность) - 1,34 мл O<sub>2</sub> /г НвА (взрослого гемоглобина). Рассчитанная таким образом общая кислородная емкость крови равна примерно 1000 мл кислорода.

Таким образом, анемии проявляются снижением кислородной способности крови ниже нормы.

Гипоксемия инициирует компенсаторные реакции, которые направлены на обеспечение организма кислородом.

## 1. Гематогенные компенсаторные реакции

- а. Интенсификация эритропоэза:** снижение давления кислорода в крови вызывает экспрессию в нефроцитах индуцибельного фактора гипоксии (*Hypoxia-inducible factors, HIFs 1,2*) – транскрипционный фактор, реагирующий на гипоксию, который восстанавливает цитохром в нефроцитах, что стимулирует секрецию ими эритропоэтина. Инкретируемый в кровь эритропоэтин стимулирует пролиферацию и дифференциацию эритропоэтин-чувствительных проэритробластов в красном костном мозге до ретикулоцитов и, одновременно, стимулирует синтез гемоглобина. В результате в красном костном мозге растет популяция незрелых клеток – нормобластов, ретикулоцитов, полихроматофильных эритроцитов и высвобождение их в кровь – тем самым повышается кислородная емкость крови. Другим эффектом HIF является ангиогенез в ишемизированных органах с улучшением их перфузии.
- б. Изменение свойств гемоглобина:** при гипоксии, гиперкапнии и ацидозе уменьшается сродство гемоглобина к кислороду - кривая диссоциации оксигемоглобина перемещается вправо, что приводит к более полной диссоциации оксигемоглобина и отдаче кислорода тканям при более высоких значениях давления кислорода.
- с. Накопление в эритроцитах DPG** (дифосфоглицерат) при хронической гипоксии, который уменьшает сродство гемоглобина к кислороду и облегчает отдачу кислорода тканям.
- 2. Циркуляторные компенсаторные реакции.** Гипоксемия, гиперкапния и ацидоз через сосудистые хеморецепторы (бифуркация сонных артерий) рефлекторно стимулируют симпатическую вегетативную нервную систему и последующие сердечные и сосудистые реакции: положительные кардиотропные ино-, батмо-, хроно- и дромотропные эффекты с тахикардией, увеличением систолического выброса и минутного объема кровообращения; сосуды, оснащенные альфа-адренорецепторами, реагируют на катехоламины вазоспазмом, повышением артериального давления и скорости кровообращения. Одновременно в органах со спазмированными сосудами (кожа, спланхний, нефункционирующие мышцы) уменьшается перфузия, а сердечный выброс перераспределяется в органы, сосуды которых оснащены бета-адренорецептором и расширяются под воздействием

катехоламинов – происходит перераспределение крови к жизненно важным органам –централизация гемодинамики.

**3. Водно-электролитные компенсаторные реакции.** Гипоксемия активирует симпатическую вегетативную нервную систему с вазоспазмом в почках, что приводит к гипоперфузии и активации ренин-ангиотензин-альдостероновой системы – нефроциты секретируют ренин, который превращает ангиотезиноген в ангиотензин I; впоследствии ангиотензин I под действием ангиотензин-превращающего фермента превращается в ангиотензин II с сосудосуживающим эффектом и стимуляцией секреции альдостерона; в свою очередь альдостерон реабсорбирует натрий и воду в почках. В результате увеличивается объем крови, что улучшает перфузию органов.

**4. Дыхательные компенсаторные реакции.** Рефлекторные реакции дыхательного аппарата запускаются путем стимуляции периферических хеморецепторов сонных артерий гипоксией, гиперкапнией и ацидозом, что приводит к ускорению и углублению внешнего дыхания, гипервентиляции легких, ускорению венозного возврата крови к сердцу.

**5. Тканевые компенсаторные реакции.** В условиях гипоксии окислительный метаболизм в клетках переключается на анаэробный гликолиз, что обеспечивает энергоснабжение клеток в условиях недостатка кислорода.

Следует отметить относительную целесообразность компенсаторных реакций: так, длительная гиперфункция сердца вызывает гипоксию миокарда; легочная гипервентиляция вызывает дыхательный алкалоз; анаэробный гликолиз приводит к накоплению лактата и метаболическому ацидозу; хроническая стимуляция эритропоэза истощает эритробластическую серию красного костного мозга и запасы железа.

Особо следует отметить неблагоприятные последствия централизации кровообращения: длительный спазм и гипоперфузия может привести к недостаточности почек, печени, абдоминальных органов, что является патогенетической предпосылкой шока и полиорганной недостаточности.

**Патологические явления при анемии.** Анемия и гипоксия органов и тканей вызывают множественные патологические процессы, которые зависят от режима их активности, интенсивности обмена веществ, потребности в кислороде, компенсаторных механизмов и, в сумме, определяют индивидуальную устойчивость органа к гипоксии.

**1. Клеточные повреждения.** Патогенез гипоксических повреждений клеток состоит из многих факторов: гипоэнергогенез, нарушения функций ионных насосов с внутриклеточным накоплением натрия и кальция с специфическими эффектами – осмотическим цитолизом, устранение электролитного градиента, снижение потенциала покоя и увеличение возбудимости, активация внутриклеточных ферментов (протеазы, АТФ-азы, фосфолипазы, эндонуклеазы). Конечные эффекты этих нарушений - клеточные повреждения, дистрофии, апоптоз, некроз, а впоследствии - местное воспаление, фиброз органа. Другими цитопатогенными эффектами гипоксии являются клеточный ацидоз с дестабилизацией лизосомной мембраны и аутолизом клеток, окислительный стресс.

**2. Функциональные нарушения.** Гипоксия угнетает базальные функции клеток – возбудимость, пролиферацию и регенерацию, специфические функции органов. Наиболее чувствительными органами к гипоксии являются центральная нервная система, миокард, почки, печень, в то время как соединительная ткань, кожа более устойчива. Из-за этого самые ранние функциональные нарушения при анемии/гипоксии возникают со стороны корковых нейронов (расстройство специализированных функций - например, письмо, познавательная функция, потеря сознания, кома), вегетативные, вазомоторные расстройства, нарушение функции дыхательного центра вплоть до его паралича.

## **Патофизиологическая классификация анемий.**

Классификация анемий основана на разных принципах: этиологии, патогенезе, характере эритропоэза, регенеративной способности эритропоэтических органов, морфологии эритроцитов и др. (Клиническая классификация анемий включает конкретные нозологические единицы, зарегистрированные в номенклатуре заболеваний с конкретным руководством по диагностике, мониторингу, лечению и профилактике).

Патофизиологически принята следующая классификация анемий.

### **А. В зависимости от этиологии:**

1. Анемии врожденные
2. Анемии приобретенные

### **В. В зависимости от патогенеза:**

## 1. Анемии при расстройстве эритропоэза (нарушение пролиферации клеток и синтеза гемоглобина)

- панцитопения (аплазия костного мозга)
- апластическая анемия
- гипопластическая анемия
- сидеробластическая анемия (нарушение включения железа в состав гема с накоплением в эритроцитах негеминного железа - ферритина и гемосидерина)
- анемия железodefицитная
- анемия вследствие недостатка витамина В<sub>12</sub>/фолиевой кислоты
- белково-дефицитная анемия

## 2. Гемолитические анемии – гипергемолиз

- эндоэритроцитарные гемолитические анемии – генетические дефекты эритроцитов, которые снижают их устойчивость в кровеносной системе (мембранопатии, энзимопатии, гемоглобинопатии)
- экзоэритроцитарные гемолитические анемии - разрушение эритроцитов под действием вредных факторов (механических, физических, химических, биологических, антигенных)
- анемии с внутриклеточным гемолизом
- анемия с внутрисосудистым гемолизом

## 4. Постгеморрагические анемии

- острая постгеморрагическая анемия
- хроническая постгеморрагическая анемия

## **С. По характеру эритропоэза – в зависимости от конечной клетки эритропоэза:**

- нормобластная анемия (эритропоэз заканчивается производством нормоцитов)
- мегалобластная анемия (эритропоэз заканчивается производством мегалоцитов)

## **Д. В зависимости от интенсивности регенерации эритроидных клеток:**

- регенеративные (гиперрегенеративные) анемии
- Гипо- и арегенеративные анемии.

## **Е. В зависимости от насыщения эритроцитов гемоглобином:**



- Нормохромные анемии
- Гипохромные анемии
- Гиперхромные анемии

Независимо от конкретного нозологического диагноза, в каждом случае анемия должна быть квалифицирована в соответствии с этими критериями, которые имеют диагностическое значение и указывают параметры, которые необходимо исправить. Так, гипорегенеративный характер указывает на необходимость стимулирования эритропоэза; гипохромный характер требует коррекции метаболизма железа; макро/мегалоцитоз указывает на дефицит витамина В12/фолиевой кислоты.

## II. Патофизиология эритроцитозов

Эритроцитоз определяется как увеличение содержания эритроцитов в единице объема крови. Согласно этиологии и патогенезу эритроцитозы классифицируются:

1. первичный эритроцитоз - пролиферативные процессы в костном мозге, эритромиелоз;
2. вторичные, реактивные эритроцитозы;
3. относительный, ложный эритроцитоз (гемоконцентрация при обезвоживании).

### 2.1. Первичный эритроцитоз. Эритремия. (Истинная полицитемия. Болезнь Vaquez)

---

Первичные эритроцитозы – это гиперпролиферативные патологические процессы опухолевой природы с гиперпроизводством эритроцитов: в результате увеличивается количество эритроцитов в единице объема крови, увеличивается общий объем крови и общее количество эритроцитов в крови.

Первичный эритроцитоз также называют абсолютным.

В 1892 году Vaquez впервые описал полицитемию и предположил, что патогенез заболевания состоит в повышенной регенеративной активности красного костного мозга. В 1903 году Osler описал полицитемию как отдельную нозологическую единицу.

Эритремия – это опухолевой процесс в красном костном мозге, миелопролиферативное заболевание с преобладающим нарушением эритробластной серии, проявляющееся повышенным содержанием эритроцитов в крови, гиперволемией и полицитемией.

Эритремия является болезнью старости (60 - 80 лет), но она также встречается у молодых людей. Это наиболее распространенное хроническое миелопролиферативное заболевание с заболеваемостью 29: 100000 человек.

### **Этиология.**

На основе эпидемиологических исследований предполагается связь эритремии с трансформацией стволовых клеток: обнаружена мутация гена тирозинкиназы JAK 2 (киназа Janus), при которой валин в позиции 617 заменяется фенилаланином, что изменяет транскрипцию гена и приводит к непрерывной неконтролируемой активности тирозинкиназы и пролиферации клеток. Эта мутация также встречается при других пролиферативных патологиях (эссенциальная тромбоцитемия), но все же чаще при полицитемии.

### **Патогенез.**

Мутация тирозинкиназы JAK2 изменяет транскрипцию гена, делает клетки более восприимчивыми к факторам роста (эритропоэтин, тромбопоэтин) и приводит к непрерывной неконтролируемой пролиферации клеток эритроцитарной и мегакариоцитарной серии. Возникают метастазы клеток-предшественников с образованием внекостномозговых эритроидных колоний.

### **Клинические проявления.**

- Полицитемия – увеличение содержания эритроцитов в единице объема и в абсолютном значении в организме.
- Гемоконцентрация. Избыток эритроцитов увеличивает гематокрит выше 45%, повышает вязкость крови, повышает периферическое сосудистое сопротивление, вызывает агрегацию клеток крови и коагуляцию крови с нарушением микроциркуляции, гиперемией кожи с

цианотическим оттенком за счет снижения оксигемоглобина в медленном токе крови в периферических сосудах, тромбозами.

- Гиперволемия. В результате гиперпроизводства эритроцитов устанавливается полицитемическая гиперволемия с гемодинамическими последствиями: перегрузка сердца объемом (увеличивается преднагрузка), эксцентрическая гипертрофия миокарда, систолическая гипертензия.
- Застой крови в селезенке и печени приводит к спленомегалии и гепатомегалии, микроциркуляторным расстройствам в желудке и двенадцатиперстной кишке, к язвам желудка и двенадцатиперстной кишки.
- Клеточный лизис и интенсивный катаболизм высвобождающихся нуклеопротеидов приводят к избыточному образованию мочевой кислоты с гиперурикемией и осаждению кристаллов в суставных структурах – артралгия, подагра; выведение мочевой кислоты с мочой приводит к уролитиазу.
- Характерным признаком является образование внекостномозговых эритроидных колоний – вторичных, метастатических опухолей в печени, селезенке и др.

#### **Гемограмма в типичном случае эритремии:**

- гиперволемия – объем крови увеличивается в 1,5-2,5 раза по сравнению с нормой (норма – 7% от массы тела);
- эритроцитоз -  $6-8 \times 10^{12}/л$  (норма -  $4,5-5,5 \times 10^{12}/л$ ); полихромазия эритроцитов, наличие в крови эритробластов;
- гемоконцентрация - гематокрит - более 65% (норма - 35-45%);
- ретикулоцитоз – 1,5-2,0 % (норма – 0,5-1,0%);
- гемоглобин - 180-220 г/л (норма 120-160 г/л);
- цветовой показатель - 0,7-0,6 (норма - 0,9-1,1); (синтез гемоглобин отстает от ускоренного эритропоэза); среднее содержание гемоглобина в эритроцитах - менее 29 пг; средняя концентрация гемоглобина в эритроцитах - ниже 33%;
- лейкоцитоз -  $10-12 \times 10^9 /л$  (норма -  $4-9 \times 10^9/л$ ); содержание нейтрофилов - 70-85%; сдвиг ядра влево до миелоцитов; эозинофилия, редко - базофилия;

- тромбоцитоз -  $400-600 \times 10^6 / \text{Л}$  (норма - около  $300 \times 10^6$ );
- скорость оседания эритроцитов - 1-2 мм/час (норма для мужчин - 5-10 мм/час);
- низкий эритропоэтин.

**Риски и осложнения эритремии:** повышенная агрегабельность и свертываемость крови, тромбоз, эмболия сосудов головного мозга, селезенки, печени; тромбоз глубоких вен ног; эрозия и гастро-дуоденальные язвы; холелитиаз, уrolитиаз;

**Лечение.** Цитостатики, кровопускания, симптоматическое лечение

**2.2. Вторичный абсолютный эритроцитоз** – это реакция красного мозга на внекостномозговые патологические процессы: гипоксия (поражение легких, сердечно-сосудистой системы, гистотоксические процессы, атмосферная гипоксия); чрезмерная секреция эритропоэтинов при опухолях почек; гиперсекреция глюкокортикостероидов (синдром Кушинга), опухоли с избыточной секрецией андрогенов.

**2.3. Относительный эритроцитоз** связан с потерей жидкости (обезвоживание организма при диаррее, рвоте, полиурии, гипервентиляции легких, сильном потоотделении) и гемоконцентрацией с увеличением количества эритроцитов в единице объема, но при уменьшении общего объема крови – эти формы не представляют собой истинной патологии эритроцитоза и требуют только коррекции объемов жидкости.

Следует отметить, что как истинный, так и ложный эритроцитоз изменяет реологию крови с аналогичными последствиями. Распространенными проявлениями для всех форм эритроцитоза являются повышенное периферическое сосудистое сопротивление, гемоконцентрация, гипервязкость крови, агрегация клеток крови, тромбогенез, нарушение системного кровообращения.

### **III. Патофизиология сидеропении и железододефицитной анемии**

**Биологическая роль железа**

Железо является микроэлементом с жизненно важным значением для организма. В начале XXI века ВОЗ объявила дефицит железа одним из 10 важных рисков для здоровья населения.

Железо участвует в важных физиологических процессах:

- 1) транспорт кислорода – кислород доставляется органам в составе оксигемоглобина -  $\text{Hb}(\text{O}_2)_4$ ; эта функция выполняется двухвалентным железом из состава эритроцитарного гемоглобина, а кислород, связанный железом в составе миоглобина, служит внутриклеточным запасом;
- 2) железо в составе ферментов (цитохромы a,b,c, оксигеназы, пероксидазы, каталазы, NO-синтазы, цитохромоксидазы, цитохром p450 и др.) участвует в процессах энергетического метаболизма.

Железо в организме существует в 2 формах:

- а) трехвалентные соединения -  $\text{Fe}^{3+}$  - химически и биологически инертное, лишенное редокс-потенциала (не восстанавливает другие соединения отдачей электрона), нетоксично (не вызывают окислительного стресса);
- б) двухвалентные соединения -  $\text{Fe}^{2+}$  - растворимое, биологически активное, обладает высоким редокс-потенциалом (восстанавливает другие вещества, отдав электрон);  $\text{Fe}^{2+}$  является токсичным по своей способности вызывать окислительный стресс.

Бивалентное активное железо существует только в клетках, где оно выполняет определенные функции, а его окислительный потенциал подавляется клеточными антиоксидантными системами; вне клеток циркулирует только трехвалентное неактивное железо. Поддержание внеклеточного железа в трехвалентном состоянии является активным процессом, регулируемым различными ферментными системами – расстройство или недостаточность этих ферментных систем приводит к окислительному стрессу с повреждением всех органов (например, при наследственном гемохроматозе).

### **Роль железа в процессе созревания эритроцитов**

Созревание эритроцитов включает синтез и накопление гемоглобина. Каждая молекула гемоглобина содержит 4 атома железа. На стадии созревания каждый эритроцит содержит около 29 пг (пикограммы,  $10^{-12}$ г) гемоглобина. При дефиците железа уменьшается синтез и, соответственно, содержание гемоглобина в эритроците - уменьшается кислородно-транспортная функция, снижается кислородная емкость крови, возникает гипоксия. Снижение содержания

гемоглобина (даже при нормальном содержании эритроцитов в крови) как следствие недостатка железа называется железodefицитной анемией. В свою очередь при анемии в организме возникают и другие нарушения, зависящие от биологической роли железа в окислительно-восстановительных процессах.

### **Гомеостаз и баланс железа в организме**

Количественный гомеостаз железа является жизненно важным процессом и строго поддерживается путем уравнивания потерь и потребления железа. Недостаток железа -отрицательный баланс - вызывает анемию и биохимические расстройства из-за низкой активности железосодержащих металлоэнзимов (дизэнергоденез); избыток железа - положительный баланс - вызывает окислительный стресс с поражением жизненно важных органов и преждевременной смертью организма. Таким образом, дисгомеостаз железа приводит к серьезным патологиям, что диктует необходимость поддержания нормального содержания железа в организме.

В отличие от других химических элементов, гомеостаз которых в основном поддерживается процессом активного удаления их избытка из организма (например, натрий), гомеостаз железа поддерживается путем активного регулирования ассимиляции (всасывания) алиментарного железа из пищеварительного тракта, в то время как выведение железа из организма является пассивным процессом – железо теряется только путем удаления мертвых клеток, содержащих железо (например, физиологический лизис эритроцитов, слущивающиеся энтероциты и эпителиоциты).

Гомеостаз железа поддерживается путем корректировки ассимиляции железа соразмерно его потерям. В организме имеются резервы железа, которые хранятся, в основном, в макрофагах печени, селезенки, красного костного мозга, лимфоидной ткани, которые могут быть мобилизованы в случае необходимости, чтобы компенсировать колебания потребления экзогенного железа или чрезмерные нефизиологические потери железа.

Ежедневные потери железа у взрослых составляют около 30 мг и состоят из не утилизируемых потерь (слущивающиеся мертвые клетки - около 2 мг/24 часа) и ре утилизируемых потерь (физиологический лизис эритроцитов - около 28 мг/24 часа ). Таким образом, ежедневные потребности будут покрыты 28 мг эндогенного железа происшедших из физиологического лизиса эритроцитов и только 2 мг за счет

экзогенного железа, потребляемого с пищей и всасывающегося в пищеварительном тракте. Энтеральные механизмы строго контролируют количество железа всасываемого ежедневно: при чрезмерном приеме всасывание железа в энтероциты блокируется, а при дефиците железа его всасывание улучшается, хотя и в ограниченном диапазоне.

Усвоение пищевого железа является основным механизмом поддержания его гомеостаза. При физиологическом смешанном рационе питания (продукты животного и растительного происхождения) источниками железа являются красное мясо (миоглобин), кровь (гемоглобин) - так называемое гемическое железо, а также органические и неорганические соединения из растительных источников (негемическое железо); негемическое железо количественно преобладает в рационе питания. У вегетарианцев, но особенно у веганов, растительное, негемическое железо является единственным источником. Поскольку процессы поглощения гемического и негемического железа различны, а негемическое железо усваивается труднее, чем гемическое, вегетарианцы подвержены повышенному риску дефицита железа.

Таким образом, потребности организма в железе покрываются из двух источников: пищевого экзогенного железа и эндогенного железа из запасов. Регулирование всасывания пищевого железа и извлечения железа из внутренних запасов осуществляется теми же гомеостатическими механизмами в строгом соответствии с потребностями организма, с тем чтобы предотвратить как дефицит, так и избыток железа – обе ситуации имеют вредные последствия.

### **Всасывание пищевого железа.**

Всасывание пищевого железа из пищеварительного тракта через энтероциты является строго регулируемым процессом и зависит от уровня железа в организме: дефицит железа активизирует, а избыток - блокирует абсорбцию. Это обеспечивает поддержание гомеостаза железа в организме, предотвращая как дефицит, так и избыток железа. Поддержание гомеостаза железа обеспечивается набором механизмов - ферментов, мембранных каналов, рецепторов, специфических транспортеров, дирижируемых клеточными и системными регуляторами.

**Всасывание гемического пищевого железа.** Гемическое железо в составе гемоглобина и миоглобина абсорбируется в энтероцитах различными механизмами.

Гемоглобин и миоглобин из продуктов животного происхождения в желудке подвергаются деградации соляной кислотой и пепсином сначала до гема и глобина; глобин деградируется протеолитическими ферментами; гем в двенадцатиперстной кишке фиксируется и внедряется в эритроцит эндоцитозом посредством специального транспортного белка (*heme carrier protein 1*). В эритроцитах под действием фермента гемоксигеназы от гема отщепляется железо, а остаток молекулы гема без железа подвергается катаболизации с образованием билирубина. Выход железа из эритроцита осуществляется общим путем.

Всасывание негемического пищевого железа из растительных продуктов и неорганического железа идет по более сложному пути, требует участия нескольких факторов – всасывание сложнее и уязвимее.

Факторы, участвующие в ассимиляции не-гемического железа.

а) В желудке для усвоения негемического железа требуется соляная кислота и аскорбиновая кислота: соляная кислота ионизирует атомарное железо, а аскорбиновая кислота восстанавливает неассимилируемое трехвалентное железо в двухвалентное железо, которое может быть абсорбировано. Ахлоргидрия или гиповитаминоз С снижают усвоение пищевого железа.

б) Dcytb — дуоденальный цитохром b – белок на апикальной мембране эритроцитов двенадцатиперстной кишки; это редуктаза, которая фиксирует трехвалентное пищевое железо из просвета двенадцатиперстной кишки и восстанавливает его в ассимилируемое двухвалентное железо; при отсутствии или гипоактивности цитохрома b трехвалентное железо из растительных продуктов не всасывается и теряется. Следует отметить, что железо в составе продуктов животного происхождения - гемоглобин, миоглобин, называемый гемическим железом, не требует этого фермента, а поглощается целиком в составе гема.

в) DMT-1 (engl., *Divalent metal transporter 1*), транспортер двухвалентных металлов (Fe, Zn, Co, Mn и др.); это белок, выделяемый дуоденальными эритроцитами и расположенный на апикальной мембране, который захватывает железо из просвета кишечника и переносит его в эритроцит. Таким образом, интериоризация железа из просвета кишечника в эритроцит не является пассивным процессом диффузии, но гомеостатично зависит от DMT-1. Экспрессия DMT-1 регулируется отрицательной обратной связью на клеточном и системном уровне.



Чрезмерное накопление железа в энтероците в виде ферритина подавляет экспрессию ДМТ-1 и приостанавливает всасывание железа в энтероциты. На системном уровне схема регуляции сложнее: нормальный уровень трансферрина и ферритина в крови вызывает секрецию печенью специфического белка - гепсидина, который, в свою очередь, подавляет экспрессию ДМТ-1 в энтероцитах и подавляет всасывание железа. Напротив, уменьшение количества ферритина в крови (свидетельство истощения железа) подавляет печеночную секрецию гепсидина и стимулирует синтез ДМТ-1 – кишечное всасывание железа увеличивается. Оба механизма поддерживают нормальный уровень железа в организме и предотвращают как избыток, так и дефицит железа. Этим же механизмом регулируется и мобилизация железа из макрофагов и из печени.

d) Мобилферрин - внутриклеточный транспортер железа от места всасывания из просвета кишечника (апикальный полюс энтероцита) до места выхода железа в кровь (базо-латеральный полюс энтероцита); связь с мобилферрином предотвращает вредное воздействие двухвалентного железа внутри клетки.

e). Гефестин. Выход железа из энтероцита в кровь требует превращения двухвалентного реактивного железа в трехвалентное неактивное железо – этот процесс осуществляется гефестином - оксидазой, расположенной на базолатеральной мембране энтероцита, который окисляет двухвалентное железо в трехвалентную форму, необходимую для высвобождения в кровь.

f) Феропортин - специфический трансмембранный канал для Fe, транспортер железа из энтероцита в кровь; модулируется также гепсидином и регулирует выделение железа в кровь: нормальный уровень трансферрина и ферритина в крови вызывает секрецию гепсидина, что, в свою очередь, подавляет экспрессию феропортина и выход железа в кровь – железо депонируется в энтероците. Напротив, уменьшение трансферрина и ферритина в крови (свидетельство дефицита железа) подавляет печеночную секрецию гепсидина и дерепрессирует феропортин – высвобождение железа из энтероцитов увеличивается. Все четыре механизма, ответственные за всасывание железа в кровь – дуоденальный цитохром с, ДМТ-1, феропортин и гефестин регулируют всасывание и поддерживают нормальный уровень железа в организме.

Транспорт кровью и использование железа являются сложными процессами и регулируются гомеостатично несколькими механизмами.

а) Церуллоплазмин – плазматический белок, секретируется печенью, является железоксидазой (аналог гефестина) – окисляет двухвалентное железо в плазме в трехвалентное железо; предотвращает случайное появление двухвалентного железа в крови и защищает организм от окислительного стресса, вызванного свободной циркуляцией двухвалентного железа.

б) Апотрансферрин – плазматический белок, секретируемый печенью (единственный транспортер железа в крови): в крови фиксирует 2 атома трехвалентного железа и превращается в трансферрин. Трансферрин является специфическим лигандом для рецепторов CD71 на эритрокариоцитах красного костного мозга; после фиксации на клеточной мембране эритрокариоцита комплекс трансферрин + рецептор целиком входит в клетку; в клетке железо отделяется от рецептора и переносится в митохондрии, где происходит синтез гема, а апотрансферрин без железа возвращается в кровь для рециркуляции.

В крови не весь апотрансферрин соединяется с железом - нормальное соотношение трансферрин/апотрансферрин равно 30% /70%, а это значит, что ферропектический запас составляет 70%. При дефиците железа соотношение трансферрин/апотрансферрин уменьшается, а ферропектическая емкость увеличивается – это достоверный диагностический признак дефицита железа. При избытке железа в крови (например, при переливании крови, массовом гемолизе) происходит насыщение апотрансферрина, а в крови появляется несвязанное свободное железо - возникает опасность окислительного стресса.

При избытке железа увеличивается соотношение трансферрина/апотрансферрина, которое стимулирует секрецию гепсидина - в результате он подавляет ДМТ-1 (уменьшает поглощение железа в энтероцитах); подавляет экспрессию гефестина и феропортина (уменьшается высвобождение железа из энтероцитов, макрофагов и гепатоцитов) - гомеостаз железа восстанавливается.

с) Специфические трансферриновые рецепторы, закрепленные на цитоплазмической мембране железопотребляющих клеток (прежде всего эритрокариоцитов), комплексуется с трансферрином и вместе интернализируются в клетку. Апотрансферрин возвращается в кровь, а остатки рецептора

выходят и свободно циркулируют в крови (*truncated soluble transferrin receptor, sTfR*). Экспрессия апотрансферриновых рецепторов также регулируется гомеостатично: дефицит железа вызывает суперэкспрессию и увеличение концентрации свободных рецепторов в плазме, а при избытке железа уменьшается экспрессия и концентрация растворимых рецепторов. Рецепторы трансферрина присутствуют на мембране эритроцитных клеток вплоть до ретикулоцита; зрелые эритроциты не обладают рецепторами, не усваивают железо и не синтезируют гемоглобин.

Отложение железа в виде запасов и его мобилизация также регулируется гомеостатически в соответствии с потребностями организма в железе с участием нескольких механизмов.

- а) Апоферритин - внутриклеточный белок, фиксирует железо, превращаясь в ферритин - форму хранения железа в клетках. Ферритин в энтероцитах образуется из избытка железа, поглощаемого из кишечника, в макрофагах - из избытка железа, высвобождаемого при гемолизе, в гепатоцитах и других клетках – из избыток железа в крови, в почечном эпителии - из гемоглобина реабсорбируемого из первичной мочи в случае гемоглобинурии. Ферритин является водорастворимым комплексом трехвалентного железа с апоферритином и представляет собой корпускулярную структуру - мембрана состоит из апоферритина, а ядро из 3000 атомов железа). Хотя ферритин является внутриклеточным белком, он также присутствует в крови в небольших количествах, но пропорционально его клеточному содержанию и служит достоверным индексом запасов железа в организме и гомеостатическим сигналом для секреции гепсидина и поддержания нормальной концентрации железа в крови. Так, увеличение плазматического ферритина вызывает секрецию гепсидина и ингибирование кишечного всасывания железа и высвобождение его из запасов; уменьшение ферритина подавляет секрецию гепсидина и стимулирует кишечное всасывание и мобилизацию железа из запасов.
- в) Гемосидерин - еще одно железистое соединение, хранящееся внутриклеточно - представляет собой частично депротеинизированный ферритин, нерастворимый в воде. Он хранится в эритрокариоцитах, эпителиоцитах почечных канальцев, который при десквамации проявляется гемосидеринурией.

#### **Мобилизация железа из эндогенных запасов.**

Наиболее важным в количественном отношении источником железа для организма являются эндогенные запасы – около 28 мг в день по сравнению с 2 мг железа из пищевых источников. Структуры, которые

накапливают железо в виде отложений ферритина и гемосидерина являются энтероциты (накапливают избыток алиментарного железа), гепатоциты (накапливают избыток железа из крови) и макрофаги макрофагальной системы (селезенка, лимфоидная ткань, печень, костный мозг) - накапливают железо высвобождаемое из разрушенных эритроцитов. Извлечение железа из макрофагов является строго регулируемым гомеостатическим процессом: потребность организма в железе воспринимается уровнем оксемии, концентрацией ферритина и трансферрина в крови – уменьшение этих параметров подавляет секрецию печенью гепсидина, что стимулирует механизмы вывода железа из макрофага: синтез гепестина, который окисляет двухвалентное железо в трехвалентное и синтез феропортина - транспортера железа из макрофага в кровь. Напротив, повышенное значение трансферрина и ферритина вызывает синтез гепсидина и блокирование мобилизации железа из запасов.

Основным регулятором гомеостаза железа (абсорбция, мобилизация из запасов, транспорт, ассимиляция) является гепсидин.

Гепсидин является белком острой фазы воспаления, выделяется печенью под действием провоспалительных интерлейкинов (IL-1,2,6) наряду с другими острофазными белками. Гепсидин является антибактериальным пептидом, который регулирует гомеостаз железа: он выделяется в условиях достаточности железа (нормальная концентрация трансферрина и ферритина в крови) и подавляет усвоение железа в кишечнике и мобилизацию эндогенного железа из запасов. При дефиците железа (низкая концентрация ферритина и трансферрина) секреция уменьшается, что дерепрессирует механизмы поглощения и мобилизации железа. Дефекты секреции гепсидина становятся причинами тяжелых патологий: избыток гепсидина при хронических воспалениях приводит к хроническому дефициту железа и анемии в условиях пищевой доступности железа, а наследственная недостаточность гепсидина приводит к гемохроматозу – тяжелому окислительному стрессу с повреждением жизненно важных органов и преждевременной смертью.

**Сидеропения - дефицит железа в организме.**

Сидеропения представляет собой самую распространенную гематологическую патологию в мировом масштабе, в том числе в Республике Молдова. Дефицит железа возникает у 2/3 беременных женщин и детей раннего возраста – риск железодефицитной анемии.

### **Этиология сидеропении.**

Факторы, которые вызывают дефицит железа многочисленны.

*1. Дефицит железа в пищевом рационе.* Ассимиляция алиментарного железа зависит от общего количества потребляемого железа и от вида химических соединений, которые усваиваются разными механизмами.

Железо в продуктах животного происхождения содержится в гемоглобине, миоглобине и называется гемическим железом - поглощается около 20% от общего потребляемого железа. Растительные продукты содержат трехвалентные соединения железа (негемическое железо), которые усваиваются лишь на 10%. Суточная норма железа покрывается на 10% за счет поглощением гемического железа и на 90% за счет негемического железа. Поэтому, даже если количественно потребление железа достаточно, его усвоение будет зависеть от химических соединений железа. Таким образом, вегетарианский и веганский рацион питания может быть причиной дефицита железа.

Дефицит пищевого железа возникает либо при недостаточном приеме, либо при отсутствии легко усвояемого гемического железа, либо из-за связывания железа в кишечнике с образованием нерастворимых соединений, которые удаляются с фекалиями (комплексирование с оксалатами, фитинами, танинами, антацидами, тетрациклинами).

*2. Беременность* является неизбежной причиной дефицита железа у женщин из-за потребностей плода в железе. Баланс железа у плода положительный при любых условиях, независимо от обеспечения матери железом. Даже у беременных женщин с железодефицитной анемией в организме плода происходит накопление необходимого количества железа.

Положительный баланс железа у плода поддерживается следующими механизмами:

а. плацента фиксирует железо из материнской крови и активно переносит его в кровь плода;

- b. в плаценте имеется собственный апоферритин, который накапливает железо из материнской крови и создает запасы железа для плода;
- c. апотрансферрин плода обладает высокой аффинностью к железу - это обеспечивает захват железа из материнского трансферрина независимо от градиента концентрации железа по обе стороны плаценты;
- d. фетальный апоферритин более стабилен и сохраняет запасы железа для послеродовой жизни, а текущие потребности плода удовлетворяются за счет материнского железа.

Благодаря этим механизмам плод получает необходимое железо от матери, даже если мать страдает от сидеропении и железодефицитной анемии; у плода не регистрируется дефицит железа.

При физиологической беременности мать передает плоду около 300 мг железа; уже на 37-й неделе беременности уровень железа в организме плода выше, чем у матери. Такое количество железа обеспечивает не только физиологические функции, но и формирование запасов железа, необходимых для послеродовой жизни.

Так как обеспечение плода железом зависит от утеро-плацентарного кровообращения, патологическая эволюция беременности приводит к первичной сидеропении у плода. Патология беременности, нарушения плацентарного кровообращения являются причинами сидеропении у плода и рождения с недостаточными запасами железа для послеродовой жизни.

*3. Ранний послеродовой период.* В условиях физиологической беременности ребенок рождается с положительным балансом железа и запасами железа. На момент рождения организм ребенка содержит около 70 мг железа/кг, в том числе железо в запасах. Сразу после рождения запасы у ребенка дополняются железом из физиологического гемолиза новорожденных. Таким образом, в ранний послеродовой период источниками железа для ребенка являются накопленные дородовые запасы, железо от гемолиза и материнское молоко. Дородовые запасы исчерпываются к 6 месяцам (у детей, родившихся преждевременно - уже к 3 месяцам); после этого у детей создается опасность сидеропении.

Потребности в железе у маленьких детей обусловлены неизбежными потерями железа с фекалиями, с линяющими клетками, использованием железа для синтеза гемоглобина, миоглобина, металлоэнзимов; таким образом, потребности железа увеличиваются одновременно с ростом организма. В первые 4 месяца послеродовой жизни достаточным источником железа для малыша является грудное

молоко; благодаря молочному белку – лактоферрину – грудное железо поглощается на 50%. Впоследствии ни материнское молоко, ни коровье молоко не удовлетворяют потребности ребенка в железе. Это требует дополнительных источников питания и создает предпосылки для установления дефицита железа у детей, что будет иметь серьезные последствия для роста и развития.

4. Подростковый возраст является критическим периодом для возникновения сидеропении - период бурного физического развития, в дополнение к этому циклические кровотечения у девочек возраста полового созревания. Потеря крови требуют дополнительного железа для восстановления (2 мл потерянной крови равно 1 мг Fe) – это становится распространенной причиной сидеропении у девочек - подростков.

5. *Хронические кровотечения* с некомпенсированными потерями железа распространены как у женщин (генитальные кровотечения), так и у мужчин (желудочно-кишечные, геморроидальные кровотечения) и являются причинами сидеропении.

6. *Нарушение всасывания экзогенного железа и мобилизации эндогенного железа.*

Абсорбция железа происходит в двенадцатиперстной и проксимальной части тощей кишки, но подготовка пищевого железа к усвоению начинается уже в желудке. В желудке гемоглобин и миоглобин (источники гемического железа) под действием пепсина распадаются на глобин и гем - последний переносится в двенадцатиперстную кишку, где всасывается в виде гема. Также в желудке под действием соляной кислоты железо извлекается из органических и неорганических растительных соединений; частично трехвалентное железо восстанавливается в двухвалентное под действием аскорбиновой кислоты.

Способствующими факторами усвоения железа являются соляная кислота, аскорбиновая кислота, пируват, фруктоза, сорбитол, этиловый спирт.

#### **Причины нарушения всасывания железа:**

- избыток железа в рационе образует в энтероцитах ферритин, который посредством внутриклеточной обратной связи подавляет синтез DMT-1 и блокирует всасывание железа; из-за этого дефицит железа не может быть ускорено восполнен мегадозами препаратами железа – эффект будет прямо противоположный;

- ахилия, ахлоргидрия, атрофический гастрит, рак желудка, гастрэктомия – при отсутствии соляной кислоты гемоглобин не деградирует, а неорганическое железо не ионизируется;
- дуоденит, илеит, атрофия слизистой оболочки кишечника – железо не всасывается;
- хронические воспалительные заболевания - гиперсекреция гепсидина (наряду с другими белками острой фазы) ингибирует DMT-1 – транспортера пищевого железа в энтероциты; при этом одновременно подавляется синтез ферропортина и гепестина, что препятствует выходу железа из энтероцитов и мобилизации эндогенного железа из запасов. При хронических воспалениях устанавливается парадоксальное явление: чрезмерное накопление железа в энтероцитах и макрофагах, параллельно с гипохромией и симптомами дефицита железа;
  - рахитизм: гипохромия является следствием накопления железа в костях (обмен Ca на Fe).

### **Проявления дефицита железа**

#### *а. Сидеропенический синдром.*

Сидеропения имеет долгую эволюцию до клинических проявлений, а биохимические проявления развиваются поэтапно.

Из общего содержания железа в организме около 4 г (20%) хранятся в органах макрофагальной системы в виде ферритина и гемосидерина (селезенка, печень, красный костный мозг). Меньшая часть железа находится в обращении в составе трансферрина. Поэтому, при снижении экзогенного потребления железа потребности будут покрываться эндогенным железом, которое исчерпывается постепенно.

Биохимические параметры метаболизма железа изменяются последовательно с эволюцией и углублением дефицита железа.

На ранней стадии ферритин является первым истощаемым запасом железа; уменьшение ферритина в крови является первым сигналом истощения запасов и дефицита железа, в то время как трансферрин и гемоглобин остаются на нормальном уровне. Объективных признаков дефицита железа нет: эритроциты и гемоглобин остаются на нормальных значениях, сохраняется нормальная ферментная активность. Это самый ранний этап – прелатентная стадия дефицита железа, но которая уже указывает на необходимость лекарственной компенсации дефицита железа для предотвращения развития явных нарушений. Биохимическая картина прелатентного дефицита: ферритин - низкий; трансферрин - норма;



железосвязывающая способность сыворотки - норма; насыщение трансферрина железом - норма; гемоглобин - норма.

На втором этапе, после истощения запасов ферритина, железо трансферрина является вторым истощающимся запасом железа; регистрируется снижение ферритина и трансферрина, но при сохранении нормального содержания гемоглобина. На данном этапе дефицит железа называется латентным и также требует лекарственной компенсации железа для профилактики анемии. Биохимическая картина латентного дефицита: ферритин - низкий; трансферрин - низкий; железосвязывающая способность сыворотки - увеличена; насыщение трансферрина железом - низкое; гемоглобин - норма.

На продвинутой стадии запасы железа в составе ферритина и трансферрина исчерпаны, что приводит к нарушению синтеза гемоглобина – устанавливается абсолютная сидеропения с клинической анемией. Поскольку гемолиз происходит со скоростью 1% эритроцитов ежедневно, а синтез гемоглобина продолжается из реутилизации железа, анемия не прогрессирует быстро. Биохимическая картина манифестного дефицита железа: ферритин - низкий; трансферрин - низкий; железосвязывающая способность сыворотки - увеличена; насыщение трансферрина железом - низкое; протопорфирин в эритроцитах повышен (указывает на недостаток железа и наличие протопорфина без железа); низкий гемоглобин.

Так как кишечное всасывание железа физиологически ограничено примерно 2 мг в день и незначительно увеличивается при анемии, лекарственное восстановление дефицита железа осуществляется физиологическими дозами железа, что требует длительного времени (в зависимости от степени сидеропении - в течение многих месяцев). Это диктует начало восстановления дефицита железа уже в прелатентной или латентной стадии путем скрининга беременных женщин, маленьких детей, подростков, чтобы предотвратить развитие явной анемии.

*2. Анемический синдром.* Дефицит железа влияет на синтез гемоглобина, а пролиферация и дифференциация эритроцитов продолжается вплоть до выраженного дефицита железа. Это определяет гематологическую картину железодефицитной анемии:

- эритроциты – на начальных стадиях анемии содержание эритроцитов нормально; из-за гипоксии увеличивается секреция эритропоэтина с интенсификацией эритропоэза – количество эритроцитов может даже увеличиться (полиглобулия);

- общий гемоглобин снижен; в зависимости от содержания гемоглобина, анемия I степени - Hb 90-120 г/л; II степени - 70-90 г/л; III степени - менее 70 г/л;
- хроматический индекс - степень насыщения эритроцитов гемоглобином (обычно принимается равным 0,9-1,1 у здоровых людей с нормальным содержанием эритроцитов и гемоглобина); при феррипривной анемии из-за непропорционального снижения гемоглобина по сравнению с сохранением квазинормального количества эритроцитов хроматический индекс снижается ниже 0,9 – гипохромная анемия.

Точной мерой насыщения эритроцитов гемоглобином является среднее содержание Hb в эритроците - ниже 29 пг (пикограмм,  $10^{-12}$  г) и средняя концентрация Hb в эритроцитах - ниже 33%;

- модификация морфологии эритроцитов: микроцитоз - эритроциты диаметром менее 7,5 мкм; анизоцитоз - наличие в циркуляции эритроцитов нормального размера и микроцитов; пойкилоцитоз - наличие в крови эритроцитов с отклонениями от нормальной формы двояковогнутого диска - в виде эллипса, сферы, серпа и т.д.; анулоцитоз – из-за гипохромии и неравномерного распределения гемоглобина в эритроцитах (преимущественно на периферии), центр эритроцитов кажется обесцвеченным, а эритроциты имеют кольцевидную форму; истинным параметром размеров эритроцитов – это средний объем эритроцита, равный в норме около 90 фл (фемтолитр,  $10^{-15}$  л).
- ретикулоциты в периферической крови - молодая форма эритроцитов; эритроциты выходят из красного мозга на стадии ретикулоцитов (эритроциты, которые окончательно созревают в костном мозге, подвергаются лизису – неэффективный эритропоэз); циркулирующие в крови ретикулоциты в течение 48 часов преобразуются в зрелые эритроциты; количество ретикулоцитов является мерой интенсивности регенерации эритроидного ряда; так как пролиферация эритробластов при дефиците железа не нарушается, содержание ретикулоцитов при дефиците железа долгое время остается нормальным около 1% (10‰ - промиле);
- эритропоэтин увеличивается пропорционально гипоксемии;
- плотность рецепторов для трансферрина на эритрокариоцитарных клетках увеличивается; это явление имеет компенсаторное значение, поскольку оно увеличивает фиксацию трансферрина и захват железа; отражением этого процесса является увеличение концентрации растворимых трансферриновых рецепторов в крови;

- протопорфирин в эритроцитах увеличивается, так как при отсутствии железа протопорфирин остается неиспользованным для синтеза гемоглобина;
- гемосидерин в красном костном мозге является запасом железа, необходимым для синтеза гемоглобина – при сидеропении отсутствует;
- билирубин в крови - из-за гипохромии эритроцитов при гемолизе высвобождается меньше гемоглобина и, соответственно, меньше синтезируется билирубина - устанавливается гипобилирубинемия.

*3. Гипоксический синдром.* Из-за уменьшения содержания гемоглобина снижается кислородная емкость крови и возникает гипоксемия. Кислородная емкость крови – это общее количество кислорода, транспортируемое гемоглобином (количество кислорода, растворенного в свободной форме в плазме, ничтожно мало). Каждый грамм гемоглобина фиксирует максимум 1,34 мл кислорода; соответственно, общее количество гемоглобина в крови равное около 700 г фиксирует около 1 л кислорода. Уменьшение гемоглобина значительно снижает емкость кислорода. Так, при анемии III степени с содержанием гемоглобина равным 70 г/л кислородная емкость крови уменьшается вдвое - возникает анемическая гипоксия.

Проявления гипоксии состоят из типичных компенсаторных реакций дыхательной, сердечно-сосудистой систем, системы крови, клеток, обмена веществ.

Патологические явления при анемии проявляются вредными последствиями гипоксии: усталостью, астено-вегетативным синдромом, парестезией, отеком на ногах, миастенией, физической и умственной отсталостью, головокружением, синкопами, головной болью), гипоксическими, ацидотическими и окислительными клеточными поражениями.

*4. Эпителиальный синдром* проявляется сухой кожей (ихтиоз), ломкими ногтями, койлонихией (ложкообразные ногти), угловым стоматитом, голубыми склерами (при дефиците железа не гидроксилируются пролин и лизин, необходимые для синтеза коллагена – происходит истончение склер, через которые просвечивает сосудистое хориоидальное сплетение).

5. *Желудочно-кишечный синдром*: кариес, анацидный атрофический гастрит, боковой атрофический глоссит, сидеропеническая дисфагия, изменение вкуса с кулинарными извращениями (пациенты едят несъедобные вещества – землю, мел, крупу, сырое тесто).
6. *Синдром метаболической интоксикации*: усталость, потеря памяти, головная боль, субфебрилитет.
7. *Синдром иммунодефицита* – предрасположенность к респираторным инфекциям, снижение естественного иммунитета (лизоцим, комплемент), специфический иммунодефицит – уменьшается IgA.
8. *Дисэнергетический синдром* обусловлен недостаточной активностью металлоэнзимов: цитохромоксидазы, оксидаз, цитохромов, каталазы, пероксидазы, NO-синтазы, цитохрома р450 и т.д. ; происходит нарушение пролиферации, роста и активности клеток, включая эритроциты, возникают дистрофические и атрофические процессы.

#### **Терапевтические принципы:**

1. восстановление дефицита железа назначением пероральных препаратов железа;  
парентеральное введение препаратов железа вызывает окислительный стресс и используется в исключительных случаях под строгим контролем;
2. критерий восстановления гомеостаза железа – не восстановление гемоглобина, а пополнение запасов железа – нормализация трансферрина и ферритина;
3. гемотрансфузия – только по жизненным показаниям; гемотрансфузия создает избыток железа в крови, который подавляет ассимиляцию железа.

## **IV. Патопфизиология дефицита цианкобаламина/фолиевой кислоты и мегалобластной анемии**

В 1855 году английский врач *Thomas Addison*, а в 1872 году немецкий врач *Michael Anton Biermer* описали болезнь в то время неизвестную, которую они назвали пернициозной анемией (злокачественная, неизлечимая), потому что не было никаких лекарств для лечения и болезнь имела фатальный исход. Позже было предложено, чтобы это заболевание называлось анемией *Addison- Biermer*.

В 1926 году *George Hoyt Whipple, George Richards Minot și William Parry Murphy* установили, что анемия названная злокачественной лечится сырой печенью, которая содержит вещество, названное внешним антианемическим фактором (позже этот фактор идентифицировали как цианкобаламин, витамин В<sub>12</sub>) и что в основе болезни лежит неспособность желудка синтезировать мукопротеин, необходимый для всасывания витамина В<sub>12</sub> в кишечнике и названный впоследствии внутренним антианемическим фактором. В 1934 году авторам была присуждена Нобелевская премия.

Впоследствии витамин В<sub>12</sub>, который был идентифицирован как цианкобаламин, был извлечен из печени животных (1 г кобаламина получили из одной тонны печени) или из сточных вод (кобаламин, синтезированный гнилостными бактериями). Следующим этапом стала успешная попытка химического синтеза кобаламина, которая заняла 10 лет исследований 100 учеными из 20 стран.

В настоящее время кобаламин получается в промышленных масштабах путем микробиологического синтеза с использованием штаммов мутантных микроорганизмов, который полностью удовлетворяет потребности медицины. Таким образом, анемия потеряла свою фатальность, полностью излечима и больше не называется злокачественной, а В<sub>12</sub>-дефицитной анемией или согласно гематологической картине – мегалобластной анемией. Позже было установлено, что не все проявления анемии зависят от дефицита витамина В<sub>12</sub>; некоторые клинические проявления зависят от биохимического тандема витамина В<sub>12</sub>с фолиевой кислотой.

### **Биологическая роль витамина В<sub>12</sub> и фолиевой кислоты.**

Витамин В<sub>12</sub> (цианобаламин) в биохимическом тандеме с фолиевой кислотой играет важную роль в пролиферации клеток, созревании нейронов и в энергетическом метаболизме.

Резюме кооперативного биохимического действия кобаламина и фолиевой кислоты можно описать в следующей последовательности.

После всасывания из кишечника в кровь и впоследствии в клетках присутствуют цианкобаламин и производная фолиевой кислоты 5-метилтетрагидрофолат. 5-метилтетрагидрофолат выступает донором метильных групп, а кобаламин выступает в качестве переносчика метильной группы, полученной от фолиевой кислоты на гомоцистеин, который, принимая метильную группу, превращается в метионин, необходимый для синтеза ДНК и, в дальнейшем, для пролиферации клеток. Эти биохимические реакции протекают в следующей последовательности:

- 1) кобаламин + метилтетрагидрофолат = тетрагидрофолат + метилкобаламин;
- 2) метилкобаламин + гомоцистеин = кобаламин + метионин;
- 3) метионин - синтез тимидина - синтез ДНК - репликация ДНК - пролиферация клеток.

При отсутствии кобаламина и фолиевой кислоты репликация ДНК не происходит и размножение клеток блокируется. В частности, страдают ткани с непрерывной регенерацией: гематопозитические органы, эпителий, сперматогенез. Вторым вредным эффектом, наряду с дефицитом ДНК, является накопление неиспользованного субстрата в биохимической реакции - гомоцистеина с токсическим действием.

Другим специфическим биохимическим эффектом свойственным только цианкобаламину является катализ синтеза жирных кислот и миелина из метилмалонил-СоА. Последствия дефицита витамина В<sub>12</sub> для этой реакции проявляются следующими патологическими эффектами:

- 1) нарушение синтеза жирных кислот - дефицит жирных кислот и дефицит энергии;
- 2) дефицит миелина - демиелинизация нейронов;
- 3) избыток неиспользованной метилмалоновой кислоты – токсический эффект.

Метаболический цикл усвоения витамина В<sub>12</sub> организмом имеет некоторые критические моменты, которые могут стать причиной его дефицита и развития анемии.

### **Метаболический цикл витамина В<sub>12</sub> в организме**

1. Экзогенным источником цианкобаламина является исключительно пища животного происхождения – печень, мясо, яйца; вегетарианская/веганская диета является одной из причин гиповитаминоза В<sub>12</sub>;
2. цианкобаламин из состава пищи в полости рта связывается со специальным белком, секретлируемым слюнными железами - белком R (быстрый), транскобаламином I. В ассоциации с этим белком цианкобаламин защищен от деградации соляной кислотой в желудке, что позволяет переход через желудок в двенадцатиперстную кишку в целостности; отсутствие этого белка при патологии слюнных желез может быть причиной дефицита цианкобаламина;

3. в желудке цианкобаламин в ассоциации с транскобаламином не претерпевает никаких изменений, однако нормальная активность желудка важна для последующего усвоения витамина в подвздошной кишке:

а) соляная кислота и пепсин экстрагируют витамин из пищи;

б) париетальные желудочные клетки выделяют гастромукопротеин – внутренний антианемический фактор (фактор *Castle*), который имеет важное значение для всасывания витамина в подвздошной кишке;

4. в двенадцатиперстной кишке, в щелочной среде, под действием трипсина цианкобаламин отделяется от белка R и ассоциируется с внутренним фактором *Castle* поступившим из желудка в составе пищевого комка. Биологическое значение связывания цианкобаламина с внутренним фактором *Castle* заключается в следующем:

а) фактор *Castle* защищает цианкобаламин от потребления кишечной микрофлорой и эндопаразитами;

б) фактор *Castle* является специфическим лигандом для рецепторов энтероцитов в проксимальной подвздошной кишке (кубилин) - цианкобаламин в ассоциации с фактором *Castle* распознается, фиксируется энтероцитарной мембраной и переносится в энтероцит;

5. из энтероцита цианкобаламин высвобождается в кровь, где он воспринимается специальным транспортным белком - транскобаламином II; биологическое значение транскобаламина II заключается в том, что он является лигандом для специфических рецепторов на мембране эритрокариоцитов, эпителиоцитов, сперматогоний - таким образом цианкобаламин распознается и передается без потерь клеткам потребляющим цианкобаламин;

6. большая часть цианкобаламина хранится в печени; в здоровой печени запасы витамина  $B_{12}$  составляют около 3 мг, что, при ежедневных потребностях в 2-3 мкг, покрывает потребности организма сроком до 5 лет, а патология печени и невозможность депонировать и хранить витамин  $B_{12}$  могут быть причиной его дефицита.

***Метаболический цикл фолиевой кислоты (витамин B9; птероилглутаминовая кислота)***

Полиглутамическая форма фолиевой кислоты присутствует в зеленых листовых овощах и животных белках. Фолиевая кислота всасывается в двенадцатиперстной и проксимальной тощей кишке. В энтероцитах под действием фермента дигидрофолатредуктазы превращается в 5-метилтетрагидрофолат, который в крови связывается с специфическими альбуминами и транспортируется к клеткам. 5-метилтетрагидрофолат отдает метильную группу кобаламину, которую затем он передает гомоцистеину, превращая цистеин в метионин; метионин, в свою очередь, участвует в синтезе тимидина и последовательно ДНК.

Печень содержит запас фолиевой кислоты только на 3-4 месяца. У детей дефицит фолиевой кислоты может возникнуть из-за высоких потребностей и недостаточного потребления – в результате мегалобластная анемия у детей может возникнуть уже в течение 16-130 дней после установления дефицита фолиевой кислоты.

### **Этиология и патогенез дефицита цианкобаламина**

1. Недостаточное поступление с пищей. Ни одно высшее животное не обладает способностью синтезировать цианкобаламин и зависит от экзогенных источников витамина. Источниками витамина В<sub>12</sub> для человека являются исключительно продукты животного происхождения - яйца, мясо, печень, рыба. (В растительности цианкобаламин отсутствует; полигастричные травоядные животные - крупный рогатый скот, овцы - получают витамин В<sub>12</sub>, синтезированный симбионтной микрофлорой из преджелудков, а моногастричные травоядные - лошади, кролики – получают витамин В<sub>12</sub>, синтезированный микрофлорой в толстой кишке). Риск дефицита витамина В<sub>12</sub> существует у веганов (строгая вегетарианская диета), и этим людям рекомендуются пищевые добавки содержащими цианкобаламин.
2. Повышенная потребность организма: беременность, раннее детство, период полового созревания.
3. Повышенные потери витамина - паразиты и кишечная флора, которые потребляют цианкобаламин (например, лентец широкий - *Diphyllobothrium latum*).



4. Патология слюнных желез - недостаток белка транскобаламина I, выделяемого слюнными железами - витамин  $B_{12}$  незащищенный транскобаламином I деградируется соляной кислотой в желудке.
5. Патология желудка:
- a) ахлоргидрия - при отсутствии соляной кислоты из пищи не высвобождается  $B_{12}$ ;
  - b) атрофический гастрит, отсутствие париетальных клеток, секретирующих внутренний антианемический фактор;
  - c) аутоиммунный гастрит – аутоантитела против париетальных клеток желудка или против внутреннего фактора (при отсутствии внутреннего фактора витамин  $B_{12}$  не распознается энтероцитами и не всасывается).
6. Патология поджелудочной железы (хронический панкреатит): отсутствие протеаз поджелудочной железы, которые высвобождают цианкобаламин из комплекса с транскобаламином I – в результате цианкобаламин не связывается с внутренним фактором, не распознается рецепторами энтероцитов и не всасывается.
7. Патология подвздошной кишки - резекция, илеит, наследственный дефицит рецепторов на энтероцитах (кубилин) - происходит нарушение эндоцитоза комплекса  $B_{12}$  +внутренний фактор в энтероцит.
8. Патологии печени с истощением запасов витамина  $B_{12}$  и риском гиповитаминоза.
9. Отсутствие транскобаламина II (белок, секретируемый печенью) - наследственный дефицит транскобаламина II, патология печени - нарушается транспорт витамина  $B_{12}$  кровью - в результате цианкобаламин теряется, не распознается мембранными рецепторами эритрокариоцитов.
10. Патология клеток, потребляющих  $B_{12}$  – наследственное отсутствие специфических рецепторов для витамина  $B_{12}$ ; нарушается фиксация и включение витамина в клетки.

11. Закись азота ( $N_2O$ , «веселящий газ», используемый в хирургической анестезии) - расщепляет витамин  $B_{12}$  в печени - анестезия с  $N_2O$  приводит к истощению запасов витамина, что проявляется полинейропатией.

### **Этиология дефицита фолиевой кислоты**

Важным источником фолиевой кислоты являются съедобные зеленые листовые овощи (не обработанные теплом), помидоры, а также мясо, дрожжи, молоко. Ежедневные потребности - около 200 мкг фолиевой кислоты.

Причины дефицита фолиевой кислоты:

1. Алиментарный дефицит (редко);
2. алкоголизм;
3. повышенные потребности: беременность, детство;
4. резекция тощей кишки, где происходит всасывание фолиевой кислоты;
5. дефицит тиамина;
6. Антагонисты фолиевой кислоты (метотрексат).

### **Проявления гиповитаминоза $B_{12}$ и дефицита фолиевой кислоты**

Пролиферация клеток требует участия витамин  $B_{12}$  и фолиевой кислоты - этот процесс нарушается при отсутствии одного из компонентов – витамина  $B_{12}$ , фолиевой кислоты либо обоих одновременно; в то же время метаболический эффект зависит только от витамина  $B_{12}$  и не требует фолиевой кислоты.

Проявления дефицита цианкобаламина и фолиевой кислоты включают в себя несколько кардинальных синдромов: анемия, атрофия пищеварительного тракта и демиелинизация нервных структур. Анемия и атрофия пищеварительного тракта вызваны отсутствием цианкобаламина либо фолиевой кислоты; дегенерация нервных структур и нарушения энергетического обмена связаны только с дефицитом цианкобаламина (при отдельном дефиците фолиевой кислоты, но при наличии витамина  $B_{12}$  клеточный

митоз нарушается, но это не влияет на энергетический обмен и не проявляется нейрогенная симптоматика).

**1. Анемический синдром.** Основным клиническим проявлением дефицита цианкобаламина и фолиевой кислоты является мегалобластная анемия.

Цианкобаламин и фолиевая кислота незаменимы для нормального клеточного цикла. Нормальный клеточный цикл у эукариотических клеток проходит в два периода: период роста клеток (фаза G1, S и G2) и период митоза (фаза М). В интерфазе, которая предшествует митотической фазе происходит подготовка клеток к делению: идет репликация (синтез и дублирование ДНК), транскрипция (синтез мРНК из специфических последовательностей ДНК) и трансляция (синтез специфических белков). После этого клетка готова к фазе М - митозу.

При отсутствии цианкобаламина и/или фолиевой кислоты нет репликации ДНК и клеточный цикл блокируется в фазе G2 – не происходит деления клеток. Таким образом, происходит разобщение двух процессов: роста и деления – клетки-предшественники растут, но не делятся; устанавливается диспропорция между ядром в состоянии застоя и развивающейся цитоплазмой. Результатом этой диссоциации является увеличение объема клеток – мегалоцитоз.

Что касается эритропоэза дефицит цианобаламина и фолиевой кислоты проявляется приостановкой пролиферации эритропоэтических унипотентных клеток - проэритробласта. При нормальном эритропоэзе проэритробласт посредством 4 последовательных делений образует 16 зрелых эритроцитов (нормоцитов), что требует 16-кратного увеличения количества ДНК и определенного количества цианкобаламина и фолиевой кислоты. При дефиците кобаламина и фолиевой кислоты происходит только рост и созревание цитоплазмы эритробласта, в то время как ядро остается неизменным; эритробласт не делится и порождает только один эритроцит.

*Гематологическая картина при B<sub>12</sub>-фолиеводефицитной анемии:*

а) эритроциты: количество эритроцитов опускается ниже  $4 \times 10^{12} / \text{L}$  (достигает  $1 \times 10^{12} / \text{L}$ ) – анемия с выраженной гемодилуцией - гематокрит ниже 35%. Изменяется морфология эритроцитов - в циркуляции присутствуют крупные эритроциты - макроциты (диаметр 12 - 14 мкм), мегалоциты (диаметр более 14 мкм); средний объем эритроцитов - более 120 фл (фемтолитр,  $10^{-15}$  л) - норма - 90 фл; изменена и форма

эритроцитов - вместо нормальной формы двояковогнутого диска эритроциты имеют форму двояковыпуклого диска - овалоцита; в эритроцитах обнаруживается базофильная зернистость - остатки органелл, остатки ядра (тельца *Howell-Jolli*, кольца *Cabot*); уменьшается количество ретикулоцитов;

b) гемоглобин опускается ниже 120 г/л; так как синтез гемоглобина не зависит от витамина В<sub>12</sub>, гемоглобин уменьшается в меньшей степени по отношению к снижению эритроцитов, поэтому устанавливается гиперхромия эритроцитов - среднее содержание Hb в эритроците превышает 35 пг (пикограммы, 10<sup>-12</sup> г; норма - 29 пг); средняя концентрация гемоглобина в эритроците нормальная - около 34% - и не может повышаться, так как концентрация гемоглобина в нормальных эритроцитах находится на уровне насыщения; хроматический индекс - выше 1,1 (норма - 0,9 - 1,1) - гиперхромная анемия;

c) количество лейкоцитов уменьшается, в основном, за счет нейтрофилов с преобладанием полисегментированных нейтрофилов («старые» нейтрофилы, которые содержат 5 и более долек ядра);

d) уменьшается и регенерация мегакариоцитов – устанавливается тромбоцитопения;

e) красный костный мозг: увеличивается количество миелокариоцитов со снижением количества эритрокариоцитов; многочисленные мегалобласты; асинхронизм созревания ядра и цитоплазмы: молодое ядро, зрелая цитоплазма; обнаружена ранняя гемоглобинизация эритрокариоцитов;

f) гипергемолиз с синдромом желтухи - большие размеры и эллипсоидная форма снижают пластичность эритроцитов, из-за чего они задерживаются в узких капиллярах селезенки и фагоцитируются макрофагами - эритроциты преждевременно удаляются из кровообращения путем внутриклеточного гемолиза, срок циркуляции эритроцитов уменьшается в 2-3 раза, возникает гипергемолиз и гипербилирубинемия с непрямым билирубином. Гипергемолиз приводит к гиперферемии - железо в сыворотке крови увеличивается более 170 мкг%, что вызывает окислительный стресс. Клинически отмечается сплено-гепатомегалия.

Согласно гематологическим показателям, В<sub>12</sub>-фолиеводефицитная анемия имеет следующие характеристики: мегалобластная, гиперхромная, гипорегенеративная.

*Биохимия крови:*

1. повышается активность лактатдегидрогеназы (LDG -2 изоформа специфическая для гематопозитических клеток) - результат гипергемолиза, в том числе внутрисосудистого;
2. при дефиците витамина В<sub>12</sub> увеличивается гомоцистеин и метилмалоновая кислота с токсическим эффектом;
3. при дефиците только фолиевой кислоты (без недостатка митамин В<sub>12</sub>) увеличивается только гомоцистеин, а концентрация метилмалоновой кислоты остается нормальной. (Нормальный уровень метилмалоновой кислоты исключает дефицит кобаламина!).
4. гипербилирубинемия с неконъюгированным билирубином (гемолитическая желтуха).

**В. Гастроэнтерологический синдром** проявляется тотальной проксимо-дистальной атрофией эпителия пищеварительного тракта – от полости рта до терминальных сегментов пищеварительного тракта.

1. Атрофия и воспаление слизистой оболочки полости рта и языка – атрофический стоматит, глоссит *Hunter* – атрофия сосочков языка, язык красный, полированный;
2. атрофия слизистой оболочки пищевода;
3. атрофия и воспаление слизистой оболочки желудка – атрофический гастрит, гипосекреция желудка (до гистамин-резистентной ахилии);
4. аутоантитела против париетальных клеток с недостаточным синтезом внутреннего антианемического фактора и ингибцией протонного насоса - возникает ахлоргидрия, гипорексия;
5. аутоантитела против внутреннего антианемического фактора, который блокируют фиксацию витамина В<sub>12</sub> - в результате витамин потребляется кишечной микрофлорой и паразитами; витамин не фиксируется энтероцитами и не всасывается;

6. атрофия слизистой оболочки тонкого кишечника с мальдигестией, малабсорбцией и малнутрицией;

7. гепатомегалии, спленомегалия.

**С. Нейропсихический синдром** при дефиците цианкобаламина обусловлен нарушением синтеза миелина и интоксикацией гомоцистеином и метилмалоновой кислотой. (При отдельном дефиците фолиевой кислоты при наличии витамина В12 нейропсихический синдром отсутствует).

Проявления нейропсихического синдрома:

1. фуникулярный миелоз - демиелинизация и дегенерация нервных волокон трактов спинного мозга с нарушением передачи нервных импульсов: наблюдаются сенсорные (парестезия, онемение) и двигательные нарушения (уменьшение сухожильных рефлексов, миастения конечностей, уро-генитальные расстройства - энурез, энкопрез);

г) демиелинизация кортико-спинального пирамидального тракта с нарушением произвольных движений;

h) психические расстройства - психоз, слабоумие; у лиц пожилого возраста – депрессия.

Диагноз основан на клинических и биохимических проявлениях (увеличение метилмалоновой кислоты, гомоцистеина). Золотым стандартом является выявление низкого уровня витамина В<sub>12</sub> в крови.

**Лечение:** введения синтетического препарата витамина В12.

Гипердозировка витамина В<sub>12</sub>: ежедневное потребление кобаламина в дозах выше 55 мкг увеличивает риск развития рака легких примерно на 40%.

**Критерии дифференциации дефицита витамина В12и фолиевой кислоты:**

<b>Симптомы</b>	<b>Дефицит В<sub>12</sub></b>	<b>Дефицит фолиевой кислоты</b>
<b>Ахлорхидрия</b>	присутствует	отсутствует

<b>Аутоантитела</b>	присутствуют	отсутствуют
<b>Атрофический гастрит</b>	присутствует	отсутствует
<b>Риск развития рака желудка</b>	высокий	нет
<b>Гиперсегментированные нейтрофилы</b>	присутствуют	присутствуют
<b>Средний объем эритроцитов</b>	увеличен	увеличен
<b>Нейрологический синдром</b>	присутствует	отсутствует
<b>Панцитопения</b>	присутствует	присутствует
<b>Гомоцистеин</b>	повышен	повышен
<b>Метилмалоновая кислота</b>	повышена	норма
<b>Гастрин</b>	повышен	норма

## V. Патофизиология гемолиза

Эритродиерез (лат., erythrodiæresis); синоним - гемолиз (с греческого: *haima* — кровь; *lysis* — растворение, распад) - физиологический процесс разрушения и выведения из циркуляции эритроцитов с завершённым жизненным циклом либо с аномальной структурой. («Смерть» эритроцитов не является верным понятием, так как эритроциты не могут даже считаться живой биологической единицей). Следует отметить, что термин эритродиерез используется только для обозначения физиологической смерти эритроцитов, в то время как гемолиз может означать как физиологический, так и патологический процесс.

**Эритродиерез. Физиологический гемолиз.**

При средней продолжительности циркуляции эритроцитов равной 120 дням, ежедневно из обращения удаляется около 0,8% от общего количества эритроцитов, а в течение 120 дней обновляются все циркулирующие эритроциты.

Физиологически 90% старых эритроцитов разрушаются макрофагами селезенки, печени, красного костного мозга, лимфоидных органов (внутриклеточный гемолиз); 10% эритроцитов разрушаются непосредственно в сосудистом русле – внутрисосудистый гемолиз.

Патологический гемолиз – это удаление из циркуляции нормальных эритроцитов до истечения жизненного цикла - 120 дней.

**Внутриклеточный физиологический** гемолиз осуществляется макрофагами путем распознавания и отбора старых эритроцитов. Эритроциты являются акариотическими клетками (лишены ядра и других клеточных органелл – митохондрий, шероховатого эндоплазмического ретикулума, рибосом). Отсутствие этих органелл лишает эритроциты способности к пролиферации, синтеза структурных белков и пластической реконструкции, ресинтеза ферментов, необходимых для энергогенетических и антиоксидантных метаболических реакций, для функционирования ионных насосов и поддержания формы двояковогнутого диска, что обеспечивает эритроциту пластичность, эластичность и устойчивость к механическим деформациям. Ферменты и пластические структуры, полученные эритроцитом «при рождении», исчерпываются в течение 120 дней циркуляции и не могут быть восстановлены.

При жизни эритроциты подвергаются механическим деформациям: за 1 минуту нормальный эритроцит диаметром 7,5 мкм проходит дважды через капилляры органов макрофагальной системы диаметром 2-4 мкм, а 10% эритроцитов проходящие через синусоидные капилляры селезенки могут пройти их только через фенестры синусоида с размерами 0,5-0,7 мкм. В течение жизни эритроциты проходят около 150-200 км, в том числе через узкие капиллярные пространства. Эти условия кровообращения подвергают эритроциты механической деформации, в синусоидах селезенки эритроциты подвержены действию кислой, гипоксической, гипогликемической среды. Эти препятствия могут быть преодолены только молодыми эритроцитами с необходимыми пластическими и энергетическими запасами.



Поскольку пластические и энзиматические ресурсы к концу периода жизни исчерпаны, эритроцит не может поддерживать двояковогнутую форму, происходит проникновение ионов натрия и воды, гипергидратация, изменяется форма и размеры эритроцитов. Кроме того, истощение антиоксидантных ферментов подвергает эритроциты окислительному стрессу. Эритроцит становится выпуклым, теряет пластичность и задерживается в узких синусоидах органов макрофагальной системы, где фагоцитируется макрофагом. Кроме того, старые эритроциты экспрессируют на мембране антиген старости («антиген старых клеток»), распознаемый макрофагами естественными рецепторами для этих антигенов – «старые» эритроциты распознаются и фагоцитируются макрофагом.

Таким образом около 90% эритроцитов устраняются путем внутриклеточного гемолиза макрофагами.

### **Механизмы внутриклеточного гемолиза.**

Фагоцитируемый макрофагом эритроцит образует фагосому, которая сливается с лизосомами, образуя фаголизосому. Под действием лизосомальных ферментов происходит последовательная деградация эритроцитов: разрушение мембраны, расщепление гемоглобина на гем и глобин; глобин расщепляется на аминокислоты, которые используются повторно. Железо извлекается из гема и хранится в макрофаге в виде ферритина и гемосидерина, которые используются по мере необходимости (повторно используемое эндогенное железо покрывает около 90% суточных потребностей железа). Гем без железа (тетрапирроловое кольцо) под действием гемоксигеназы превращается в биливердин с линейной структурой, а впоследствии под действием биливердинредуктазы превращается в билирубин с циклической структурой. Билирубин, синтезированный в макрофаге, является микромолекулярным веществом, плохо растворим в воде и токсичен своим антиоксидантным действием (антиоксидантный эффект билирубина превышает эффект альфа-токоферола, признанного в качестве антиоксидантного стандарта). По этим причинам билирубин, образованный в макрофаге и высвобождаемый в кровь, ассоциируется с транспортным альбумином и называется альбумин-связанный билирубин (другие названия - свободный билирубин, неконъюгированный билирубин, непрямой билирубин).

Билирубин, связанный с альбумином, приобретает новые свойства, которые позволяют свободную циркуляцию в крови: комплекс макромолекулярный, что предотвращает трансвазацию в ткани и фильтрацию через почечный фильтр; стабилен в водной среде; не оказывает токсичности. В то же время,

альбумин является специфическим лигандом для рецепторов на мембране гепатоцитов, что обеспечивает селективный захват билирубина печенью (в синусоидах печени плазма крови имеет прямой контакт с гепатоцитами). Следует отметить, что способность альбумина фиксировать билирубин в несколько раз превышает его количество, образованного в условиях физиологического гемолиза; при интенсивном патологическом внутриклеточном гемолизе образуется большое количество билирубина, которое превышает пектическую емкость альбумина (происходит насыщение), а избыток билирубина остается по-настоящему свободным, не связанным с альбумином - именно этот билирубин выходит из сосуда в интерстиций, вызывая желтуху и токсичность в головном мозге - так называемая ядерная желтуха. Поскольку билирубин обладает антиоксидантным действием, ингибирование окислительных процессов в цикле *Crebs* создает энергодифицит нейронов – возникает билирубиновая энцефалопатия.

Гепатоциты захватывают альбумин-билирубин через специфические мембранные рецепторы, отщепляют билирубин от альбумина, и с помощью транспортных систем (белок Y - лигандин) транспортируют в микросомы, где билирубин конъюгируется с глюкуроновой кислотой - процесс катализируется ферментом уридилдифосфат-глюкуронилтрансфераза с образованием нового соединения – конъюгированного билирубина – моноглюкуронид билирубин. Это соединение называется конъюгированный билирубин или прямой билирубин с новыми свойствами: микромолекулярное, водорастворимое соединение с низкой токсичностью. Из микросом конъюгированный билирубин переносится через аппарат Голджи к боковому полюсу гепатоцита, откуда он выделяется в капилляры желчной системы (физиологически прямой билирубин не возвращается в кровь, а обнаруженные в крови около 15% прямого билирубина считаются биохимическим артефактом).

Конъюгированный билирубин в 12-перстной кишке под действием микробных ферментов деконъюгируется, а образовавшийся свободный билирубин под действием микробных дегидрогеназ трансформируется последовательно в мезобилиноген, уробилиноген. Уробилиноген в тонком кишечнике всасывается в кровь и через *v. porta* возвращается в печень, которая превращает его в билирубин и возвращает в двенадцатиперстную кишку. Из-за этого лишь малая часть уробилина проникает в системное кровообращение, достигает почек и выделяется с мочой - физиологическая уробилинурия.

Важным патогенетическим моментом в желтухе новорожденных является тот факт, что двенадцатиперстная кишка новорожденных стерильна, отсутствуют микробные ферменты, из-за чего

билирубин остается конъюгированным, не превращается в уробилиноген, а будучи водорастворимым всасывается в кровь – наступает желтуха новорожденных с прямым билирубином.

Уробилиноген в толстой кишке превращается в стеркобилин и удаляется с фекалиями; лишь небольшая часть стеркобилина всасывается в геморроидальные вены и поступает в системное кровообращение в обход печени и фильтруется почками - возникает физиологическая стеркобилинурия (совокупно уробилин и стеркобилин в моче называют уробилиноидами). Это завершает нормальный биохимический цикл гемоглобина, высвобождаемого при внутриклеточном физиологическом гемолизе.

### **Внутрисосудистый физиологический гемолиз.**

Как уже упоминалось выше, 10% эритроцитов, подвергаемых физиологическому лизису, разрушаются непосредственно в сосудистом русле с специфическим циклом метаболизма высвобождаемого гемоглобина. Внутрисосудистый лизис эритроцитов является результатом механических деформаций в кровотоке, действия реологических факторов, гипоксии, плазматических осмолярных вариаций и др. При внутрисосудистом физиологическом гемолизе высвобождается около 200 мг гемоглобина ежедневно. Гемоглобин- тетрамер с молекулярной массой, равной 64 кДа в сосудистом русле распадается на 2 димера с мМ 32 кДа, что позволило бы фильтрацию в почечном клубочке (проницаемость гломерулярных капилляров составляет около 70 кДа). В физиологических условиях гемоглобин, высвобождаемый при внутрисосудистом гемолизе, не появляется в моче из-за естественных защитных механизмов.

Первый естественный защитный механизм заключается в том, что гемоглобин вышедший из эритроцитов в плазму крови (гемоглобинемия) связывается с специфическим белком - гаптоглобином (альфа-2-глобулин) с образованием комплекса с молекулярной массой 140-320 кДа, который превышает проницаемость почечного фильтра и не фильтруется в первичную мочу. В то же время гаптоглобин является лигандом для натуральных специфических рецепторов на мембране макрофагов, которые захватывают комплекс гемоглобин+гаптоглобин и деградируют гемоглобин по описанной выше схеме с образованием билирубина.

Второй защитный механизм заключается в том, что гемоглобин в плазме частично может быть расщеплен на гем и глобин; гем связывается с специфическим белком - гемопексином, который впоследствии также фагоцитируется и деградируется макрофагами.

Организм обладает также третьим защитным механизмом при гемоглобинемии. Даже если гемоглобинемия превышает пектическую способность гаптоглобина, а избыток гемоглобина фильтруется через гломерулярный фильтр, эпителиоциты почечных канальцев захватывают гемоглобин из первичной мочи и преобразовывают его в билирубин, а железо хранится в виде ферритина и гемосидерина – при слущивании этих эпителиоцитов наблюдается гемосидеринурия.

В физиологических условиях конечный продукт гемолиза в обоих случаях – и внутриклеточном и внутрисосудистом - это билирубин, а в крови не циркулирует свободный гемоглобин, в окончательной моче нет гемоглобина.

Резюмируя вышеизложенное следует отметить, что количественный гомеостаз системы эритроцитов поддерживается путем уравнивания эритродиереза с процессом регенерации эритроцитов в красном костном мозге. Количество эритроцитов, изъятых из кровообращения, заменяется таким же количеством регенерировавших эритроцитов. В этих условиях и другие параметры поддерживаются на постоянном уровне: гемоглобинемия – отсутствует; гемоглобинурия - отсутствует; концентрация непрямого билирубина, уробилиноидных тел в моче, стеркобилина в фекалиях – норма.

### **Патологический гемолиз**

Патологическим является гипергемолиз – превышение количества эритроцитов, изъятых из кровообращения (и, соответственно, сокращение периода циркуляции эритроцитов менее 120 дней) или удаление из кровообращения аномальных эритроцитов. Патологический гемолиз осуществляется двумя патогенетическими механизмами: внутриклеточным и внутрисосудистым гемолизом с выработкой тех же биохимических продуктов.

### **Этиология и патогенез патологического внутрисосудистого гемолиза**

Внутрисосудистый гемолиз вызывается различными патогенными факторами.

1. *Механический гемолиз (травматический)* - синдром фрагментации эритроцитов. Эритроциты, подверженные механическому действию в сосудистом русле, могут быть полностью разрушены с выходом гемоглобина в плазму либо только частично фрагментированы с деформацией ("ампутация" эритроцитов) – образуются шизоциты, фрагменты эритроцитов в виде микроцитов, полумесяца, треугольной формы, которые удаляются органами макрофагальной системы. Травматизация эритроцитов происходит в турбулентных потоках крови, в сосудистых аневризмах, при имплантации сосудистых и клапанных протезов. Даже долгая ходьба по неровной местности приводит к травме эритроцитов ("маршевая гемоглобинемия"). Распад эритроцитов в сосудистом русле приводит к гемоглобинемии со всеми последствиями.

2. *Осмотический гемолиз.* Так как осмолярность плазмы даже в физиологических условиях варьирует в зависимости от питьевого и солевого режима, эритроциты должны обладать осмотической устойчивостью в определенном диапазоне осмолярности. Осмотическая устойчивость – это способность эритроцитов поддерживать свою жизнеспособность в широком диапазоне внеклеточной осмолярности: естественная осмотическая резистентность находится в диапазоне от изосмолярности – 0,85% раствора хлорида натрия до гипоосмолярности - 0,32% раствора хлорида натрия. В гипоосмолярной среде вода попадает в эритроциты через водные каналы, уравнивая внутри- и внеклеточную осмолярность, деформируя эритроциты. Механическое сопротивление эритроцита обеспечивается двояковогнутой формой (индекс сферичности – соотношением толщины и диаметра эритроцита – равен в норме 0,28), которая придает эритроцитам резерв деформации. Максимальным осмотическим сопротивлением обладают молодые эритроциты, а со временем оно уменьшается.

Осмотический гемолиз может быть вызван чрезмерным потреблением воды без солей (гипоосмолярная гипергидратация), обильными вливаниями изотонического раствора глюкозы (5%) - глюкоза метаболизируется, а в сосудистом русле остается вода, что вызывает гипоосмолярность.

3. *Химический гемолиз. Гемолизины* - вещества, которые разрушают эритроцитарную мембрану, высвобождая гемоглобин с гемоглобинемией. Гемолизинами являются бактериальные токсины (стафилококк, стрептококк), паразиты, насекомые, скорпионы и змеи), которые

содержат лизолецитины - фермент, который расщепляют фосфолипиды клеточной мембраны.

Существуют также аутолизины, которые вызывают аутогемолиз, изолизины, гетеролизины.

4. *Лизис аномальных эритроцитов.* Осмотическая устойчивость эритроцита уменьшается при патологической модификации формы эритроцита (сферрическая при наследственном микросфероцитозе, эллиптоидная при мегалобластной анемии) или при изменении свойств цитоскелета при наследственных гемолитических анемиях. Макроциты и мегалоциты подвергаются лизису в узких капиллярах органов макрофагальной системы. Для этих клеток период циркуляции в сосудистом русле сокращается в 10 раз.

5. Иммунный внутрисосудистый гемолиз с участием активированного комплемента (см. ниже).

### **Проявления и последствия патологического внутрисосудистого гемолиза.**

При массовом внутрисосудистом разрушении эритроцитов количество высвобождаемого в кровь гемоглобина превышает способность гаптоглобина его фиксировать, что приводит к циркуляции свободного гемоглобина в крови – гемоглобинемии, а затем к фильтрации гемоглобина в первичную мочу. Количество гемоглобина в первичной моче превышает способность реабсорбции почечного эпителия – гемоглобин присутствует в окончательной моче - гемоглобинурия. Случивание богатого гемосидерином канальцевого эпителия приводит к гемосидеринурии.

Гемоглобин неабсорбированный канальцевым эпителием доходит до дистальных отделов, где кислый pH достигает изоэлектрической точки – гемоглобин осаждается образуя конгломераты, которые блокируют почечные канальцы – устанавливается почечная недостаточность посредством блока мочи.

Серьезная ситуация создается при *crash* -синдроме – разможжении скелетных мышц и в других случаях рабдомиолиза - в результате разрушения миоцитов высвобождается миоглобин (хромопротеид, идентичный гемоглобину, но мономер с молекулярной массой 16 кДа), который очень легко фильтруется в гломерулярные капилляры с теми же последствиями, что и в случае с гемоглобином.

В моче гемоглобин окисляется в метгемоглобин и другие соединения, которые меняют цвет мочи в красный, темно-красный, коричневый или черный.

Другим явлением, связанным с внутрисосудистым гемолизом, является циркуляция в крови стромы лизированных эритроцитов, которая блокирует капилляры и вызывают нарушения микроциркуляции. Также

из лизированных эритроцитов высвобождается эритроцитарный тромбопластин и АДФ, которые агрегируют тромбоциты и вызывают тромбогенез вплоть до ДВС.

<b>Сравнительная характеристика внутриклеточного и внутрисосудистого гемолиза</b>		
<b>Гемолиз</b>	<b>Внутрисосудистый</b>	<b>Внутриклеточный</b>
<b>Место</b>	сосудистое русло	макрофаг
<b>Патогенез</b>	механические, физические, химические факторы	мембранопатии, энзимопатии, гемоглобинопатии и др.
<b>Гепато-спленомегалия</b>	умеренная	выраженная
<b>Гемозидероз</b>	в почечных эпителиоцитах	селезенке, печени, костном мозге
<b>Лабораторные признаки</b>	гемоглобинемия, гемоглобинурия, дефицит гаптоглобина, гипербилирубинемия, гемосидеринурия	гипербилирубинемия, стеркобилин увеличен; уробилин увеличен
<b>желтуха</b>	присутствует	присутствует

### **Внутриклеточный патологический гемолиз**

**Этиология и патогенез** внутриклеточного патологического гемолиза.

При внутриклеточном гемолизе процессы деградации эритроцитов происходят в макрофагах органов макрофагальной системы.

1. *Иммунный гемолиз.* Иммунный гемолиз основан на реакции между мембранными эритроцитарными антигенами и специфическими антителами:

- а) полисахаридные изоантигены: антигены АВ0 со следующими свойствами: стимулируют выработку IgM; тепловые антитела (реагируют с антигенами при 37°C) или холодовые антитела (реагируют с антигенами при 4°C); изоантигены системы АВ0 реагируют с альфа- и бета-изогемагглютинидами. Реакция между полисахаридными антигенами и специфическими антителами провоцирует острые гемотрансфузионные реакции (при групповой несовместимости между реципиентом и донором);
- б) белковые антигены: антигены системы Rh стимулируют преобладающее развитие антител теплового типа IgG, которые вызывают поздние постгемотрансфузионные реакции (при Rh несовместимости между реципиентом и донором);
- в) формирование эритроцитарных аутоантигенов и синтез антиэритроцитарных аутоантител посредством следующих патогенетических механизмов. Когда гаптен (лекарства, бактериальные гаптены) фиксируется на эритроцитарной мембране, образуется комплекс гаптен + эритроцитарный антиген; образованный комплекс становится *non-self* и иммунная система вырабатывает антитела, которые могут реагировать с каждым компонентом в отдельности, в том числе с эритроцитарным антигеном – развивается аутоаллергическая цитотоксическая (цитолитическая) реакция II типа. В результате эритроцит опсонизируется константным Fc фрагментом иммуноглобулина; впоследствии происходит активация комплемента по классическому пути и вторичная опсонизация эритроцита C3b фрагментом активированного комплемента. В результате дважды опсонизированный эритроцит распознается макрофагами с помощью естественных рецепторов против Fc и C3b – эритроцит фагоцитируется и лизируется. Другим гемолитическим механизмом является образование мембранатакующего комплекса C<sub>5-9</sub>, который разрушает эритроцит;



г) нарушение функции Т-супрессорных лимфоцитов (Т-регуляторов) - естественный дефект или приобретенное состояние иммунной системы с гиперактивностью и самоактивацией Т-эффекторов против собственных эритроцитов;

е) денатурация эритроцитных антигенов под действием различных факторов (температура, ионизирующие лучи, свободные радикалы и т.д.) с формированием новых эпитопов, для которых иммунная система не обладает иммунологической толерантностью;

ф) перекрестные иммунные реакции из-за сходства между эритроцитарными и бактериальными антигенами - естественная антигенная мимикрия бактерий под антигены макроорганизма; при бактериальной атаке иммунная система вырабатывает антибактериальные антитела, которые также реагируют перекрестно с эритроцитарными антигенами с последующим лизисом;

г) нарушение функции В-лимфоцитов, появление запрещенных клонов при гемобластозе и коллагенозах – так как отрицательный отбор с устранением аутоагрессивных лимфоцитарных клонов происходит в дородовой период, позже могут появиться запрещенные клоны против эритроцитных антигенов, которые не устраняются путем отбора – наступает аутоиммунное реагирование против собственных эритроцитов.

2. *Неиммунный гемолиз.* Вторая группа факторов внутриклеточного гемолиза связана с наследственными дефектами эритроцитов, которые делают их уязвимыми к условиям циркуляции.

а. Мембранопатия – дефекты в структуре цитоплазмических мембран и цитоскелета:

- наследственный микросфероцитоз – болезнь *Minkowsky-Chauffard* - аутосомно-доминантный путь передачи с заболеваемостью населения 1:5000. Болезнь связана с дефектом мембранных белков – спектрина, что снижает пластичность и повышает проницаемость цитоплазмической мембраны; в результате поступления натрия и воды в эритроцит он становится сферрическим. В синусоидах селезенки с кислой средой и гипогликемией снижается активность насосов Na,K на эритроцитарных мембранах,

повышается концентрация внутриклеточного натрия и содержание воды - такой деформированный эритроцит задерживается в селезенке и фагоцитируется макрофагами. Эритроциты, проходящие через узкие капилляры селезенки, травмируются ("ампутация эритроцитов"), теряют часть мембраны и уменьшаются в размерах - таким образом эритроциты, высвобождаемые из красного мозга с нормальными размерами, в сосудистом русле становятся микроцитами.

Микросфероциты имеют более короткий срок циркуляции из-за интенсивного гемолиза. В результате микросфероцитоз приводит к анемии, ретикулоцитозу, вызванному гипоксией и продуктами гемолиза, гипербилирубинемии непрямой фракцией из-за большого количества гемоглобина, высвобождаемого из разрушенных эритроцитов. Селезенка увеличена в объеме - спленомегалия;

- наследственный овалоцитоз (эллиптоцитоз) - наследственное заболевание с аутосомно-доминантной передачей, наличие в крови эритроцитов эллиптоидной формы (двоковыпуклый диск); имеется дефект спектрина в составе цитоскелета эритроцита, который уменьшает пластичность и приводит к интенсивному гемолизу с типичными последствиями для внутриклеточного патологического гемолиза;
- стоматоцитоз - наследственное заболевание с аутосомно-доминантной передачей, циркуляция в крови эритроцитов, которые имеют в центре неокрашенную полоску, которая делит эритроциты на две половины, придавая им форму стомы (рот). В основе патогенеза лежит дефект мембранных белков с повышенной проницаемостью, избыточным проникновением внутрь клетки натрия и воды – возникает отек эритроцитов, потеря пластичности, задержка в сосудах органов макрофагальной системы и фагоцитоз – интенсивный внутриклеточный гемолиз с последующей гемолитической анемией.

b) Эритроцитарные энзимопатии – наследственное отсутствие или дефект эритроцитарных ферментов:

- наследственная гемолитическая анемия при отсутствии глюкозо-6-фосфатгидрогеназы в эритроцитах; наследуется рецессивно, преимущественно страдают мужчины из населения средиземноморских стран. Отсутствие фермента создает дефицит протонов и нарушает восстановление NADP с снижением количества NADP. H<sub>2</sub>, необходимого для восстановления глутатиона (восстановленный глутатион является важным антиоксидантным фактором, который защищает эритроциты от окислительного стресса) - в результате повреждаются мембранные фосфолипиды и белки эритроцитов с внутрисосудистым гемолизом. Триггерами гемолитического кризиса в этой патологии могут также служить некоторые препараты с антиоксидантным эффектом, которые окисляют глутатион и уменьшают антиоксидантную способность эритроцитов - норсульфазол, стрептоцид, бисептол и др., противомаларийные препараты, производные нитрофурана. Гемолиз возникает в сосудистом русле. Это приводит к анемии, гемоглобинемии, гемоглобинурии, обструкции почечных канальцев конгломератами гемоглобина, гемосидеринурии, гипербилирубинемии, желтухе, спленомегалии.

с. Гемоглобинопатии – наследственные дефекты структуры гемоглобина. Гемоглобин взрослого человека представлен почти исключительно – 96% - взрослым HbA гемоглобином (глобин состоит из двух альфа- и двух бета-цепей; 2% составляет фетальный гемоглобин - HbF - глобин состоит из двух альфа- цепей и двух гамма-цепей; 2% - гемоглобин HbA<sub>2</sub> - глобин состоит из двух альфа-цепей и двух сигма-цепей).

Патологические отклонения от структуры гемоглобина имеют следующие варианты:

- талассемия - гемоглобинопатия с изменением четвертичной структуры гемоглобина - глобин состоит из нормальных глобиновых цепей, но в аномальном сочетании: альфа-талассемия (глобин с 4 альфа-цепями), бета-талассемия (глобин с 4 бета-цепями) и бета-сигма талассемия (по две соответствующих цепочек). Эритроциты становятся мелкими (микроцитоз) и гипохромными (низкое содержание гемоглобина). Альфа-талассемия широко распространена среди населения Африки и Дальнего Востока, бета-талассемия – у населения средиземноморских стран.

- гемоглобинопатия с изменением первичной структуры глобина – последовательности аминокислот в молекуле (HbS, HbE, HbD и др.). Клиническим вариантом является дрепаноцитоз (HbS, серповидноклеточная анемия) – встречается у негроидной расы. Суть заболевания заключается в замене валина глютаминовой кислотой в бета-цепи глобина – появляется гемоглобин С, растворимость которого в воде в 100 раз ниже, чем у обычного гемоглобина. Следует отметить, что растворимость оксигенированного HbS такая же, что HbA - в результате эритроциты в артериальной крови имеют нормальную форму. В капиллярах большого круга оксигемоглобин отдает кислород, HbS теряет растворимость, осаждается, а эритроциты деформируются и принимают форму серпа. В результате эритроциты становятся жесткими, задерживаются в селезенке и фагоцитируются - внутриклеточный гемолиз со всеми типичными последствиями.

#### **Проявления и последствия внутриклеточного гипергемолиза:**

1. *Анемический синдром* – уменьшение количества эритроцитов и количества гемоглобина, анемия, снижение кислородной емкости крови, гипоксемия.
2. *желтушный синдром* - гемолитическая желтуха: гипербилирубинемия с непрямым билирубином в результате гипергемолиза и увеличение выработки билирубина, желтушная окраски кожи и слизистых оболочек;
3. *билирубиновая энцефалопатия*: физиологически весь билирубин, образующийся в макрофагальной системе при физиологическом гемолизе, связывается транспортными альбуминами, что удерживает билирубин в сосудистом русле; гипергемолиз образует большое количество билирубина, которое превышает пектическую способность альбумина – в результате часть билирубина остается свободным, не связанным с альбумином, пересекает гемато-энцефалический барьер и своим антиоксидантным эффектом подавляет энергогенез в нейронах – наступает билирубиновая энцефалопатия.

4. *Желчные камни.* Захват и обработка печенью повышенного количества непрямого билирубина приводит к увеличению концентрации конъюгированного билирубина в желчи – происходит кристаллизация и образование желчных камней из билирубина; возможна закупорка общего желчного протока или холедока с механической желтухой.
5. *Уробилинурия* - повышенное количество уробилиногена в моче и стеркобилиногена в фекалиях - интенсивная окраска фекалий и мочи.

## **VI. Патофизиология гемобластозов**

Система лейкоцитов (лейкон) организована в следующих компартментах:

- а) лейкопоэтические органы (красный костный мозг и тимус) с клетками-предшественниками и резервами лейкоцитов;
- б) циркулирующие (мигрирующие) лейкоциты в крови;
- в) функциональные лейкоциты в органах.

В лейкопоэтических органах происходит регенерация и дифференциация лейкоцитов; кровь является лишь транспортной средой для лейкоцитов, мигрирующими к органам постоянной дислокации (резидентные лейкоциты). Структурами, в которых лейкоциты выполняют свои специфические функции, являются периферические лимфоидные органы (селезенка, лимфатические узлы, компактные лимфоидные структуры) и абсолютно все органы организма. Лейкоциты повсеместно распространены в организме человека, где каждая форма выполняет свои специфические функции и где они заканчивают свое существование апоптозом после определенного периода жизни. Справедливо выражение, согласно которому лейкоциты рождаются в красном мозге, но умирают в органах после истощения жизненного потенциала и потенциала активности.

Морфологически и функционально, лейкон состоит из двух подсистем производных от единой гемопоэтической стволовой клетки: миелоидной подсистемы, представленной плюрипотентной стволовой клеткой - общего миелоидного предшественника (дает начало нейтрофильным, эозинофильным и базофильным зернистым лейкоцитам и мастоцитам, моноцитам и макрофагам) и лимфоидной подсистемы,

представленной плюрипотентной стволовой клеткой - общим лимфоидным предшественников (дает начало В-лимфоцитам и Т-лимфоцитам).

Гомеостаз каждой популяции лейкоцитов и их реакция на внедрение в организм ксенобионтов осуществляется различными сигналами: живые возбудители (бактерии, вирусы, грибки), антигены, молекулы повреждения собственных структур, факторов роста; в ответ красный костный мозг воспроизводит или высвобождает из резервов лейкоцит, необходимый для противодействия текущей агрессии (лимфоциты, моноциты, нейтрофилы, эозинифилы, базофилы).

Лейкоциты, предназначенные для защиты, также достигают органа гематогенным путем. Таким образом, кровь является лишь средством двухнаправленной связи между лейкопоэтическими органами и органами постоянной дислокации и функционирования лейкоцитов.

Традиционно, по причине доступности, циркулирующая кровь является наиболее широко используемым биологическим материалом для исследования лейкоцитов, но не самым информативным. Достоверно оценить функциональное состояние и участие лейкоцитов в патологических процессах возможно только путем изучения лейкоцитопоза непосредственно в красном мозге и лимфоидной системе и оценки функциональности каждой формы лейкоцитов (фагоцитарная активность нейтрофилов и моноцитов, синтез иммуноглобулинов плазмочитами, активность лимфоцитов, состояние сенсбилизации мастоцитов и др.).

Гематопоз является результатом процессов пролиферации, дифференциации и созревания от мультипотентной гематопозитической стволовой клетки до зрелых кровяных клеток.

Как и в эритроцитарной системе, патологические процессы в лейкоцитарной системе могут быть первичными и вторичными (реактивными). Первичные процессы в лейкопоэтических органах и периферических лимфоидных органах представляют собой опухолевые заболевания (пролиферативные процессы); вторичными процессами являются реакция лейкопоэтических органов на патологические процессы в других органах (преимущественно – реакция на ксенобионты).

### **Пролиферативные процессы в лейкоцитарной системе. Гемобластозы**

Пролиферативные процессы в лейкоцитарной системе называются гемобластозами и делятся на лейкемии и лимфомы.

Гемобластоз представляет собой опухолевые патологии, происходящие из различных серий гематопозитических стволовых клеток. В зависимости от клеток, из которых развивается опухоль, гемобластоз делится на лейкемии и лимфомы.

1. *Лейкемии* - гемобластозы, которые развиваются из гематопозитических клеток костного мозга.
2. Лимфомы – гемобластозы, которые развиваются из внемулярных клеток (из зрелых лимфоцитов):

### **Патофизиология гемобластозов**

**Этиология.** Этиология гемобластозов достоверно не известна для каждого конкретного случая. Установлена положительная статистическая корреляция между заболеваемостью гемобластозами и следующими факторами:

1. физические факторы (ионизирующие лучи);
2. химические факторы (химические канцерогены – эксфолиант «оранжевый фактор», гербициды и т.д.);
3. некоторые вирусы;
4. наследственные факторы.

Общим свойством этиологических факторов является мутагенный эффект, онкогенная способность.

### **Общий патогенез гемобластозов.**

Гемобластозы, как и другие опухоли, являются патологией дифференциации и пролиферации клеток и включают три фундаментальных процесса:

- гиперплазия – неограниченная пролиферация лейкоцитарной, эритроцитарной или мегакариоцитарной серий в красном мозге с образованием первичной опухоли;
- анаплазия – блок дифференциации – преобладание пролиферации над дифференциацией (созреванием) с накоплением недифференцированных клеток. Физиологически пролиферация протекает параллельно с дифференциацией клеток: при делении бластная клетка дает начало одной бластной и одной дифференцированной клетке; таким образом, популяция бластов сохраняется постоянной как резерв для пролиферации с одновременным ростом популяции дифференцированных, зрелых клеток, которые будут выполнять специфические функции.

Анаплазия является пролиферацией с клонированием бластных клеток: от одной бластной клетки возникают две бластные клетки, от двух – четыре и так далее в геометрической прогрессии - таким образом накапливается огромная популяция бластных клеток, но прогрессивно уменьшается популяция зрелых клеток;

- метаплазия – выход опухолевых клеток из гематopoэтического органа в кровь и колонизация других органов (селезенка, лимфатические узлы, печень и т.д.) с заменой аборигенных клеток опухолевыми; образуются новые очаги опухолевой ткани – метастазы; метастазы становятся вторичными опухолями.

**Патогенетическая концепция** гемобластозов включает несколько закономерностей присущих всем опухолям.

1. Клональная концепция патогенеза гемобластоза. Согласно этой концепции опухоль происходит от одной гематopoэтической клетки (плюрипотентной или унипотентной), которая под действием канцерогенного фактора подверглась мутации, которая превратила ее в опухолевую клетку. Впоследствии мутировавшая клетка дает начало популяции опухолевых клеток, идентичных исходной – таким образом опухоль представляет собой клеточный клон, возникший из одной мутантной клетки (моноклональная опухоль).

2. Сосуществование двух клеточных популяций в гематopoэтических органах - морфологически и функционально нормальной клеточной популяции и популяции опухолевых клеток. На начальных стадиях развития процесса преобладает здоровая популяция клеток - предшественников и дифференцированных зрелых клеток, соответственно опухоль клинически не проявляется. Впоследствии, из-за огромного пролиферативного потенциала клона опухоли, наступает количественное преобладание популяции опухолевых клеток над дифференцированными клетками.

Различия между нормальной популяцией клеток и лейкоэмической популяцией существенны.

а) Опухолевые лейкоэмические клетки обладают огромным потенциалом неконтролируемой пролиферации, который превышает пролиферативный потенциал нормальных клеток. Так, нормальный предел размножения клеток до полной дифференциации составляет 6 митозов;



лейкемическая клетка в течение 3 месяцев делится 40 раз, что дает до  $10^{12}$

недифференцированных клеток с общей массой в 1 кг. На этом этапе лейкемия проявляется клинически;

- b) асинхронизм между интенсивной пролиферацией и задержкой дифференциации опухолевых клеток (блок дифференциации).
- c) Долговечность лейкозной популяции – из-за устойчивости к апоптозу опухолевые клетки практически бессмертны. Нормальные соматические клетки человека и других многоклеточных организмов обладают определенным пределом деления – согласно пределу Хейфлика (*Hayflick limit*) он составляет около 50 митозов, после чего клетка умирает. Предел митотической активности зависит от постепенного сокращения длины теломера с каждым митозом. Теломер – это полипептид, прикрепленный к концам ДНК, который уменьшается с каждой репликацией молекулы ДНК примерно на 3-6 нуклеотидов, так что на пределе Хейфлика теломер уменьшается на 150-300 нуклеотидов, что приводит к гибели клеток от апоптоза. (Фермент ДНК-полимераза может реплицировать молекулу ДНК, но не концы - теломеры). В клетке находится фермент теломераза, который может восстановить длину теломера, что продлевает репродуктивный период клетки. В нормальных соматических клетках теломераза неактивна – она активна только в гаметах и опухолевых клетках. Установлено, что опухолевые клетки производят активную теломеразу, которая восстанавливает длину теломеров с каждым митозом – таким образом клетка становится бессмертной, бесконечно размножаясь без истощения теломеров.

3. Замещение нормальной популяции клеток опухолевой популяцией. С ростом популяции опухоли происходит прогрессирующее замещение нормальной клеточной популяции клоном опухоли с подавлением всех нормальных гематопозитических ростков в красном мозге. Механизмы подавления нормального гематопоза опухолевыми клетками многочисленны:

- механическое вытеснение нормальной популяции обширной опухолевой популяцией;
- фиброз костного мозга и замена нормальных популяций соединительной тканью;

- колоние-стимулирующие факторы, синтезированные матричными клетками стимулируют опухолевые клетки более интенсивно, чем здоровые клетки;
- лейкоэмические клетки синтезируют гуморальные факторы, которые подавляют пролиферацию нормальных, но не опухолевых клеток;
- посредством конкуренции опухоль истощает трофические запасы с голоданием здоровой популяции.

В результате происходит прогрессирующая регрессия нормальной гематопозитической серии с соответствующими проявлениями: анемия (гипоксия), уменьшение популяции дифференцированных лейкоцитов (естественный и адаптивный иммунодефицит), тромбоцитопения (геморрагический синдром).

4. Выход в кровотоки незрелых опухолевых клеток. В норме незрелые промежуточные клетки гематопоза (бласты, промиелоциты, миелоциты, частично и метамиелоциты) посредством молекул межклеточной адгезии прикрепляются к костномозговой матрице и не могут попасть в циркуляцию; только нормальные зрелые клетки теряют молекулы адгезии, отделяются от матрицы и высвобождаются в кровообращение. Опухолевые клетки любого поколения (бласты, промиелоциты, миелоциты, метамиелоциты) не экспрессируют молекул межклеточной адгезии, не прикрепляются к матрице и свободно поступают в циркуляцию. Отделение опухолевых клеток от первичного опухолевого очага приводит к их появлению в крови (бластемия), распространению опухолевых клеток по всему организму, инфильтрации и колонизации внекостномозговых органов – происходит метаплазия, образуются метастазы - вторичные опухоли. Метастазы лейкемии чаще возникают в селезенке, лимфатических узлах, печени. Экстрamedулярные метастазы лейкемии ведут себя в соответствии с микроэкологией колонизированных органов: они становятся автономными, приобретают свойства отличные от первичной опухоли, в том числе изменяется чувствительность к цитостатикам – цитостатики эффективные против первичной опухоли становятся неэффективными против метастатической опухоли.

Экстрamedулярный гемобластоз (лимфомы) метастазирует в противоположном направлении – из лимфоидных органов в красный костный мозг – происходит лейкоемизация лимфомы.

5. Прогрессия опухоли. Клетки в клоне опухоли подвержены мутациям - таким образом, в популяции первичного клона вследствие мутаций появляются опухолевые субклоны - опухоль содержит популяции с разным генотипом, становится поликлональной. В результате прогрессирования появляются более злокачественные клоны, чем первичный клон. Так, мутации при хронических лейкозах (миелоидный, лимфоидный), которые изначально, на моноклональной стадии, состояли из дифференцированных клеток, появляются недифференцированные клеточные клоны – бласты, которые придают заболеванию злокачественный характер с молниеносной эволюцией – обострение и бластный кризис в терминальной стадии. Прогрессирование опухоли преобразует хронический гемобластоз в острую форму и приводит к конечному исходу.

С появлением нескольких опухолевых клонов организм выполняет отбор наиболее устойчивых клонов: через защитные иммунные, гормональные реакции уничтожаются менее агрессивные клоны, а наиболее устойчивые и агрессивные клоны выживают. Таким образом, организм работает в ущерб себе, сохраняя наиболее устойчивые клоны опухолевых клеток.

Патогенетическая эволюция лейкемии следует в несколько этапов, характерных в общих чертах для всех форм лейкемий.

*Этап I* - иницирование (преобразование нормальной клетки в опухолевую) - под влиянием канцерогенного фактора гемопоэтическая стволовая клетка претерпевает мутации (или хромосомные aberrации - разрыв хромосомы с потерей сегмента); мутации антионкогенных и онкогенных генов приводят к инактивации антионкогенной программы, инактивации апоптогенной программы, гиперэкспрессии онкогенов и антиапоптотических генов. Клетка приобретает свойства неограниченного деления и бессмертия.

*Этап II* – эволюция – моноклональная стадия – появление моноклона опухолевых клеток с неограниченным, неконтролируемым ростом и накоплением многочисленной популяции мутантных клеток.

*Этап III* – прогрессирование (олиго-, поликлональная стадия) – происходят многочисленные мутации в клетках первого клона и возникают множественные опухолевые клоны. Новые субклоновые бласты более агрессивны и злокачественны с подавляющими свойствами для нормального гематопоеза и метаплазией.

*Этап IV* – терминальный – обострение хронической лейкемии (бластный кризис).

### **Особенности острого и хронического лейкоза.**

Хотя общие патогенетические принципы свойственны как хроническим, так и острым лейкозам, существенным отличием этих двух форм является родоначальная клетка гемобластоза: острый гемобластоз происходит от унипотентных стволовых клеток (бластов – миелобласт, эритробласт, мегакариобласт, монобласт, лимфобласт и др.) с блоком дифференциации на уровне бласта, а хронический гемобластоз происходит от плюрипотентных стволовых клеток (общего миелоидного и лимфоидного предшественника) с дифференциацией до зрелых клеток. Обе формы гемобластоза характеризуются неограниченной пролиферативной способностью и превращением в поликлональные формы.

**Острые** лейкемии - злокачественные опухоли происходят от мутировавшей унипотентной гемипоэтической клетки: эритробласта, миелобласта, мегакариобласта, монобласта, лимфобласта и т.д.

Особенностью острого лейкоза является неконтролируемое и неограниченное клональное деление мутантного бласта с воспроизведением многочисленной популяции бластов до истощения организма хозяина.

Вторым свойством острого лейкоза является блок дифференциации бластов – происходит задержка созревания на уровне бласта.

Третьей особенностью является ингибирование нормальной клеточной популяции опухолевым клоном с соответствующими клиническими симптомами – анемией (гипоксией), гранулоцитопенией, лимфоцитопенией (иммунодефицит), тромбоцитопенией (геморрагический синдром).

**Острый миелоидный лейкоз:** нормо- или лейкопенические формы - лейкоциты в периферической крови -  $0,1 \times 10^9/\text{л}$  –  $10 \times 10^9/\text{л}$ ; сублейкемические формы (до  $50 \times 10^9/\text{л}$ ); лейкемические формы (более  $50 \times 10^9/\text{л}$ ); анемия; тромбоцитопения.

Большинство лейкоцитов в крови представлены бластами; гранулоциты – немного несегментированных и сегментированных (преобладание в лейкоформуле бластных клеток при отсутствии промежуточных клеточных форм - промиелоцитов, миелоцитов называется *hiatus leikemicus*). Миелограмма демонстрирует бластную инфильтрацию костного мозга.

**Острый** лимфолейкоз проявляется замещением медуллярной миелобластной серии лимфобластами, наводнение крови лимфобластами (до 90%), анемией, тромбоцитопенией, гранулоцитопенией.

**Хронические** лейкозы представляют миелопролиферативные и лимфопролиферативные опухоли с неограниченным пролиферативным потенциалом, но с сохранением способности клеток дифференцироваться до зрелых форм. Хронические лейкозы возникают от мутации плюрипотентной клетки – общего миелоидного предшественника или общего лимфоидного предшественника с преобладанием пролиферации одного ряда: эритро-, миело-, мегакарио-, монобластного, лимфоцитов В или Т.

**Хроническая миелолейкемия** – клональное заболевание, возникает от общего плюрипотентного миелоидного предшественника, характеризуется неконтролируемой и неограниченной пролиферацией миелоидных клеток в красном мозге с дифференциацией до зрелых гранулоцитов (нейтрофилов, базофилов, эозинофилов). Патогенез состоит в хромосомной транслокации и сборке аномальной хромосомы - филадельфийская хромосома (Ph, Philadelphia). Филадельфийская хромосома происходит путем взаимной транслокации между хромосомами 9 и 22 (вызывает около 95% случаев хронического миелолейкоза и около 25% случаев острого лимфобластного лейкоза). В результате транслокации ген ABL1 (ABL1 (*Abelson murine leukemia viral oncogene homolog 1*) хромосомы 9 соединяется с локусом BCR (*breakpoint cluster region*)) хромосомы 22 – в результате образуется химерический белок BCR-ABL1, обладающий тирозинкиназной активностью. В норме тирозинкиназа является посредником, который передает митотический сигнал от факторов роста (IL-3) к ядру – таким образом инициируется митоз. Поскольку химера BCR-ABL1 транскрибируется и сохраняется постоянно в клетке, митотическая активность клетки становится бесконечной, не переходя в фазу отдыха G<sub>0</sub>. Кроме того, белок BCR-ABL1 тормозит репарацию ДНК, делая клетку восприимчивой к другим генным мутациям.

Таким образом, белок BCR-ABL1, образовавшийся в результате хромосомной делеции, является патогенетической основой хронической миелолейкемии. Поскольку белок BCR-ABL с активностью

тиросинкиназа является основой для неконтролируемой пролиферации клеток, противоопухолевая терапевтическая стратегия будет направлена на ингибирование тирозинкиназы.

При хронической миелолейкемии в моноклональной стадии в красном мозге почти 100% клеток содержат хромосому Ph (миелокарициты, эритрокарициты, мегакарициты). Лейкограмма демонстрирует нейтрофильный лейкоцитоз со сдвигом ядра влево до промиелоцитов; наблюдается базофилия и эозинофилия (базофильно-эозинофильная ассоциация); эритроциты и тромбоциты - норма.

На поликлональной стадии (бластный кризис) уменьшается процент сегментированных и несегментированных нейтрофилов, увеличивается процент миелоцитов, промиелоцитов, миелобластов; тромбоцитопения.

**Хронический лимфоидный** лейкоз является лимфопролиферативным процессом; моноклональная опухоль изначально появляется через мутацию общего лимфоидного предшественника в костном мозге. Злокачественная мутантная клетка порождает клон клеток с высоким и неограниченным пролиферативным потенциалом, но с дифференциацией до зрелых лимфоцитов – в 95% случаев опухоль является В-клеточной; в 5% - Т-клеточный.

При хроническом лимфоидном лейкозе В-лимфоциты экспрессируют нетипичные положительные CD5/CD19/CD23 в костном мозге, селезенке, лимфатических узлах, печени. Злокачественные клетки имеют мутацию, которая подавляет ген p53 (проапоптогенный) и чрезмерно экспрессируют ген BCL-2 (антиапоптогенный) - в результате опухолевая клетка ускользает от апоптоза. Злокачественные клоны замещают нормальные медуллярные серии: эритроцитарную (анемический синдром), мегакариоцитарную (геморрагический синдром), гранулоцитарную (инфекционный синдром).

Злокачественные клетки попадают в кровоток и проникают во внескелетные органы.

**Лимфомы** представляют злокачественные опухоли, которые развиваются из внескелетных лимфоидных клеток:

лимфомы Ходжкина - 80% из зрелых В-лимфоцитов и 20% - из зрелых Т-лимфоцитов лимфатических узлов;

неходжкинские лимфомы являются опухолями из В- и Т-лимфоцитов в лимфатических узлах с блоком дифференциации на разных стадиях бластотрансформации лимфоцитов.

## **VII. Патопфизиология лейкоцитозов и лейкоцитопений**

### **Лейкоцитозы**

Вторичные лейкопоэтические процессы представляют собой реакцию лейкоцитарной системы на первичные патологические процессы, расположенные за пределами гематopoэтических органов, вызванные экзогенными патогенами или эндогенным дисгомеостазом.

Вторичные лейкоцитарные процессы вызваны биологическими факторами (вирусы, бактерии, грибки, простейшие, многоклеточные паразиты), биологически активными веществами (гормоны, цитокины, провоспалительные медиаторы, факторы роста), аллергенами и гаптенами (вакцины, иммунные сыворотки, антибиотики, сульфаниламиды, другие препараты с антигенной или гаптенной структурой) и представляют собой защитные реакции (лейкоцитозы) либо патологические процессы (лейкоцитопении).

Вторичные процессы проявляются изменениями в лейкопоэтических органах (ускоренная регенерация, гиперпролиферация, гиперпроизводство лейкоцитов), изменениями в клеточном составе крови (лейкоцитоз, появление незрелых клеток) и в тканях (увеличение популяции резидентных лейкоцитов, активация покоящихся лейкоцитов, инициирование адаптивно-защитных физиологических процессов, характерных для каждой формы лейкоцитов.

Наиболее очевидным и легко определяемым проявлением вторичных процессов в лейкопоэтических органах является лейкоцитоз – увеличение количества лейкоцитов в крови, в то время как существенные изменения, происходящие в самих лейкопоэтических органах и

органах расположения лейкоцитов остаются в тени и могут быть выявлены только специальными исследованиями.

Система лейкоцитов не является унитарной - каждая форма лейкоцита представляет собой целостную морфофункциональную систему с определенными функциями и специфическими реакциями на различные патогены.

## 1. Лимфоцитарные реактивные процессы.

Родоначальной клеткой всех лейкоцитов является полипотентная гематопозитическая стволовая клетка, из которых происходят 2 плюрипотентные клетки: общий миелоидный предшественник и общий лимфоидный предшественник. Впоследствии лимфоидный предшественник дифференцируется в унипотентные бласты: В - лимфобласт, Т-лимфобласт и натуральные киллеры (НК).

Пролиферация и дифференциация Т- и В- лимфобласта происходит в два этапа: лимфоцитопоз и иммунопоз.

**Первый этап – лимфоцитопоз** – происходит пролиферация Т- и В -лимфобластов с созреванием до Т - и В- лимфоцитов; процесс происходит в период внутриутробного развития в стерильных условиях и не требует наличия чужеродных антигенов. Конечным результатом лимфоцитопоза является генерация наивных клонов лимфоцитов, специфичных для всего спектра антигенов, существующих в природе. Лимфоцитопоз В- серии лимфоцитов протекают в красном костном мозге из В-лимфобласта, а Т-серии – из Т-лимфобласта, эмигрировавшего из красного мозга в тимус.

Лимфоцитопоз является уникальным пролиферативным процессом, характерным только для одного типа клеток в организме человека – Т- и В - лимфобластов. Благодаря наличию в лимфобластах специального фермента рекомбиназы, при каждом митозе происходит рекомбинация гена, отвечающего за синтез специфических лимфоцитарных рецепторов, которые распознают антиген – BCR (*B-cell receptor*) и TCR (*T cell receptor*). Таким образом, каждая клетка, происшедшая из лимфобласта, обладает рецептором только одной, уникальной конфигурации, специфичной только для одного антигена. Результатом такой пролиферации является производство многочисленных лимфоцитарных клонов, каждый из которых имеет специфический рецептор только для одного антигена, а количество клонов



огромно и сопоставимо с количеством антигенов, существующих в природе. Таким образом, каждому натуральному антигену соответствует специфический клон лимфоцитов по принципу: один клон лимфоцитов только для одного антигена.

Все генерируемые лимфоцитарные клоны подвергаются положительной и отрицательной селекции с необратимым удалением лимфоцитов слабо реагирующих на антиген и лимфоцитов, имеющих рецепторы к собственным антигенам организма (так вырабатывается иммунологическая толерантность).

Лимфоцитопоз приводит к образованию наивных (девственных) клонов лимфоцитов, которые находятся в состоянии покоя, но станут активными и функциональными в сотрудничестве с другими иммунокомпетентными клетками при контакте с специфическим чужеродным антигеном.

T-наивные и B-наивные лимфоциты реэмигрируют из тимуса и красного мозга соответственно в периферические лимфоидные органы: селезенку, лимфатические узлы, компактные лимфоидные образования в пищеварительном тракте, дыхательных путях, урогенитального тракта. Таким образом, в отличие от моновалентных центральных иммунных органов (костный мозг генерирует B-лимфоциты, тимус – T-лимфоциты), периферические лимфоидные органы двувалентны – обладают популяцией B-лимфоцитов, которые будут вырабатывать гуморальный иммунитет с антителами и популяцией T-лимфоцитов, которые будут развивать клеточный иммунитет с цитотоксическими лимфоцитами.

Наивные T и B лимфоциты циркулируют в крови, регулярно транзитируют органы и лимфатические узлы, где, при контакте с антигеном, запускается второй процесс - иммунопоэз с генерацией активных иммуногенных клеток.

**Иммунопоэз наивного B- лимфоцита** инициируется при контакте со специфическим антигеном, который активирует лимфоцит, превращает его в лимфобласт (процесс называется бласт-трансформацией), лимфобласт пролиферирует без рекомбинации гена BCR- рецептора – таким образом, результатом иммунопоэза является образование большой популяции однотипных B-лимфоцитов, специфичных для антигена – иммунологический клон. Иммунопоэз B-лимфоцитов протекает в сотрудничестве с макрофагами и лимфоцитами T-helper. Впоследствии, B лимфоциты в иммунном клоне дифференцируются в иммуноглобулин-

секретирующих плазмочитов - IgM, IgG, IgA, IgD, IgE. Некоторые лимфоциты специфического клона не дифференцируются в плазмочиты, образуя долгоживущую популяцию клеток устойчивых к апоптозу - клетки памяти, которые будут более оперативно реагировать на повторное проникновение того же антигена.

**Имунопоз наивных Т-лимфоцитов.** Получив чужеродный антиген от антигенпрезентирующих клеток (макрофаги, дендритные клетки), наивные Т-лимфоциты задерживаются в лимфатическом узле и превращаются в лимфобласт (бласт-трансформация), делятся, но без рекомбинации гена рецептора TCR – таким образом образуется клон Т-лимфоцитов с специфичным рецептором только для антигена, который его активировал.

В результате имунопоза Т- лимфоцитов образуются специфические клоны Т-helper (CD4), которые проверяют специфичность чужеродного антигена и отличают его от собственных антигенов (предотвращение аутоиммунных, аутоагрессивных процессов против собственных антигенов) и позволяют лимфоцитам Т-киллерам (цитотоксические, CD8) уничтожить чужеродный агент ("охотничья лицензия"). Эти лимфоциты дают начало подклассам лимфоцитов Th1, Th2 и Th17. Третьим классом являются регуляторные Т-лимфоциты (старое название – супрессоры), которые модулируют чрезмерный иммунный ответ.

Гомеостаз и нарушения лимфоцитарной системы можно оценить путем количественного определения классов лимфоцитов в лимфопоэтических органах, в циркулирующей крови и путем оценки функциональности лимфоцитов (анти-антигенная активность, синтез иммуноглобулинов).

Из общего числа лейкоцитов в циркулирующих крови, равного  $4-9 \times 10^9/L$ , доля лимфоцитов составляет около 25%. Лимфоциты в крови представлены Т-лимфоцитами (наивными, Th, Tк, Tr, NK) - 85% от общего количества циркулирующих лимфоцитов и В-лимфоцитами (наивными и ангажированными, плазмочитами) - около 15%.

Количественные изменения лимфоцитов представлены лимфоцитозами и лимфоцитопениями.

**Лимфоцитоз** – это увеличение количества лимфоцитов в крови (в объемной единице и в общем объеме крови). Лимфоцитоз указывает на активацию лимфоцитарной системы.

#### *Классификация лимфоцитозов*

1. Физиологический лимфоцитоз – сопровождает различные физиологические состояния (новорожденные, физические и психоэмоциональные нагрузки);
2. Первичный патологический лимфоцитоз (необластный процесс) - гемобластоз;
3. Вторичный (реактивный) патологический лимфоцитоз - симптом первичной негематологической патологии, реакция лимфоцитарного ряда на патологические процессы: инфекции с клеточным иммунитетом - вирусы (гепатит С, оспа, корь, инфекционный мононуклеоз, цитомегаловирус, краснуха); хронические бактериальные инфекции (туберкулез, сифилис, бруцеллез, проказа), микозы, инвазии простейших. Одновременно с разрешением инфекционного процесса лимфоциты возвращаются к норме.
4. Лимфоцитарные лейкомоидные реакции. Понятие лейкомоидной реакции (подобная, которая имитирует лейкемию) – гиперлейкоцитоз с появлением в кровообращении молодых клеток; гематологическая картина напоминает лейкемию; по сути лейкомоидная реакция не является бластоматозным заболеванием, а вызвана инфекционным фактором, при ликвидации которого лимфоциты возвращаются к норме без каких-либо последствий.

Первичный и вторичный лимфоцитоз являются абсолютными (истинными), так как происходит увеличение абсолютного количества лимфоцитов в объемной единице и в общем объеме крови на основе гиперпроизводства лимфоцитов.

Помимо абсолютного (истинного) лимфоцитоза в клинике также используется понятие относительного (ложного) лимфоцитоза – увеличение только процента лимфоцитов в крови за счет уменьшения процентного содержания других форм лейкоцитов (чаще всего – нейтрофилов), но с

сохранением нормального абсолютного количества лимфоцитов в крови; в этом случае термин лимфоцитоз не подходит по сути и приводит к путанице.

**Лимфоцитопения** - уменьшение количества лимфоцитов в объемной единице и в общем объеме крови ниже 1000/мкл крови; у детей до 2 лет - 1500/мкл крови. Лимфоцитопении отражают апластические, разрушительные, дегенеративные процессы в лимфопоэтических органах, но также и разрушение лимфоцитов в сосудистом русле. Лимфоцитопения проявляется снижением реакций собственных лимфоцитов – иммунитета.

#### *Классификация лимфоцитопений*

##### 1) Первичные, наследственные лимфоцитопении (наследственные иммунодефициты):

- иммунодефицит типа В представляет наследственные дефекты серии В- лимфоцитов; отмечается недостаток наивных В- лимфоцитов и ослабление иммунных реакций гуморального типа - неспособность синтезировать иммуноглобулины (агаммаглобулинемия); неспособность развивать немедленные аллергические реакции; предрасположенность к острым бактериальным инфекциям, токсико-инфекциям. Иммунодефицит типа В составляет 70% первичных (наследственных) иммунодефицитов. Клинически проявляется частыми бронхо-легочными, желудочно-кишечными и генерализованными инфекциями. В то же время, вирусные инфекции протекают обычно, так как Т-лимфоциты и клеточный иммунитет сохраняются. Сохраняются также аллергические реакции замедленного типа (осуществляемые Т-лимфоцитами).
- Т-тип иммунодефицита имеет в патогенезе наследственные дефекты серии Т-лимфоцитов; характеризуется отсутствием Т-лимфоцитов и иммунных реакций клеточного типа, неспособностью проявлять аллергические реакции замедленного типа, предрасположенность к хроническим специфическим инфекциям, вирозам (простой герпес, ветряная оспа, цитомегаловирус), микозам, инвазиям простейшими, патогенными грибами; имеется предрасположенность к аутоиммунным заболеваниям; предрасположенность к неоплазме. Так как Th - лимфоциты также участвуют в гуморальных иммунных реакция, при этом типе иммунодефицита страдает также и гуморальный иммунитет.

- смешанная наследственная лимфоцитопения является наиболее серьезной формой - одновременно поражаются обе серии лимфоцитов - В и Т; отсутствуют иммунные реакции обоих типов – гуморальные и клеточные. Типичный случай – *комбинированный иммунодефицит ДиДжордж*.

## 2. Вторичная, приобретенная лимфоцитопения:

- белковое голодание;
- аутоиммунные лимфоцитопении;
- ВИЧ – разрушение лимфоцитов Т-хелперов CD4 вирусом ВИЧ: возникает предрасположенность к оппортунистическим инфекциям и онкологическим заболеваниям;
- ионизирующие излучения - лучевая терапия онкологических заболеваний;
- цитостатики - химиотерапия онкологических заболеваний;
- антилимфоцитарная сыворотка, используемая при трансплантации органов для предотвращения реакции отторжения;
- синдром Кушинга, гормональная терапия аллергических и аутоиммунных заболеваний глюкокортикостероидами, которые вызывают апоптоз лимфоцитов;
- системная красная волчанка; ревматоидный артрит; миастения.

---

## 2. Гранулоцитарные реактивные процессы.

### 2.1. Нейтрофилия и нейтропения.

Регенерация гранулоцитов (в том числе нейтрофилов) происходит в красном костном мозге из плюрипотентной стволовой клетки - общего миелоидного предшественника и проходит через последовательные формы: миелобласт - нейтрофильный промиелоцит – нейтрофильный миелоцит - несегментированный (палочкоядерный) нейтрофил – сегментоядерный нейтрофил. Дифференциация и

пролиферация нейтрофилов стимулируется интерлейкином IL-3, колониестимулирующими факторами G-CSF (гранулоцитарный), MG-CSF (моноцитарный, гранулоцитарный), нейтрофилопоэтином и ингибируется кейлоанами. Глюкокортикостероиды, андрогены, соматотропин стимулируют нейтропоэз и удерживают нейтрофилы в сосудистом русле.

В серии гранулоцитов способностью к пролиферации обладают миелобласты, промиелоциты и миелоциты; дифференциация миелобласта до миелоцита проходит за 4-6 митозов с образованием 16-64 миелоцитов. Миелоцит обладает регенеративным потенциалом – в физиологическом режиме он осуществляет еще 2 митоза и превращается в метамиелоцит (юный нейтрофил); при инфекциях активированный миелоцит проходит через 4 митоза до зрелого нейтрофила – таким образом увеличивается количество нейтрофилов, необходимых для борьбы с инфекцией. Часть миелоцитов в красном мозге переходит в фазу  $G_0$  митотической паузы, образуя в костном мозге миелоцитарный резерв, активированный оперативно по мере необходимости. Метамиелоциты, несегментированные и зрелые нейтрофилы не регенерируют. Непролиферативные поколения гранулоцитов (несегментированные и сегментированные) задерживаются в костном мозге в течение 5-7 дней, образуя гранулоцитарный резерв костного мозга, который превышает нейтрофильные лейкоциты в крови в 30 раз. Это обеспечивает быстрое развитие (несколько часов) нейтрофилии при острых бактериальных инфекциях из медуллярного резерва.

Параллельное увеличение числа зрелых и молодых нейтрофилов в крови указывает на адекватную реактивность костного мозга в ответ на инфекции и является положительным предиктором благоприятной эволюции воспалительного процесса. Напротив, прогрессирующее увеличение в периферической крови молодых клеток одновременно с уменьшением зрелых клеток указывает на истощение медуллярных резервов нейтрофилов и представляет собой неблагоприятный предиктор эволюции инфекции.

Несегментированные и сегментированные нейтрофилы высвобождаются в кровь в соотношении примерно 1:20. Нейтрофилы в сосудистом русле подразделяются на нейтрофилы в свободном обращении и пристеночные нейтрофилы, фиксированные к эндотелию посредством молекул адгезии. Между этими двумя популяциями существует постоянный обмен и динамический баланс 1:1. Таким образом, количество свободных лейкоцитов, обнаруженных в циркулирующей крови, составляет лишь половину

от общей популяции нейтрофилов в сосудистом русле. В то же время отделение пристеночных нейтрофилов от стенки сосуда (например, при спазмировании сосудов) или секвестрация клеток в микрососудах (например, при шоке) меняет количество циркулирующих нейтрофилов, происходит перераспределение лейкоцитов в различных сосудистых областях – устанавливается относительный лейкоцитоз или лейкопения путем перераспределения лейкоцитов в сосудистом русле.

Нейтрофилы являются самой многочисленной и наиболее динамичной популяцией лейкоцитов - ежедневно созревает и рождается около  $1,6 \times 10^{12}$  клеток. Новобразованные нейтрофилы, высвобождаемые из костного мозга, циркулируют в крови только в течение 10-12 часов, после чего эмигрируют в интерстиций всех органов. В сосудистом русле циркулируют несегментированные нейтрофилы (около 3% - 200 клеток в 1 мкл крови) и сегментированные нейтрофилы (около 60% - 4000 клеток в 1 мкл крови). Нейтрофилы постоянно эмигрируют из сосудистого русла в интерстиций, где они живут в течение 2-6 дней, после чего подвергаются апоптозу и фагоцитируются макрофагами. Нейтрофилы из тканей не возвращаются в кровяной ток.

В тканях нейтрофилы выполняют естественную защитную функцию (фагоцитоз ксенобионтов), участвуют в сотрудничестве с иммунными клетками и в адаптивных иммунных реакциях. Нейтрофилы фагоцитируют микроорганизмы (кокки), которые вызывают острое воспаление. Популяция нейтрофилов присутствующая постоянно в тканях недостаточна для противодействия инфекции. Дополнительное количество нейтрофилов набирается двумя способами: стимуляция нейтрофилопоэза и оперативная мобилизация нейтрофилов из красного костного мозга – в результате увеличивается количество циркулирующих нейтрофилов в крови – устанавливается нейтрофильный лейкоцитоз (нейтрофилия). Нейтрофилопоэз стимулируется провоспалительными цитокинами – колоние-стимулирующими факторами G-CSF и MG-CSF, бактериальными антигенами, продуктами жизнедеятельности бактерий и продуктами распада собственных тканей.

Избирательный выход нейтрофилов из крови в воспалительные очаги обеспечивается цитокинами и медиаторами, образующиеся в воспалительных очагах (селектины, интегрин,

хемотаксические факторы), которые локально активируют эндотелиоциты, вызывают адгезию к стенке сосуда и выход нейтрофилов в воспалительные очаги. Химиотаксизм осуществляется цитокинами, лейкотриеном В4, гистамином, активными фрагментами комплемента С3а, С5а, фрагментами фибринолиза, тромбином, фибрином, нейропептидами, иммуноглобулиновыми фрагментами и цитокинами - профессиональными хемокинами.

Вышедшие в воспалительный очаг нейтрофилы осуществляют фагоцитоз микроорганизмов. Фагоцитоз проходит в несколько стадий последовательно: сближение, адгезия к объекту, поглощение и дезинтеграция объекта.

Сближение фагоцита к микроорганизму обусловлено химиотаксическими веществами (микробными антигенами, продуктами распада клеток, мастоцитарными медиаторами, гистамином, константным фрагментом иммуноглобулинов Fc, фрагментами активированного комплемента С3а, С5а).

Адгезия нейтрофилов к возбудителям обусловлено наличием на цитоплазматической мембране нейтрофилов специфических природных рецепторов для микробных липополисахаридов, фрагмента Fc, мажорного фрагмента активированного комплемента С3b, который опсонизирует бактерии. Затем происходит включение объекта в фагоцит с образованием фагосомы, слияние с лизосомой с образованием фаголизосомы, где происходит последний акт фагоцитоза – уничтожение фагоцитированного объекта бактерицидными системами нейтрофилов.

Благодаря биологически активным веществам нейтрофилы выполняют в тканях многочисленные эффекты: бактерицидный, вируцидный, противоопухолевый, гистолитический, флогогенный, иммуногенный.

### **Бактерицидные механизмы нейтрофилов:**

а) кислородозависимые бактерицидные механизмы включают свободные радикалы кислорода и хлора, образованных активацией ферментных механизмов: миелопероксидазы



(расщепляет перекись водорода), NADP-H-оксидазы с образованием кислородных радикалов и хлора;

б) кислороднезависимые бактерицидные механизмы включают многочисленные ферменты, которые расщепляют патоген или собственные ткани, обеспечивая доступ нейтрофилов в воспалительный очаг:

- Катионный белок активный по отношению к грамм-отрицательным бактериям – повышает проницаемость цитоплазматической мембраны, что приводит к цитолизу;
- лизозим (мураминидаза) и фагоцитин – вызывает лизис грамм-отрицательных и грамм-положительных бактерий;
- амило-, протео- и липолитические ферменты, которые расщепляют органический субстрат бактерий;
- элстаза - расщепляет сиалофорин (CD43), который обеспечивает барьерную функцию мембраны бактериальных клеток.

Гистолитические механизмы нейтрофилов вызывают лизис компонентов собственных тканей, что имеет неоднозначное значение: с одной стороны, лизис межклеточной матрицы обеспечивает проникновение нейтрофилов в интерстициальные пространства, где внедрились микроорганизмы; с другой стороны, лизис тканей приводит к расширению воспалительного процесса, распространению инфекции через мертвые нейтрофилы, нагруженные микроорганизмами. Последний момент диктует необходимость дренажа и промывания гнойных воспалительных очагов антисептиками (абсцесс, флегмона, эмпиема). Гистолитическая система нейтрофилов включает в себя:

- коллагеназы и элстазы – расщепляют элементы соединительной ткани и межклеточной матрицы - эластин, протеогликаны, гемоглобин, фибриноген, коллаген;
- гиалуронидаза - фактор проницаемости, деполимеризует гиалуроновую кислоту - фундаментальное вещество соединительной ткани;

- катепсин G - расщепляет гемоглобин, фибриноген, эластин, протеогликаны; инактивирует брадикинин.

- активатор плазминогена - осуществляет фибринолиз

Флогогенные эффекты нейтрофилов запускают и поддерживают воспалительные реакции и постовоспалительные процессы через следующие механизмы:

- секретируют провоспалительные цитокины - TNF $\alpha$ , IL-1, 6, 8, 12, IFN- $\alpha$ ;
- секретируют колоние- стимулирующие факторы G-CSF и GM-CSF, фактор активирующий тромбоциты (PAF);
- выделяют фактор роста фибробластов (FGF), лейкоцитарный фактор роста, которые стимулируют пролиферацию соединительной ткани и способствуют поствоспалительной регенерации.

Иммуногенные механизмы нейтрофилов:

- усиливают выработку Ig лимфоцитами B;
- обладают иммунным цитолитическим эффектом (*killing*) - в присутствии IgG и комплемента нейтрофилы выделяют перекись водорода и радикалы хлора, которые убивают чужеродную клетку на расстоянии, без фагоцитоза;
- нейтрофилы атакуют зараженные вирусом клетки и вызывают их апоптоз.

Изменения в серии нейтрофильных лейкоцитов включают нейтрофильный лейкоцитоз (нейтрофилия) и нейтропения.

**Нейтрофилия** - увеличение абсолютного количества нейтрофилов в единице объема и в общем объеме крови выше нормальных пределов в результате интенсификации лейкоцитопоза.

**Классификация нейтрофильных лейкоцитозов**

1. Физиологическая нейтрофилия - посталиментарная, при физических нагрузках, психоэмоциональных реакциях - чаще всего связана с перераспределением париетальных и циркулирующих нейтрофилов либо с перераспределением лейкоцитов в разных бассейнах сосудистого русла; не является истинной нейтрофилией с стимуляцией лейкоцитопоза, не указывает на патологию, не требует медицинского вмешательства.
2. Первичная патологическая нейтрофилия - миелоидные лейкозы; одновременно с увеличением количества нейтрофилов при хронической миелолейкемии в крови появляются клетки с хромосомными дефектами - наличие хромосомы Филадельфии; для этой формы характерна и нейтрофильно-базофильная ассоциация - параллельное увеличение количества базофилов в крови.
3. Реактивная патологическая нейтрофилия (вторичная): вызывается воспалительными патологическими процессами: возникает на начальных стадиях острого воспаления, вызванного пиогенными кокками; при травмах, некрозе, включая инфаркт миокарда (асептическое воспаление); при кровоизлиянии в органы.

Варианты вторичной патологической нейтрофилии:

- регенеративные – со сдвигом ядра влево - появление в крови большого количества молодых клеток -несегментированных нейтрофилов, метамиелоцитов (индекс сдвига ядра влево: сумма миелоцитов, метамиелоцитов и несегментированных нейтрофилов по отношению к сегментоядерным нейтрофилам; в норме равен 0,05-0,1);
- дегенеративные – со сдвигом ядра вправо - уменьшение количества молодых клеток, снижение индекса ядерного сдвига, появление старых, гиперсегментированных клеток;
- регенеративно-дегенеративные - увеличение числа несегментированных и юных клеток одновременно с уменьшением количества зрелых клеток; указывает на снижение способности к регенерации и истощение запасов медуллярных гранулоцитов.

4. Нейтрофилия при гиперкортицизме: глюкокортикостероиды стимулируют нейтропоз и препятствуют эмиграции нейтрофилов из сосудистого русла в ткани.
5. Миелоидные лейкоидные (псевдолейкемические) реакции – нейтрофильный гиперлейкоцитоз с очень выраженным сдвигом ядра влево; схожа с лейкемией, но не представляет неопластического процесса; происходит в септических состояниях, токсико-инфекциях; одновременно с разрешением воспалительного процесса количество нейтрофилов возвращается к норме.
6. Относительная нейтрофилия (ложная): увеличение процентного содержания нейтрофилов в лейкограмме за счет снижения процента лимфоцитов; абсолютное количество нейтрофилов при этом не меняется; как таковой нейтрофилии нет.

### **Нейтропении.**

Нейтропения – уменьшение количества нейтрофильных лейкоцитов в единице объема и в общем объеме периферической крови в результате снижения продукции нейтрофилов в красном костном мозге.

Нейтропения устанавливается при первичном разрушении костного мозга либо при подавлении регенерации серии гранулоцитов; характеризуется уменьшением количества нейтрофилов в циркулирующей крови с отсутствием незрелых клеток и инактивацией нейтрофилов в периферических органах, что делает возможной бактериальную агрессию.

Процесс имеет отрицательное значение для организма – подавляется неспецифический иммунитет, предрасположенность к инфекциям.

Причины и патогенез нейтропений:

1. наследственный дефект или повреждение стволовых клеток (апластическая анемия) - проявляется подавлением регенерации всех медуллярных гематopoэтических серий с анемией, гранулоцитопенией, тромбоцитопенией;

2. цитостатики, лучевая терапия опухолей, вирусные инфекции (грипп);
3. аутоиммунная нейтропения: при использовании фармакологических препаратов со свойствами гаптенов (антибиотики, сульфаниламиды, анальгетики и др.) происходит ассоциация препарата с поверхностными антигенами нейтрофилов с образованием полных антигенов, которые вызывают выработку аутоантител; взаимодействие аутоантитела в свободном обращении с гаптенем фиксированном на мембране нейтрофилов приводит к опсонизации Fc фрагментом иммуноглобулина и фрагментом C3b активированного комплемента; опсонизированный нейтрофил фагоцитируется макрофагами селезенки – происходит цитолитическая аллергическая реакция II типа с нейтропенией;
4. поражение предшественников грануло-моноцитопоза аутоагрессивными Т-лимфоцитами (при коллагенозах);
5. неэффективный лейкоцитопоз (дефицит витамина B<sub>12</sub>, фолиевой кислоты, железа);
6. экспансия опухоли в красном костном мозге с подавлением и замещением здоровых клеток; раковая интоксикация;
7. нейтропения путем перераспределения в нейтрофилов сосудистом русле: шок, гемодиализ;
8. агранулоцитоз - крайний случай нейтропении - полное отсутствие или уменьшение числа нейтрофилов ниже 200/мкл.

Последствия нейтропении и агранулоцитоза: естественный иммунодефицит, предрасположенность к острым кокковым инфекциям.

### **3. Количественные изменения в базофильных гранулоцитах и мастоцитах.**

Базофилы - клетки с специфической базофильной зернистостью в цитоплазме - представлены в организме двумя клеточными популяциями: базофильные лейкоциты, циркулирующие в крови, и резидентные мастоциты в тканях.

Базофильные гранулоциты являются самой маленькой популяцией лейкоцитов в крови - 0,5-1% (22-95/мкл).

Базофильные лейкоциты регенерируют в красном костном мозге из миелобласта и дифференцируются в зрелые базофилы через стадии базофильного промиелоцита, базофильного миелоцита, метамиелоцита и сегментированных базофилов. Созревание базофилов в костном мозге длится 2 дня; через 7 дней зрелый базофил выделяется в кровь, где циркулирует в течение 8 часов; после дегрануляции умирает в кровеносном русле. Базофилопоэз стимулируется базофилопоэтином и эстрогенами; ингибируется стероидами и тироксином. Базофилия обнаруживается в фазе разрешения острого воспаления, при стрессе, микседеме.

Мастоциты - клетки, схожие с базофилами. Ранее считалось, что мастоциты являются резидентными базофилами, эмигрировавшими из крови в ткани. Недавно было показано, что это два типа клеток и происходят из двух гематопозитических клеток. Общим предшественником базофилов и мастоцитов является клетка красного мозга, которая экспрессирует CD34; затем незрелые мастоциты выходят из красного мозга в кровотоки, эмигрируют в ткани, где созревают и живут до 2 лет. Морфологически мастоциты отличаются от базофилов - мастоцит имеет большие размеры, ядро не сегментировано. Мастоциты присутствуют в большинстве тканей, окружают кровеносные сосуды и нервы, особенно в коже, легких, пищеварительном тракте, органах ротовой полости, носу, глазах.

Базофилы и мастоциты имеют общую структуру, рецепторы и биохимию и совместно участвуют в патологических процессах: при воспалительных/аллергических реакциях базофилы мигрируют из крови в воспалительные очаги и дополняют функции мастоцитов.

Функции базофилов и мастоцитов осуществляются биологически активными веществами, называемыми медиаторами (общий спектр идентичен для обеих популяций клеток):

- триптаза - протеолитический фермент, активирует комплемент по альтернативному пути с образованием активных фрагментов - анафилатоксинов C3a, C5a, которые обладают несколькими функциями: дегранулируют другие неактивированные мастоциты, запуская цепную аутокаталитическую воспалительную реакцию; вызывают артериальную гиперемию с гиперпроницаемостью сосудов, оказывают хемотаксический эффект для нейтрофилов и эозинофилов;

- гистамин - вызывает артериальную гиперемию с гиперпермеабиллизацией сосудов, обладает хемокинетическим эффектом для лейкоцитов;
- гепарин - натуральный антикоагулянт;
- арилсульфатаза - расщепляет лейкотриены, синтезированные мастоцитами; предотвращает системный бронхоконстрикторный эффект лейкотриенов;
- синтезируют эукозаноиды:
  - простаглицлин – антиагрегантный фактор для тромбоцитов
  - тромбоксаны - проагреганты для тромбоцитов
  - простаглицлин D2- хемотаксический фактор для Th2- лимфоцитов, эозинофилов и базофилов
  - активирующий фактор тромбоцитов (PAF)
  - лейкотриен C<sub>4</sub> - расщепляет PAF;
- IL-4 – интерлейкин стимулирующий синтеза IgE и Ил-13;
- TNF-альфа;
- фактор роста фибробластов
- эозинофильные хемокины
- свободные радикалы.

Резидентные мастоциты и эмигрировавшие из крови базофилы выполняют одинаковые функции в сотрудничестве – мастоциты начинают, а базофилы поддерживают острые воспалительные реакции и немедленные аллергические реакции I и III типа.

При аллергических реакциях типа I взаимодействие между антигеном и антителами происходит на мембране мастоцита с его дегрануляцией, выделением мастоцитарных медиаторов, что инициирует патофизиологическую фазу аллергической реакции.

В аллергической реакции типа III иммунные комплексы проникают в ткани, активируют комплемент с образованием анафилактоксинов C3a, C5a, которые дегранулируют мастоциты, а мастоцитарные медиаторы вызывают острое воспаление.

При острой воспалительной реакции и при аллергических реакциях наряду с мастоцитами участвуют также базофильные лейкоциты крови. Базофилы обладают мембранными рецепторами для хемотаксических факторов (бактериальный формилметионильный пептид, анафилатоксины C3a и C5a, хемокины), для фрагмента Fc IgE, гистамина (H2 рецепторы), для PAMP и DAMP (TLR). Мембранные рецепторы обеспечивают эмиграцию базофильных лейкоцитов из крови в воспаленную ткань – таким образом, функцией базофилов крови является поддержание воспалительной и аллергической реакции, начатой мастоцитами в тканях. В отличие от мастоцитов, которые после дегрануляции требуют некоторого времени для восстановления гранул с биологически активными веществами, базофилы в крови представляют восстанавливаемый источник аллергических/воспалительных медиаторов. Таким образом, тандем мастоциты-базофилы постоянно поддерживает воспалительный/аллергический процесс. (Следует отметить, что в отличие от базофилов, мастоциты после дегрануляции восстанавливают гранулы и живут около 2 лет).

При аллергической реакции вызванной мастоцитами одновременно с базофилами происходит экстравазация эозинофилов в воспалительный очаг, что имеет особое значение: арсенал эозинофильных ферментов деградирует биологически активные вещества (гистаминаза-гистамин, арилсульфатаза – лейкотриены), выделяемые мастоцитами-базофилами, эозинофилы фагоцитируют комплексы антиген-антитело, клеточный детрит и, тем самым, поддерживают воспаление в пределах адекватной интенсивности.

Базофилы в сотрудничестве с эозинофилами осуществляют естественный антипаразитарный иммунитет против многоклеточных паразитов. Паразиты (гельминты) имеют на поверхности естественные рецепторы, к которым прикрепляется IgE; в свою очередь эозинофилы обладают специфическими рецепторами, с помощью которых они прикрепляются к IgE на теле паразитов, выделяют цитолитическое вещество перфорин, который перфорирует клетки паразита и вызывает их гибель (особенно личинок); дополнительно эозинофилы впрыскивают в клетки паразита гранзимы, которые вызывают их апоптоз.



Стимуляция регенерации в системе костно-мозговых базофильных гранулоцитов проявляется увеличением количества базофилов в циркулирующей крови и активацией мастоцитов в периферических органах. Процессы имеют защитное значение.

**Базофилия** – увеличение абсолютного количества базофилов в объемной единице и в общем объеме крови.

*Классификация базофилий:*

1. Первичная базофилия наблюдается при миелопролиферативных процессах, при хроническом миелоидном лейкозе в виде нейтрофилии с базофильно-эозинофильной ассоциацией.
2. Реактивная вторичная базофилия наблюдается в следующих случаях:
  - немедленные аллергические реакции (генерализованные и локальные анафилактические реакции) - анафилактический шок, атопический дерматит, аллергический ринит, пищевая аллергия;
  - гипотиреоз, тиреостатическая терапия (тиреоидные гормоны подавляют регенерацию базофилов);
  - паразитарные и протозойные инвазии;
  - гемофилия.

По техническим причинам (крайне небольшое количество базофилов в крови) базофилию трудно обнаружить и не содержит диагностической или прогностической информации.

Дегрануляция базофилов *in vitro* под действием специфического антигена является приемом для диагностики немедленных аллергических реакций. (Это осуществляется путем инкубации базофилов, собранных от пациента с анафилактической реакцией, с образцами подозреваемых аллергенов – провоцирующий аллерген обнаруживается по дегрануляции базофилов).

**Базопения** из-за очень низкого содержания базофильных клеток в периферической крови не имеет практического применения.

### 3. Количественные изменения эозинофильных гранулоцитов

Эозинофилы регенерируют в красном костном мозге из унипотентной стволовой клетки - миелобласта - и дифференцируются последовательно через стадии эозинофильного промиелоцита, эозинофильного миелоцита и зрелого эозинофила. Производство эозинофилов регулируется IL-3 и 5, колоние-стимулирующим фактором гранулоцитов (GM-CSF). Эозинофилы созревают в красном мозге в течение 8 дней; в сосудистом русле циркулируют в течение 12 часов, после чего они выходят в ткани (кожа, слизистые оболочки пищеварительного тракта, легких, мочевыводящих путей), где они сохраняются в течение 10-12 дней и умирают апоптозом. Активация и миграция эозинофилов стимулируется хемотаксическими факторами:  $C_{3a}$ ,  $C_{5a}$  и  $C_{567}$ , мастоцитарным хемотаксическим фактором, паразитарными антигенами.

Количество эозинофилов в крови составляет около 100-250/мкл - около 1-5% от общего количества лейкоцитов в крови. Содержание эозинофилов в тканях превышает в 100 раз их содержание в крови.

При стимуляции патогенными факторами рост эозинофилов в крови наступает очень рано, но они исчезают из крови через 3 часа, затем снова выходят в кровь из тканей. Рециркуляция кровь – ткань – кровь поддерживает постоянную эозинофилию в крови.

В тканях эозинофилы накапливаются в местах с высокой физиологической концентрацией гистамина – слизистой оболочке кишечника, легких – здесь концентрация клеток превышает их концентрацию в крови в 300 раз.

Основной функцией эозинофилов является естественный антипаразитарный иммунитет – эозинофилы имеют сродство к IgE и IgG, закрепленных на теле многоклеточного паразита. Фиксация эозинофила к телу паразита вызывает дегрануляцию и выделение цитолитических веществ - перфоринов, основного катионного белка, гранзимов, которые вызывает апоптоз клеток и смерть паразита. Другой важной ролью эозинофилов является модуляция воспалительных и аллергических

реакций, вызванных мастоцитами/базофилами путем фагоцитоза и деградации биологически активных веществ, комплексов антиген-антитело, гистамина, лейкотриенов, свободных радикалов и т.д.

Гранулы эозинофила содержат многочисленные биологически активные вещества:

- протеолитические лизосомные ферменты - коллагеназа, эластаза, РНК-аза, катепсины;
- глюкуронидаза;
- липооксигеназа, циклоксигеназа - синтезируют эйкозаноиды;
- пероксидаза - расщепляет перекись водорода;
- арильсульфатаза - расщепляет лейкотриены;
- гистаминаза - расщепляет гистамин;
- главный сновный белок (*major basic protein, MBP*) с цитотоксическим эффектом для личинок паразитов;
- эозинофильные катионные белки с цитолитическим эффектом;
- перфорин - перфорирует цитоплазмическую мембрану клеток паразита, вызывает цитолиз;
- гранзимы - вызывают апоптоз клеток паразитов;
- окислительная система – генерирует реактивные соединения кислорода и галогенов (перекиси, окись азота, галогены, цианиды) с окислительным потенциалом, превосходящий оксидативный потенциал нейтрофилов; вызывают апоптоз и смерть микроорганизмов;
- эозинофильный нейротоксин (*eosinophil-derived neurotoxin, EDN*);
- факторы роста – трансформирующий фактор роста (TGF-бета), эндотелиальный фактор роста, фактор роста тромбоцитов.

#### **Биологическая роль эозинофилов:**

- внеклеточное уничтожение многоклеточных паразитов - основной и катионный белки, перфорины вставляются в цитоплазмическую мембрану, перфорируя ее и вызывая цитолиз;
- РНК-аза оказывает противовирусный эффект;

- стимулируют фибробласты и поствоспалительную регенерацию;
- активные фагоциты - обладают 75% фагоцитарной активности нейтрофилов; фагоцитируют бактерии, микоплазмы, иммунные комплексы, клеточный детрит;
- нейтрализуют гепарин эозинофильными катионными белками.

**Эозинофилия** – увеличение абсолютного содержания эозинофилов в объемной единице и общем объеме крови.

*Причины эозинофилии:*

- паразитозы (гельминты, лямблии, эхинококк, трихинелла);
- реактивные (анафилактические) аллергические реакции;
- лекарственные аллергические реакции - антибиотики, сульфаниламиды, фенотиазины, противотуберкулезные препараты ;
- заболевания соединительной ткани (ревматоидный артрит, склеродермия, узелковый периартериит);
- заболевания легких (бронхиальная астма, саркоидоз, пневмония, плеврит);
- инфаркт миокарда (неблагоприятный предиктор);
- гипокортицизм.

**Эозинопения** - снижение абсолютного содержания эозинофилов в объемной единице и общем объеме крови.

*Причины эозинопении:*

- начальная фаза воспаления;
- гнойные инфекции (неблагоприятный признак);
- шок, стресс, отравления;
- гиперкортицизм;

- злокачественные опухоли.

## 5. Количественные изменения моноцитов/макрофагов.

Моноциты регенерируют в красном костном мозге из монобластной унипотентной стволовой клетки, проходя через этапы промоноцит с созреванием до моноцита. После созревания моноцит находится в костном мозге в течение 3 дней, после чего он выходит в кровь, где циркулирует в течение еще 3 дней и затем эмигрирует в ткани.

В тканях моноциты превращаются в специфические макрофаги: печеночные клетки Купфера, макрофаги лимфоидной ткани, брюшной полости, плевральные, альвеолярные макрофаги, остеокласты в костях, микроглия в ЦНС, дендритные клетки кожи и слизистых оболочек, гистиоциты в соединительной ткани. Каждый час из сосудистого русла в ткани эмигрирует около  $7 \times 10^9$  клеток. В тканях количество макрофагов превышает количество моноцитов в крови в 25 раз. Тканевые макрофаги обладают пролиферативным потенциалом и поддерживают популяцию независимо от красного костного мозга.

Моноцит – это иммунокомпетентная клетка – в сотрудничестве с Т- и В- лимфоцитами осуществляет клеточный и гуморальный иммунный ответ.

Макрофаги производят более 40 биологически активных веществ (SBA):

- протеолитические ферменты;
- радикалы кислорода, галогены, закись азота;
- эндогенные пирогены -IL-2, который на уровне гипоталамуса вызывает лихорадку;
- рецепторы для Fc IgG и для C3b активированного компонента - эти рецепторы распознают и фиксируют опсонизированные C3b и Fc патогенные микроорганизмы с последующим фагоцитозом;
- рецепторы для DAMP и PAMP, для бактериальных липополисахаридов, которые воспринимают эти молекулы и запускают воспаление;

- естественные рецепторы для бактериальных антигенов (например, липополисахариды) придают моноцитам/макрофагам способность неспецифического фагоцитоза при первом контакте с возбудителем.

### **Биологическая роль моноцитов-макрофагов.**

Макрофаги обладают несколькими биологическими функциями:

- неспецифический фагоцитоз - способность распознавать и фагоцитировать любую инородную частицу при первом контакте;
- запускают иммуногенез: распознают, фагоцитируют, обрабатывают чужеродные антигены, связывают их с белками основного комплекса гистосовместимости МСН II и предъявляют их Т- и В- лимфоцитам;
- запускают воспалительную реакцию: распознают молекулы повреждения собственных тканей организма (DAMP) и патогенные молекулы (PAMP) инфекционных возбудителей через естественные рецепторы TLR; выделяют провоспалительные интерлейкины Ил-1, Ил-6, Ил-12, Ил-2, TNF;
- удаляют собственные поврежденные структуры: секретируют ферменты, которые разрушают клеточный детрит (эластазы, коллагеназы, фибриназы);
- стимулируют поствоспалительную регенерацию: секретируют факторы роста, факторы ангиогенеза;
- поддерживают качественный гомеостаз тканей: фагоцитируют поврежденные, раковые клетки;
- обладают бактерицидным эффектом: генерирует свободные радикалы кислорода и хлора.

Макрофаги, происшедшие из моноцитов крови, эмигрировавших в ткани, находятся в неактивном состоянии, но под действием чужеродных антигенов оперативно активируются на уровне генома.

Активация макрофагов антигеном осуществляется двумя способами - классическим и альтернативным - с генерацией двух фенотипов макрофагов с диаметрально противоположными свойствами – провоспалительных макрофагов М I и противовоспалительных макрофагов М II.

Классическая активация макрофагов с генерацией фенотипа МI происходит в начальной фазе воспаления при контакте с лимфоцитами Т1, активированными патогенными вирусами и бактериями.

Замечательным свойством макрофага активированного классическим путем является экспрессия на мембране маркера CD40, синтез TNF-альфа, который паракринно активирует другие неактивные макрофаги – возникает цепная реакция с активацией большого количества макрофагов.

В результате классической активации макрофаги приобретает провоспалительный фенотип, производят провоспалительные цитокины (IL-1, IL-6, TNF-альфа), но мало IL-10 (противовоспалительный цитокин), производит бактерицидные молекулы, повышает устойчивость к внутриклеточным инфекциям, уничтожает опухолевые клетки.

На мембране классически активированного макрофага чужеродный суперантиген экспрессируется в ассоциации с молекулами основного комплекса гистосовместимости МСН II и молекулой В7 (ко-стимулятор в процессе представления антигена). Впоследствии происходит представление антигена Т- и В- лимфоцитам, которые осуществляют иммунные реакции.

Классически активированный макрофаг увеличивает защитные возможности против патогена путем выработки свободных радикалов кислорода и хлора, экспрессией NO-синтазы с образованием окиси азота с бактерицидным эффектом.

Активация макрофага альтернативным путем приводит к образованию макрофагов с противовоспалительным фенотипом М II. Альтернативная активация происходит в период разрешения воспалительного процесса под действием IL-4 и IL-13, иммунных комплексов, глюкокортикостероидов. Фенотип М II производит мало провоспалительных цитокинов, но в большом количестве производит противовоспалительный ИЛ-10; макрофаг М II участвует в иммунных реакциях опосредованных лимфоцитами Th2 (реагиновые аллергические реакции, аллергические реакции при паразитарных инвазиях).

Макрофаги II типа являются иммуномодуляторами, участвуют в ремоделировании тканей, в восстановлении структур поврежденных при воспалении: фагоцитируют клеточный детрит, привлекают эозинофилов в воспалительные очаги, которые фагоцитируют иммунные комплексы, биологически активные вещества, стимулируют регенеративные процессы, стимулируют коллагеногенез, ангиогенез.

Одновременно с активацией макрофагов в периферических тканях, при воспалительных процессах происходит стимуляция регенерации моноцитов в красном костном мозге, что проявляется увеличением количества моноцитов в циркулирующей крови – устанавливается моноцитоз.

**Моноцитоз** – увеличение абсолютного количества моноцитов в объемной единице и общем объеме крови.

Классификация моноцитоза:

- первичный моноцитоз - при хроническом монобластном лейкозе;
- вторичный реактивный моноцитоз - встречается на поздних стадиях воспаления, при выздоровлении, при хронических инфекционных заболеваниях, инфекционном мононуклеозе;
- моноцитарно-макрофагальные лейкомоидные реакции – чрезмерное увеличение количества моноцитов в крови; наблюдается при туберкулезе.

Деструктивные процессы в моноцитарно-макрофагальной системе проявляются подавлением регенерации моноцитов в костном мозге и органах дислокации макрофагов, уменьшением количества моноцитов в крови и инактивацией макрофагов в периферических органах. Легко обнаруживаемым явлением, характерным для этих процессов, являются моноцитопения.

**Моноцитопения** – сокращение абсолютного количества моноцитов в объемной единице и в общем объеме крови.

Причины моноцитопении: гиперкортизолизм, глюкокортикостероидная терапия; апластическая анемия; мегалоцитарная анемию



## Библиография

1. Carol Matson Porth. 7th Edition. Pathophysiology.
2. Corcimaru Ion. Hematologie. Chişinău, 2007
3. D'Angelo G (March 2013). "Role of hepcidin in the pathophysiology and diagnosis of anemia". Blood Research. **48** (1): 10–5. doi:10.5045/br.2013.48.1.10. PMC 3624997. PMID 23589789.
4. Edward F.Goljan. Rapid review pathology. Fourth edition.
5. Fiziopatologie medicală. Vol.I. Chişinău, 2002
6. Fiziopatologie medicală. Vol.II. Chişinău, 2005
7. Lee-Ellen Copstead, Jaquelyne Banasik. Pathophysiology. Fifth edition.
8. Leukocytosis: Basics of Clinical Assessment, American Family Physician. November 2000.
9. Longo, Dan L.; Camaschella, Clara (7 May 2015). "Iron-Deficiency Anemia". New England Journal of Medicine. **372** (19): 1832–1843. doi:10.1056/NEJMra1401038. PMID 25946282.
10. Porth, Carol Mattson (2011), "White blood cell response", Essentials of Pathophysiology: Concepts of Altered Health States (3rd ed.), Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, pp. 64–65, ISBN 978-1-58255-724-3, retrieved 13 November 2011
11. Primack BA, Mahaniah KJ. Anemia. In: South-Paul JE, Matheny SC, Lewis EL. eds. CURRENT Diagnosis & Treatment: Family Medicine, 4e New York, NY: McGraw-Hill; . Accessed November 30, 2018.
12. Robbins and Cotran. Pathologic bases of diseases. Eight edition
13. Rogers, Kara, ed. (2011), "Leukocytosis definition", Blood: Physiology and Circulation, Chicago: Britannica Educational Publishing, p. 198, ISBN 978-1-61530-250-5, retrieved 12 November 2011
14. Zorc, Josep- h J, ed. (2009), "Leukocytosis", Schwartz's Clinical Handbook of Pediatrics (4th ed.), Philadelphia: Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins, p. 559, ISBN 978-0-7817-7013-2, retrieved 12 November 2011
15. "Megaloblastic Anemia: Overview - eMedicine Hematology".