

УДК 576.54, 532.135, 576.526

АГРЕГАЦИЯ ЭРИТРОЦИТОВ: НЕКОТОРЫЕ ВОПРОСЫ И ГИПОТЕЗЫ

И.А. Соколова¹, С.Ю. Рыкова², А.А. Шахназаров¹, М.Э. Гафарова¹, Т.Н. Краснова²,
М.Д. Хохлова³, Е.В. Любин³, М.Н. Скрябина³, А.Г. Жданов³, А.А. Федянин³

¹ Лаборатория биомеханики Института механики МГУ имени М.В. Ломоносова, Россия, 119192, Москва, Мичуринский проспект, 1, e-mail: sokol@imec.msu.ru

² Факультет фундаментальной медицины МГУ имени М.В. Ломоносова, Россия, 119192, Москва, Ломоносовский проспект, 31/5, e-mail: sophiyasu@mail.ru

³ Физический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова, Россия, 119991, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 2, e-mail: khokhlova@nanolab.phys.msu.ru

Аннотация. Обсуждаются некоторые проблемы, связанные с вопросами о механизмах и последствиях агрегации эритроцитов. Приводятся данные, согласующиеся с представлением об исходно компенсаторной природе увеличенного агрегатообразования при заболевании. Представлены характеристики взаимодействия индивидуальных эритроцитов, полученные с помощью метода оптического пинцета. Произведено сравнение экспериментальных и модельных данных, свидетельствующее о том, что при формировании эритроцитарных агрегатов возможно одновременное действие и осмотических сил, и сил, создаваемых молекулярными «мостиками».

Ключевые слова: агрегация эритроцитов, гидродинамическое сопротивление, системная красная волчанка, метод оптического пинцета.

ВВЕДЕНИЕ

Способность эритроцитов взаимодействовать друг с другом и передвигаться как единое целое была описана еще в XVIII веке [25], хотя и не привлекла особого внимания. Интерес к агрегации эритроцитов стимулировали клинические наблюдения, открывшие сопряженную с ней возможность нарушения кровотока на уровне микрососудов [30]. К настоящему времени гиперагрегация эритроцитов и сопутствующее ей повышение вязкости крови выявлены при заболеваниях самого разного генеза [4–6, 40]. Таким образом, подобное нарушение биомеханических свойств крови является типовым патологическим процессом и гиперагрегацию эритроцитов рассматривают как деструктивное явление. Однако последствия агрегации эритроцитов не сводятся к микроциркуляторным нарушениям, обусловливаемым гиперагрегацией.

© Соколова И.А., Рыкова С.Ю., Шахназаров А.А., Гафарова М.Э., Краснова Т.Н., Хохлова М.Д., Любин Е.В., Скрябина М.Н., Жданов А.Г., Федянин А.А., 2011

Соколова Ирина Анатольевна, д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории биомеханики, Москва

Рыкова Софья Юрьевна, ординатор факультета фундаментальной медицины, Москва

Шахназаров Александр Арамович, к. ф.-м. н., заведующий лабораторией биомеханики, Москва

Гафарова Марина Эдуардовна, инженер лаборатории биомеханики, Москва

Краснова Татьяна Николаевна, к.м.н., доцент факультета фундаментальной медицины, Москва

Хохлова Мария Дмитриевна, студентка VI курса физического факультета, Москва

Любин Евгений Валерьевич, аспирант физического факультета, Москва

Скрябина Мария Николаевна, студентка IV курса физического факультета, Москва

Жданов Александр Григорьевич, аспирант физического факультета, Москва

Федянин Андрей Анатольевич, д.ф.-м.н., старший преподаватель физического факультета, Москва

В последние годы все большее внимание уделяют функциональным последствиям динамичной агрегации–деагрегации эритроцитов в норме. В условиях нормального веноулярного кровотока, при отсутствии значительных, разъединяющих клетки сил эритроциты обратимо взаимодействуют друг с другом. Известно, что благодаря агрегации эритроцитов эффективная вязкость крови при низких скоростях (напряжениях) сдвига может сильно возрасти, и эксперименты подтвердили справедливость этого положения для кровотока в венах [14]. Однако при интенсификации агрегации эритроцитов в условиях течения по прямым капиллярным трубочкам и отдельным сосудистым регионам (где сопротивление кровотоку определяется преимущественно артериолами) было также отмечено уменьшение сопротивления кровотоку. Учитывая особенности ангиоархитектоники, разнонаправленное изменение гидродинамического сопротивления в артериальных и венозных микрососудах связывают с возможностью снижения энергетических потерь на длинных участках артериол, практически отсутствующих в области венул. Действительно, в сильно ветвящихся венах, благодаря постоянным вливаниям эритроцитов из боковых ветвей, поток остается относительно однородным, в то время как на длинных участках между ветвлениями артериол в явном виде может проявиться результат осевой миграции эритроцитарных агрегатов – формирование пристеночного плазматического слоя с пониженной эффективной вязкостью [11, 21, 38]. Тем не менее поток в артериолах имеет отличные от веноулярного гидродинамические характеристики, и остается под вопросом возможность дополнительного снижения энергетических потерь в области артериолярных бифуркаций.

Снижение гемодинамического сопротивления означает облегчение транспорта кислорода, переносимого в связанной с эритроцитарным гемоглобином форме. Дополнение этих данных результатами опытов *N. Tateishi et al.* [44], открывшими возможность уменьшения отдачи – «потери» кислорода в артериолах при агрегации эритроцитов, приводит к постановке второго вопроса. Не может ли умеренная «гиперагрегация» развиваться как компенсаторное явление? Этот вопрос представляется тем более справедливым, что усиленное образование «монетных столбиков» способствует маргинации лейкоцитов [37] и таким образом может интенсифицировать защитные реакции.

Агрегация эритроцитов таит в себе одну существенную загадку: до сих пор отсутствует определенность в вопросе о ее механизмах. Давно известно, что агрегация–деагрегация эритроцитов является результатом действия различных сил, способствующих суспензионной стабильности крови или, напротив, агрегации клеток [21, 42]. Известно также, что необходимым условием последней является наличие в плазме крови высокомолекулярных белков, преимущественно фибриногена [32]. Вместе с тем остается неясным, каким образом высокомолекулярные соединения способствуют агрегации эритроцитов. Как правило, используют два основных объяснения. Одно из них является развитием представлений о поведении частиц в растворах полимеров [8]. Согласно ему около поверхности эритроцитов, благодаря конформационным особенностям полимерных молекул, формируется «истощенный» слой, содержащий уменьшенную по сравнению с основной массой плазмы концентрацию полимера. Сопутствующее возникновение осмотического (*in vivo* – онкотического) градиента вызывает движение воды из «истощенного» слоя, а для соседних клеток – из зазора между ними, что приводит к дальнейшему сближению и агрегации эритроцитов [34]. Подтверждением существования около клеток «истощенного» слоя жидкости, обладающего относительно малой вязкостью, служат данные о непропорционально малом уменьшении электрофоретической подвижности эритроцитов в растворе весьма вязкого декстрана-70 по сравнению с их подвижностью в плазме крови [35].

Второе объяснение базируется на электронно-микроскопических данных изучения взаимного расположения молекул полилизина и агрегировавших с его помощью эритроцитов [27]. Они совместно с последующим раскрытием роли биополимеров плазмы и данными об увеличении расстояния между соседними эритроцитами с ростом молекулярной массы участвующего в их агрегации полимера привели к появлению представления о связывающих клетки молекулярных «мостиках» [17]. В подтверждение этого объяснения можно привести данные о взаимодействии индивидуальных эритроцитов, полученные методом оптического пинцета, который позволяет осуществлять трехмерный захват микрообъектов с помощью жестко сфокусированного лазерного луча. Первая работа с биологическими клетками с помощью этого метода [9] открыла перспективу исследования поведения клеток в их естественной среде обитания с исключением артефактов, связанных с наличием инородных поверхностей и микроманипуляторов. Применительно к процессу агрегации эритроцитов в работе *Bronkhorst et al.* было показано, что при разъединении парных агрегатов методом оптического пинцета эритроциты могут продолжать взаимодействовать практически в одной «точке». Сила этого взаимодействия в случае превалирования в агрегате осмотических сил должна быть весьма незначительной, однако она, напротив, возростала по сравнению с наблюдавшейся при взаимодействии клеток с большими поверхностями [16].

Против каждого из приведенных основных объяснений имеются возражения [7, 39]. Тем не менее сравнение экспериментальных и расчетных данных показало, что и осмотических сил, и сил, определяемых «мостиками», может быть достаточно для обеспечения регистрируемых феноменов [35, 42]. Модельные исследования также не позволили отдать предпочтение одному из объяснений [10, 18]. Не исключено, что для процесса агрегации эритроцитов значимыми являются оба вида сил. Вместе с тем, между «теорией мостиков» и «теорией истощенного слоя» существует явное противоречие: концентрация полимерных молекул в зазоре между соседними эритроцитами, согласно первой из них, должна быть значительной, а согласно второй – уменьшенной. Данное противоречие пытались разрешить, представляя первоначальное действие осмотических сил с последующим образованием «мостиков» [16]. Расчеты *J. Zhang et al.*, показавшие, что при небольших силах взаимодействия эритроциты в агрегате могут сохранять двояковогнутую форму [45], подняли вопрос о том, не может ли разобщение обоих механизмов происходить не во времени, а в пространстве.

Целью данной работы явились изучение возможности компенсаторной интенсификации агрегации эритроцитов, а также характеристика процесса парного взаимодействия клеток в условиях минимизации артефактных воздействий (методом оптического пинцета).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальная часть работы состояла из двух этапов, один из которых был посвящен исследованию интегральных гемореологических характеристик, а другой – изучению процесса агрегации индивидуальных эритроцитов.

Первый этап работы включал две серии опытов.

Первая экспериментальная серия была посвящена изучению возможности стимулируемого агрегацией эритроцитов уменьшения гемодинамического сопротивления, связанного с процессами, происходящими в области бифуркаций.

Гемодинамические последствия агрегации эритроцитов в потоке сложной геометрии исследовали с использованием ветвящейся системы стеклянных трубочек (с внутренним диаметром 1,5 мм), которая имитировала сеть сосудов, но позволяла исключить существенно влияющие на сопротивление потоку вазомоторные реакции (рис. 1).

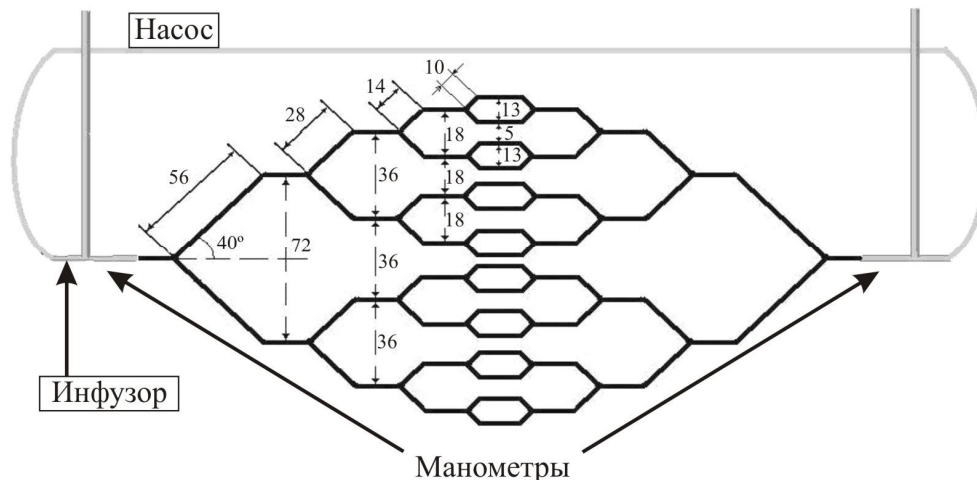


Рис. 1. Схема ветвящейся системы стеклянных трубочек. Размеры приведены в мм

Систему перфузировали (с помощью насоса “Minipuls 3”, GILSON) с постоянным расходом (5 мл/мин) суспензией донорских эритроцитов (40%) в физиологическом растворе. Измеряли разницу давлений на входе в систему и на выходе из нее, т.е. перепад давления, прямо пропорциональный гемодинамическому сопротивлению. После фонового измерения в поток (в течение 1 мин, с помощью инфузора “Perfusor compact 5”, B. BRAUN) вводили способствующие агрегации эритроцитов полимеры или контрольные растворы, после чего производили повторное измерение.

Стимулирование агрегации эритроцитов осуществляли с помощью декстрана-500 при его конечной концентрации 0,8% (15 опытов) или 2% (7 опытов), а также с помощью полиэтиленоксида *Polyox WSR-301* ($\sim 5 \cdot 10^6$ кДа, конечная концентрация – 10^{-6} г/мл; 15 опытов). В контрольных экспериментах вводили аналогичный объем (0,001 мл) физиологического раствора (15 опытов), а также раствор полиэтиленгликоля (400 кДа; 10 опытов).

Реологические свойства эритроцитов контролировали (при 25°C) с использованием эритроагрегометра “LADE” (РеоМедЛаб; реологический зазор – 0,9 мм, $\lambda = 650$ нм) в пробах, забранных из системы после введения в нее тестируемых растворов. Методом регистрации обратного светорассеяния [19] определяли характерное время спонтанной агрегации эритроцитов (t), размер эритроцитарных агрегатов (A) и их прочность в условиях сдвигового течения ($I_{2,5}$ – доля агрегатов, распадающихся при минимальной скорости сдвига $2,5 \text{ c}^{-1}$, взятая с обратным знаком для превращения $I_{2,5}$ из показателя легкости распада в показатель прочности агрегатов, и β – показатель прочности основной массы агрегатов) [4, 31].

Во второй серии опытов исследовали возможность того, что умеренная «гиперагрегация» эритроцитов может иметь не только патологический, но и компенсаторный характер.

Функциональные последствия агрегации эритроцитов оценивали путем сопоставления исходной выраженности этого процесса и динамики последующего развития заболевания у 39 больных системной красной волчанкой (СКВ). Контрольные измерения были проведены у 28 практически здоровых людей.

Показатели спонтанной агрегации эритроцитов (t , A , см. выше) и их дезагрегации в сдвиговом потоке ($I_{2,5}$, β ; см. выше) определяли в пробах крови, забранных у пациентов из срединной локтевой вены (*v. mediana cubiti*) натощак между 7.30 и 8.00 часами. Объем пробы составлял 9 ± 1 мл (среднее \pm стандартное отклонение).

Кровь, стабилизированную *EDTA* (0,002 г/мл), сохраняли в закрытых пластиковых пробирках при температуре 23° С. Измерения проводили через 3±2 часа после взятия пробы при температуре 25° С. После определения гематокритного числа методом центрифугирования (с помощью микроцентрифуги “*HC-702*”, *APEL*, 12 000 мин⁻¹, 6 мин) его приводили к стандартным значениям, равным 40%.

Обследование больных, включавшее стандартные методы: общий и биохимический анализ крови, общий анализ мочи и анализ мочи по Нечипоренко, ультразвуковое исследование почек, электрокардиографию и рентгенографию – осуществлялось в клинике нефрологии, внутренних и профессиональных заболеваний им. Е.М. Тареева. Активность заболевания определяли на основании клинической картины (наличия поражений кожи, суставов, миалгии, тромбозов, серозита/плеврита, лихорадочного синдрома, трофических нарушений) и иммунологических показателей (концентрации иммуноглобулинов, антинуклеарного фактора, антител к ДНК, гемолитической активности комплемента, наличия *LE*-клеток, волчаночного антикоагулянта) с использованием балльной оценки.

Второй этап работы, состоявший из трех частей, был посвящен изучению вопроса о тонких особенностях и механизмах агрегации эритроцитов. Исследование параметров агрегации индивидуальных эритроцитов проводили с использованием метода оптического пинцета.

Экспериментальная установка представляла собой двухлучевую модификацию оптического пинцета («ловушки»), позволяющую захватывать две клетки одновременно и контролировать расстояние между ними с точностью до 30 нм. Для формирования оптических ловушек использовались два АИГ-*Nd* лазера с мощностью излучения на выходе 100 мВт каждый и длиной волны 1064 нм. Излучение лазеров фокусировалось объективом *Olympus* с ЧА = 1,3. Образец представлял собой кровь, разведенную собственной плазмой до концентрации эритроцитов ~ 5·10⁻³ мкл⁻¹ и помещенную в тонкий ($d \approx 100$ мкм) герметичный зазор между покровными стеклами. Система регистрации и одновременно визуализации захваченных эритроцитов осуществлялась в геометрии на просвет с использованием ПЗС-камеры. Сила оптического захвата контролировалась путем ослабления мощности лазерных пучков с помощью добавления поглощающих светофильтров. Количество измеренных пар клеток составило от 5 до 15 для каждой пробы крови (в среднем – 10 пар) от 30 практически здоровых людей и 10 больных СКВ.

В первой серии измерений исследовали динамику образования агрегата. В каждом опыте два свободных эритроцита захватывали с помощью оптических ловушек и подводили друг к другу до соприкосновения. Далее оптические ловушки выключали, после чего процесс агрегации фиксировался с помощью ПЗС-камеры. В результате обработки видеозаписей определяли скорость образования агрегата.

Во второй серии непосредственно измеряли силу взаимодействия клеток. Для этого исходно, после захвата двух эритроцитов в две независимые ловушки, проводили их искусственную агрегацию. После достижения полного перекрытия эритроцитов выжидали фиксированное (~3 с) время – время формирования агрегата t_a . Потом двойной агрегат разъединяли, последовательно прилагая к эритроцитам калиброванные, пошагово возрастающие силы. Для этого мощность лазера изменяли, устанавливая сначала 30%-ные, потом 38%-ные, 50%-ные, 70%-ные фильтры, и в заключение эритроциты разъединяли с максимально возможной силой без использования фильтров. При каждом из воздействий определяли величину перекрытия эритроцитов, которая постепенно уменьшалась. В результате оценивали силу взаимодействия данной пары клеток (равную приложенной силе со стороны оптических ловушек) при каждой из площадей перекрытия эритроцитов.

Модельную оценку силы взаимодействия проводили исходя из того, что данная сила является поверхностной, т.е. потенциал взаимодействия пропорционален площади перекрытия клеток.

В третьей серии опытов, используя схему измерений, описанную для второй серии, проводили искусственную агрегацию эритроцитов с контролируемым временем формирования агрегата t_a . Однако время формирования агрегата варьировали, используя одну и ту же пару эритроцитов, а затем разъединяли клетки с помощью оптических ловушек фиксированной мощности. Измерения были проведены на трех различных пробах нормальной крови, на четырех парах эритроцитов внутри каждой пробы. Силу взаимодействия эритроцитов оценивали на основании данных об остаточной площади их взаимодействия: минимальная величина перекрытия поверхностей клеток, достигнутая при попытке их разъединения с фиксированной силой, считалась пропорциональной силе взаимодействия клеток. Таким образом, определяли характер поведения величины пиковой силы взаимодействия эритроцитов в зависимости от предшествующего времени их взаимодействия в агрегате.

Статистический анализ результатов первой части работы был осуществлен с использованием пакета программ *SPSS 12*. Характер распределения данных оценивали с помощью теста *Shapiro-Wilk* и в соответствии с результатом в дальнейшем использовали критерии для нормально распределенных данных или непараметрические критерии. В первой серии опытов достоверность различия средних значений до и после воздействия определяли с помощью парного критерия *Student* или критерия *Wilcoxon*. В первой и второй сериях опытов при наличии нескольких групп данных различия между ними оценивали путем дисперсионного анализа (с последующим множественным сравнением с помощью критерия *Scheffe*) или с использованием непараметрического критерия *Kruskal-Wallis*. В случае двух групп данных в первой серии опытов использовали *t*-критерий *Student* или непараметрический критерий *Mann-Whitney*. Во второй серии опытов проводили также корреляционный анализ с применением статистики *Spearman*.

Анализ экспериментальных данных второй части работы осуществляли с помощью пакета *Origin 8.0*. Пакет использовался для обработки экспериментальных данных и их графического представления, для получения величин скорости агрегации, ее средних значений и стандартных отклонений, для выявления временной динамики силы агрегации и анализа статистики по реализациям искусственной дезагрегации. Для обработки изображений захваченных эритроцитов была написана специальная программа, позволяющая определять величины перекрытия эритроцитов в агрегате с точностью до 1 мкм.

Данные представлены в виде средних значений \pm стандартного отклонения (*SD*).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование гемодинамических последствий агрегации эритроцитов в условиях течения со сложной геометрией дало следующие результаты.

Исходно в суспензии эритроцитов в физиологическом растворе агрегаты отсутствовали, хотя клетки могли быстро и кратковременно объединяться, вероятно, в силу давно известных энергетически выгодных процессов, сопряженных с уменьшением суммарной поверхности раздела фаз и поверхностного натяжения [36]. В наших опытах не удалось оценить весьма значительную скорость подобного «схлопывания» эритроцитов, однако можно было охарактеризовать средний размер частиц в суспензии с помощью параметра A , составившего $46,3 \pm 39,8$ усл. ед. Параметр A был подвержен значительным колебаниям. При приложении минимальных сдвиговых напряжений он резко уменьшался, т.е. группы «схлопнувшихся» эритроцитов были чрезвычайно нестойки и неуловимо быстро распадались в потоке.

При введении в суспензию известного стимулятора агрегации эритроцитов декстрана с молекулярной массой 500 кДа [39] формировались агрегаты со средним характерным размером $A = 81,1 \pm 16,8$ усл. ед. ($p < 0,045$ по сравнению с контролем) – в случае 0,8%-ной концентрации полимера и $A = 110,0 \pm 22,0$ усл. ед. – в случае его 2%-ной концентрации ($p < 0,001$ по сравнению с контролем, $p < 0,013$ по сравнению с 0,8%-ным декстраном), т.е. с увеличением концентрации декстрана агрегация эритроцитов интенсифицировалась. При максимальной 2%-ной концентрации декстрана гемодинамическое сопротивление имело четкую тенденцию к возрастанию (в среднем с $1,59 \cdot 10^9$ до $1,73 \cdot 10^9$ Па·с/м³). Этот эффект мог быть связан не только с агрегацией эритроцитов, но и с увеличением вязкости самого раствора из-за наличия в нем большого количества полимерных молекул. Эксперименты с минимальными дозами декстрана (0,8% в суспензии) показали, что гемодинамическое сопротивление, исходно составлявшее $(1,62 \pm 0,17) \cdot 10^9$ Па·с/м³, после введения полимера снижалось на 13,0% ($p < 0,036$), и единственным фактором, который мог вызвать это уменьшение, явилась агрегация эритроцитов.

Дополнительная проверка с использованием полимера другой природы, полиэтиленоксида, привела к результату, аналогичному полученному при использовании минимальной дозы декстрана. Инъекция микродоз полиэтиленоксида вызвала агрегацию эритроцитов с характерными временем реакции (параметр t) порядка 1 с, размером агрегатов (параметр A) порядка 68 усл. ед. Гидродинамическая прочность агрегатов была весьма незначительна – параметр β (порядка $4,7$ с⁻¹) был зарегистрирован на грани чувствительности прибора. Тем не менее этого оказалось достаточным для небольшого, но значимого снижения сопротивления потоку – с $(1,65 \pm 0,23) \cdot 10^9$ до $(1,52 \pm 0,19) \cdot 10^9$ Па·с/м³ ($p < 0,017$).

Результаты введения полиэтиленоксида и минимальных доз декстрана контрастировали с результатами контрольных опытов с введением как физиологического раствора, так и низкомолекулярного полиэтиленгликоля, когда показатели динамики агрегации–деагрегации клеток практически не регистрировались, т.е. агрегация эритроцитов отсутствовала. В контрольных опытах условных изменений гемодинамического сопротивления выявить не удалось.

Полученные данные свидетельствуют о том, что уменьшение сопротивления кровотоку в результате агрегации эритроцитов возможно не только уже известным образом на длинных участках артериол [38], но и в системе, обладающей многочисленными ветвлениями. Не исключено, что агрегат эритроцитов способен проходить относительно широкие артериолярные бифуркации с меньшими энергетическими потерями, чем аналогичная совокупность одиночных эритроцитов. В любом случае как литературные данные, так и наши эксперименты открывают возможность облегчения кровотока в результате усиления агрегированности эритроцитов.

Усиленное взаимодействие эритроцитов, особенно характеризующееся появлением агрегатов в артериолах, является давно известным признаком патологического процесса [30]. Вместе с тем в настоящее время очевидно, что патологические процессы помимо деструктивной, могут иметь и компенсаторную компоненту. При проверке гипотезы о компенсаторном характере умеренной «гиперагрегации» эритроцитов авторы основывались на том, что в случае правильности этой гипотезы, во-первых, интенсификация некоторых параметров, характеризующих процесс агрегации, может быть предвестником последующего улучшения состояния больных, и во-вторых, в состоянии временного улучшения – ремиссии, когда патологические процессы ослабевают, а компенсаторные, напротив, интенсифицируются, процесс агрегации может активироваться. Анализ этих возможностей был произведен во второй серии опытов.

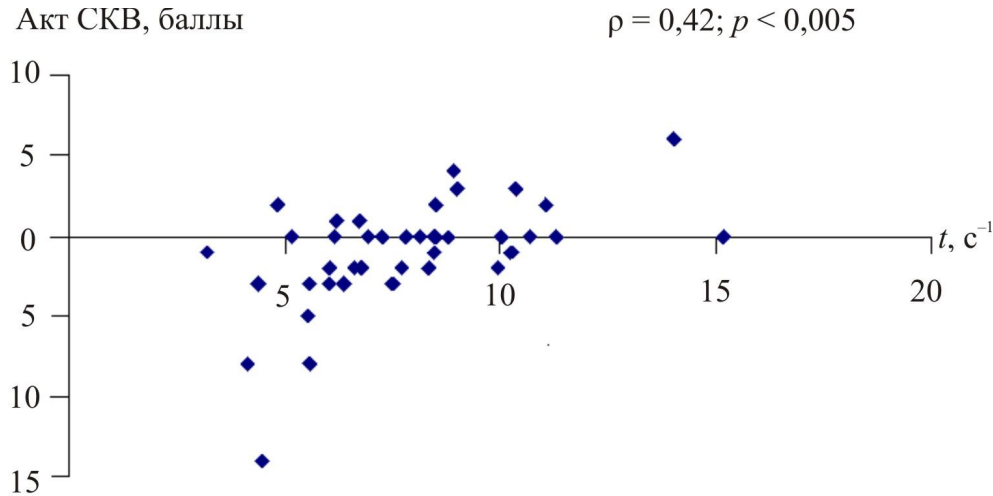


Рис. 2. Сопоставление исходных значений характерного времени агрегации эритроцитов (t) с активностью системной красной волчанки (Акт СКВ), оцененной через полмесяца после гемореологического обследования. При нарастании величины баллов Акт СКВ отражает степень интенсификации заболевания и наоборот

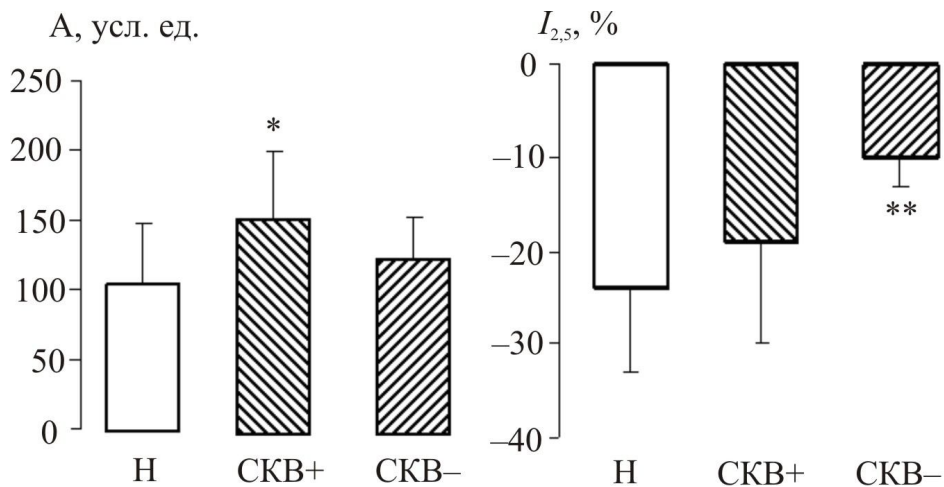


Рис. 3. Характерный размер агрегатов эритроцитов (A) и прочность самых крупных агрегатов ($I_{2,5}$) в норме (Н) и у больных системной красной волчанкой в ремиссии, у которых в последующем произошло улучшение (СКВ+) или ухудшение (СКВ-) состояния; * – $p < 0,08$; ** – $p < 0,01$ по сравнению с нормой

Различные параметры, характеризующие процесс агрегации–деагрегации эритроцитов у больных СКВ, авторы сопоставили с комплексной оценкой активности заболевания, произведенной через полмесяца после гемореологического обследования. Оказалось, что больные с исходно ускоренной агрегацией эритроцитов имели большие шансы на последующее улучшение состояния (рис. 2).

На рис. 3 представлены результаты сравнения гемореологических параметров в норме и у больных СКВ в состоянии ремиссии (13 человек: 6 – с последующим (через полмесяца) улучшением состояния и 7 – с его ухудшением). Видно, что у больных с глубокой гемореологической патологией – аномальным возрастанием прочности крупных агрегатов эритроцитов (сравните параметр $I_{2,5}$ в группах «СКВ–» и «Н») – заболевание в последующем усугублялось. Образование агрегатов увеличенного размера (сравните параметр A в группах «СКВ+» и «Н»), но относительно нормальной прочности (см. параметр $I_{2,5}$) явилось предвестником будущего улучшения состояния.

Таким образом, у больных СКВ в состоянии ремиссии процесс агрегации эритроцитов был активирован, причем в случае небольшого изменения показателя прочности эритроцитарных агрегатов эта «гиперагрегация» явилась благоприятным признаком. Конечно, последующее улучшение состояния пациентов могло происходить и независимо от гемореологических изменений, однако с учетом всех данных, приведенных выше (см. рис. 2 и 3), представляется вполне допустимым заключение о том, что умеренная интенсификация агрегации эритроцитов при СКВ может носить и компенсаторный характер.

В целом не исключено, что интенсификация агрегации эритроцитов вплоть до появления агрегатов на уровне артериол не всегда отражает лишь деструктивные явления. Представление об артериолах как о «транспортных» сосудах было пересмотрено после обнаружения выхода из них существенного количества кислорода [20], что поколебало позиции капилляров как основного звена на пути кислорода от легких до органов и тканей. Тем не менее, как показывает недавнее исследование *A.S. Golub* и *R.N. Pitman* [23], оценки роли артериол как сосудов, отдающих кислород тканям, могут быть завышены, и капилляры могут не только демпфировать неравномерности в распределении кислорода [26], но и являться базовым элементом в системе кислородоснабжения. Вообще выход кислорода, распространяющегося в тканях диффузией, из более плотной сети (капилляров) представляется предпочтительным. С учетом этого образование агрегатов эритроцитов в артериолах может быть функционально выгодным, так как оно может способствовать обсуждавшемуся ранее возрастанию эффективности доставки эритроцитов и, следовательно, кислорода к более плотной сети капилляров. Не исключено даже, что в части артериол, в некоторых их зонах – близ оси потока, в области уплощения профиля скоростей [33], которое в венах сопряжено с образованием эритроцитарных агрегатов [13], напряжение сдвига и в норме не всегда превышает пороговое значение, необходимое для разъединения клеток.

Можно предположить, что там могут формироваться временные, небольшие (парные?) агрегаты эритроцитов, особенно если учесть весьма быстрое их образование *in vivo* (за 0,15–0,3 с [28]). Косвенным свидетельством в пользу этой гипотезы являются данные о том, что в результате не превышающей нормальные пределы искусственной (с помощью декстрана-500) агрегации эритроцитов крыс происходят изменение паттерна содержащих эритроциты «функционирующих» капилляров и небольшое, но значимое снижение их плотности [29]. Подобные явления могут отражать в том числе и перераспределение эритроцитарных агрегатов на артериолярных бифуркациях. Методом кино съемки в артериолах также было зарегистрировано неравномерное распределение эритроцитов, описываемое *Bloch* как наличие «масс» клеток («не агрегатов») [15]. Естественно, в настоящее время нельзя опровергнуть слова автора о том, что в норме это не агрегаты. При патологии предположению о возможном компенсаторном характере образования агрегатов эритроцитов в артериолах также можно противопоставить, например, то, что подобные аномальные объединения клеток трудно разобщить на уровне капилляров. Тем не менее не исключено, что связанное с возросшей агрегацией небольшое увеличение неравномерности поступления клеток в капилляры может оказывать и благоприятное действие, сопоставимое с известным положительным влиянием импульсной гипоксической или ишемической тренировки [2, 3].

На настоящем этапе авторами получены лишь первые свидетельства в пользу гипотезы о компенсаторном характере умеренной интенсификации эритроцитарной агрегации, и для ее проверки требуются дальнейшие исследования. В отличие от компенсаторного, деструктивное влияние патологической агрегации давно не вызывает сомнений [5, 6, 30, 40, 42]. Тем удивительней отсутствие ясности в вопросе о механизмах агрегации.

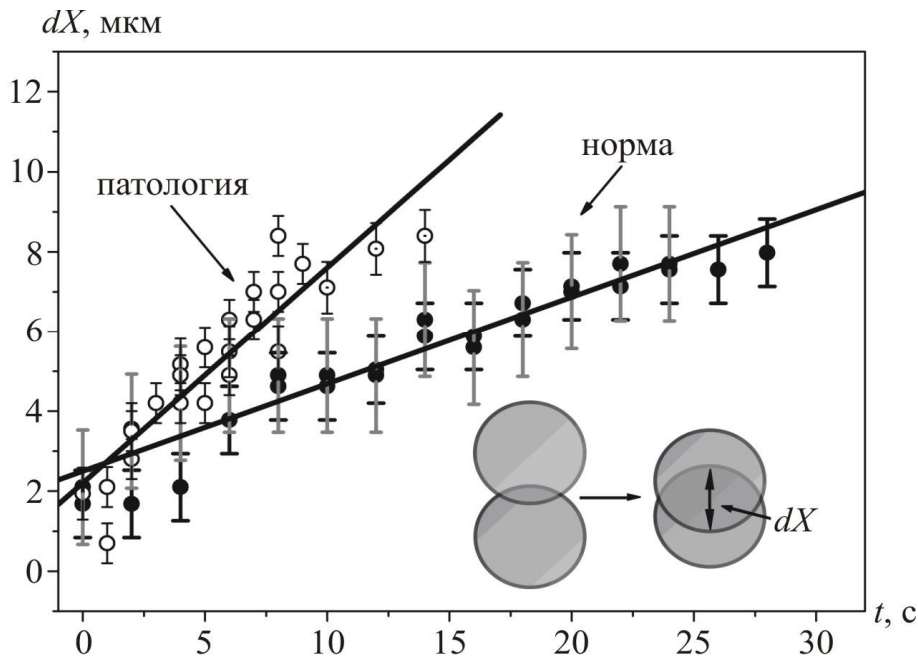


Рис. 4. Зависимость величины перекрытия агрегирующих эритроцитов (dX) от времени (t) в норме и у больных системной красной волчанкой

Для подхода к этому вопросу во второй части работы авторы *in vitro* исследовали процесс образования и разрушения парных агрегатов эритроцитов.

В первой серии была измерена скорость спонтанного взаимодействия эритроцитов. При обработке видеозаписи эксперимента определялось изменение величины перекрытия агрегирующих эритроцитов со временем. Результаты представлены на рис. 4.

Скорость агрегации эритроцитов определялась путем линейной аппроксимации экспериментальных точек. Значение скорости агрегации эритроцитов в норме составило $v = 0,3 \pm 0,04$ мкм/с, а при СКВ $v = 0,53 \pm 0,02$ мкм/с (приведенные ошибки значения скорости агрегации включают в себя ошибку при обработке изображения (1 мкм) и ошибку линейной аппроксимации экспериментальных данных).

Полученные данные на новом уровне подтвердили многочисленные наблюдения, свидетельствующие о возможности спонтанной агрегации эритроцитов. Действительно, условия опыта – сближение взвешенных в плазме эритроцитов методом оптического пинцета до взаимного касания «в одной точке», 1–2-секундная фиксации в этом положении и выключение лазерных лучей – позволяют говорить о практическом отсутствии каких-либо внешних влияний на клетки на больших, чем при использовании других методов, основаниях. Тем не менее даже в этих условиях эритроциты агрегируют, причем само соприкосновение клеток стимулирует их дальнейшее взаимодействие. Не исключено, что контакт в «одной точке» приводит к уменьшению расстояния между соседними с этой «точкой» областями двух клеток до критического уровня с последующим взаимодействием этих областей и, соответственно, сближением следующих, хотя не ясно, что определяет направление этого процесса. Сравнение времени, затрачиваемого на полное перекрытие клеток при их спонтанной агрегации (при патологии – ~ 10 с, в норме – ~ 25 с; см. рис. 4), со временем, за которое агрегация эритроцитов происходит *in vivo* (0,15–0,30 с [28]), не позволяет придавать спонтанной агрегации большое практическое значение, однако полученные данные могут способствовать дальнейшему раскрытию механизмов

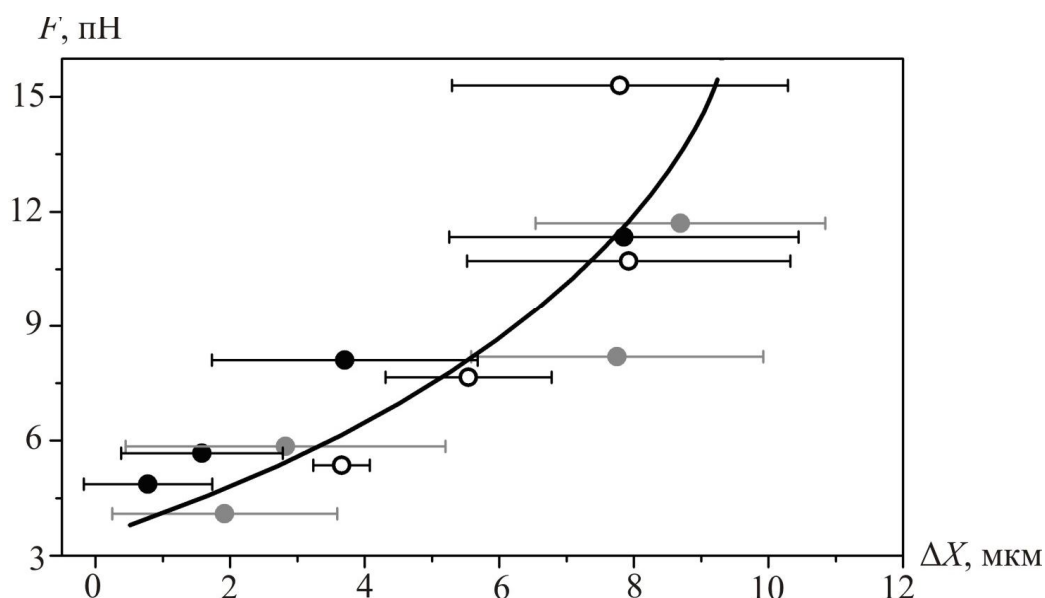


Рис. 5. Экспериментальная зависимость силы взаимодействия пары эритроцитов (F) от расстояния между их центрами (ΔX) при искусственной дезагрегации с помощью метода оптического пинцета. Три различных набора точек соответствуют измерениям по трем различным агрегатам внутри одного образца крови в норме. Сплошная линия – усредненные данные

агрегации эритроцитов, так как позволят сопоставить расчетную скорость действия предположительно наиболее значимых сил и реальную скорость спонтанной агрегации, в среднем равную 0,3 мкм/с.

Во второй серии опытов с индивидуальными эритроцитами парные агрегаты клеток разъединяли с помощью метода оптических пинцетов. Прикладываемые к клеткам силы (порядка десятка пН) не травмировали эритроциты [24], но и не всегда позволяли их разделить. Наблюдалось четыре качественно различных сценария искусственной дезагрегации: неудачная дезагрегация, дезагрегация до конечной площади перекрытия эритроцитов, дезагрегация до «точки» и удачная дезагрегация. Последняя реализовалась в 9% случаев.

Зная количественные характеристики оптической ловушки, можно непосредственно измерять силу взаимодействия отдельных пар эритроцитов, которая в равновесном состоянии соответствует силе, приложенной со стороны оптических ловушек. Экспериментальная зависимость силы взаимодействия эритроцитов от расстояния между их центрами представлена на рис. 5.

Данное взаимодействие клеток можно смоделировать исходя из предположения о поверхностной природе силы агрегации. При этом потенциал взаимодействия двух эритроцитов можно описать выражением $W = -\sigma \cdot S$, где σ – коэффициент пропорциональности, определяющий характер взаимодействия, а S – площадь перекрытия эритроцитов в агрегате. Сила взаимодействия (сила агрегации) выражается как $F = -\partial W / \partial X = -\sigma \cdot \partial S / \partial X$. Изменение площади перекрытия эритроцитов при взаимном смещении их центров, очевидно, зависит от формы этих площадей. Традиционно считается, что эритроциты в агрегате соприкасаются плоскостями [43], хотя есть основания полагать, что при формировании агрегата в условиях действия малых сил клетки могут сохранять двояковогнутую форму [45]. Поэтому было рассмотрено две модели взаимодействия эритроцитов в агрегате. Первая предполагала дисковидную форму взаимодействующих эритроцитов (рис. 6, а). Вторая модель учитывала двояковогнутость эритроцитов и предполагала кольцевидную форму

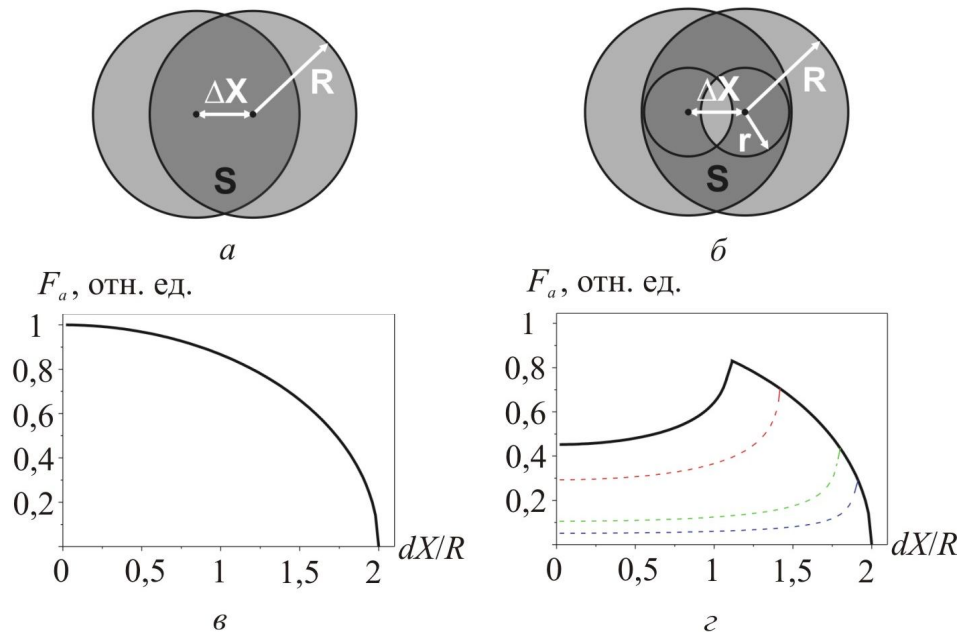


Рис. 6. Модели взаимодействия пары эритроцитов (*а* – модель дисков; *б* – модель колец) и зависимость силы взаимодействия эритроцитов (в нормированных единицах) от расстояния между их центрами (в нормированных на радиус эритроцита единицах): *в* – для модели дисков; *г* – для модели колец (штриховые кривые соответствуют различным соотношениям внутреннего и внешнего радиусов колец). Более темные области соответствуют соприкасающимся поверхностям в рассматриваемой модели

взаимодействующих площадей перекрытия (рис. 6, *б*). При этом считалось, что в области перекрытия вогнутых участков клеток контакта поверхностей нет вследствие стремления эритроцитов сохранить двояковогнутую форму.

Для модели дисков сила взаимодействия между эритроцитами в агрегате выражается как $F_a(\Delta X) = (\sigma/R)\sqrt{4R^2 - \Delta X^2}$. Для модели колец как

$$\begin{cases} F_a = (\sigma/R)\left(\sqrt{4R^2 - \Delta X^2} - \sqrt{4r^2 - \Delta X^2}\right), & \Delta X < 2r; \\ F_a = (\sigma/R)\sqrt{4R^2 - \Delta X^2}, & \Delta X > 2r. \end{cases}$$

Таким образом, по первой модели при сдвиге эритроцитов одного по другому в противоположные стороны сила агрегации монотонно падает (рис. 6, *в*), что противоречит экспериментам, в которых сила взаимодействия эритроцитов при разъединении агрегата возрастала. Видно, что экспериментальные кривые зависимости силы агрегации от расстояния между центрами клеток (см. рис. 5) качественно совпадают с начальными растущими участками теоретических зависимостей для модели колец (рис. 6, *г*). По результатам экспериментов при реализации полного разрыва агрегата сила взаимодействия при разведении клеток сначала возрастала, но после достижения некоторого порогового значения площади перекрытия эритроциты дезагрегировали без увеличения внешней силы со стороны оптических ловушек. Данное экспериментальное наблюдение указывает на наличие спадающего участка в зависимости силы взаимодействия клеток от расстояния между их центрами, имеющегося и при моделировании эритроцитов в виде колец (см. рис. 6, *г*). Таким образом, экспериментально полученные данные хорошо согласуются с расчетными, произведенными на основании предположения о кольцевидной форме соприкасающихся поверхностей эритроцитов в агрегате.

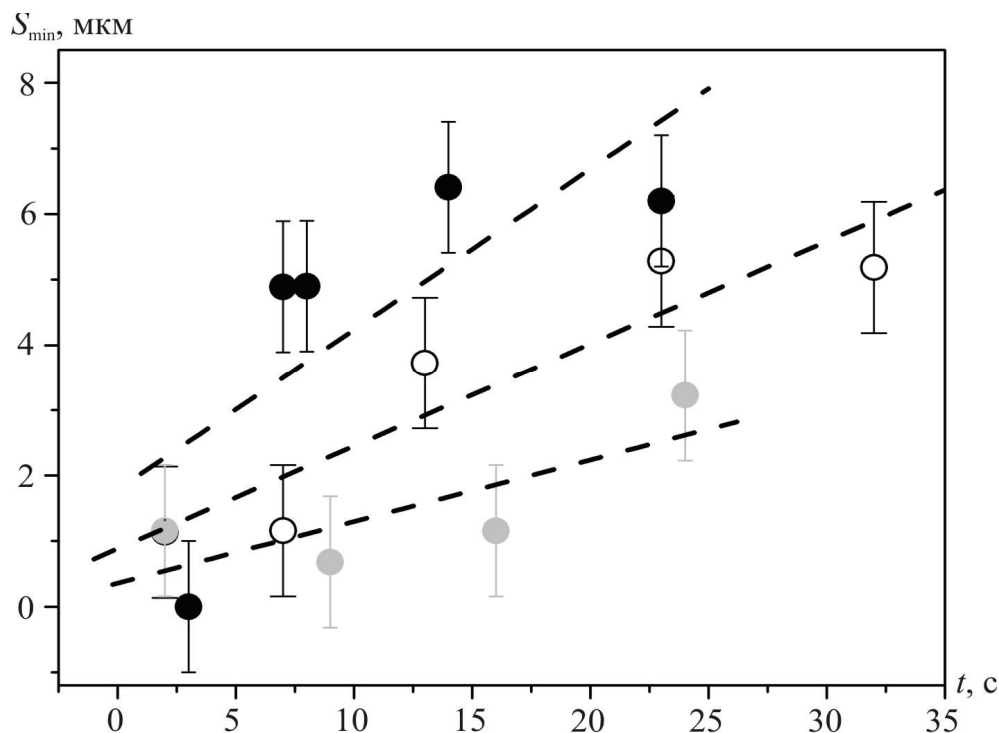


Рис. 7. Зависимость минимальной площади перекрытия эритроцитов (S_{min}), характеризующей силу агрегации клеток, от времени формирования агрегата t_a (пояснения см. в разделе «Материалы и методы»). Экспериментальные точки различных цветов соответствуют измерениям различных пар эритроцитов

Приведенные данные и расчеты *Zhang et al.* [45] позволили объяснить процесс агрегации эритроцитов следующим образом. Не исключено, что различные области соседних эритроцитов могут сближаться в агрегате не в равной мере, а на разное расстояние. Тогда в области сильно сближенных участков концентрация способствующих агрегации клеток полимеров может быть снижена и там преобладают осмотические силы. С другой стороны, в «ямках» может сохраняться достаточное количество полимерных молекул, способных образовывать между клетками молекулярные «мостики». Таким образом, не исключено, что благодаря геометрическим особенностям агрегата эритроцитов оба общепринятых механизма взаимодействия клеток могут реализоваться одновременно. Вместе с тем, если говорить о преобладающем механизме, то данные третьей серии экспериментов позволяют отдать предпочтение межэритроцитарным молекулярным «мостикам».

При изучении дезагрегации клеток, предварительно взаимодействовавших в течение разного времени t_a , была обнаружена временная динамика силы агрегации эритроцитов. Эксперименты показали, что при увеличении времени формирования агрегата t_a увеличивалась минимальная площадь перекрытия эритроцитов, на которую их позволяли развести действовавшие с фиксированной силой оптические ловушки (рис. 7). То есть максимальная сила взаимодействия между эритроцитами со временем росла.

Обнаруженная зависимость практически не объясняется на основании представлений теории «истощенного слоя». С другой стороны, при взаимодействии эритроцитов со временем вполне может не только увеличиваться количество однородных «мостиков», но и изменяться состав участвующих в агрегации биополимеров – в процесс агрегации могут вовлекаться молекулы, способствующие образованию более прочных связей между клетками. Эти представления согласуются с данными *Ben-Ami et al.*, согласно которым усиление эритроцитарной агрегации

у пациентов происходит лишь при одновременном присутствии фибриногена, иммуноглобулинов и альбумина в нормальных или повышенных количествах. Авторы не исключают возможности скрепления агрегирующих эритроцитов матриксом, состоящим из сложных мультибелковых комплексов [12].

В опытах, данные которых представлены на рис. 7, тангенс угла наклона экспериментальных зависимостей, соответствующих линейной аппроксимации, для различных пар эритроцитов составил 0,14–0,72; ошибка линейной аппроксимации в среднем составляла 0,07. Разброс значений тангенса говорит о существенном разнообразии, присущем процессу агрегации–деагрегации разных эритроцитов. Оно может диктоваться как локальными условиями среды – плазмы крови, так и свойствами самих клеток. Определенную роль при этом могут играть и внутриклеточные сигнальные механизмы [1]. Значение свойств эритроцитов для процесса их агрегации–деагрегации привлекает к себе особое внимание исследователей [41], однако явно недооценено. В частности, остается неясным, почему при стимулировании агрегации в смеси эритроцитов разных видов животных происходит преимущественно не меж-, а внутривидовое взаимодействие клеток [22]. Эти данные, как и данные авторов, и многие другие, показывают, что классические представления о процессе агрегации требуют не только поиска компромиссов между теорией «мостиков» и теорией «кистоценного слоя», но и существенных уточнений и расширения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты представленных экспериментальных серий в совокупности с анализом имеющихся литературных данных позволяют заключить, что некоторая интенсификация процесса агрегации эритроцитов вплоть до их появления в артериолах может увеличивать эффективность транспортировки эритроцитов, причем не только на участках, не содержащих ветвлений сосудов, но и, возможно, в области артериолярных бифуркаций. Ускоренное образование эритроцитарных агрегатов увеличенного размера, но относительно нормальной прочности может быть предвестником дальнейшего улучшения состояния больных системной красной волчанкой, находящихся в состоянии ремиссии. Исследование зависимости силы взаимодействия эритроцитов от площади их перекрытия в эксперименте и путем моделирования показывает, что при агрегации клеток разные области их поверхностей могут сближаться на разное расстояние, что позволяет допустить одновременное влияние на процесс формирования эритроцитарного агрегата и осмотических сил, а также сил, создаваемых межклеточными молекулярными «мостиками».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Муравьев А.В., Муравьев А.А. Вне- и внутриклеточные механизмы изменения агрегации эритроцитов // Физиология человека. – 2005. – Т. 31, № 4. – С. 108–112.
2. Петрищев Н.Н., Шляхто Е.В., Власов Т.Д., Галагудза М.М. Ишемическая адаптация миокарда: патофизиологические механизмы и возможные перспективы практического применения (обзор литературы) // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2001. – Т. 87, № 5. – С. 688–705.
3. Самойленкова Н.С., Гаврилова С.А., Кошелев В.Б. Нейропротекторный и ангиопротекторный эффекты ишемического/ гипоксического preconditionирования мозга // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2008. – Т. 1, № 25. – С. 82–92.
4. Фирсов Н.Н., Джанашия П.Х. Введение в экспериментальную и клиническую гемореологию. – М: РГМУ, 2004. – 280 с.
5. Accorsi P., Passeri C., Onofrillo D., Iacone A. Hyperviscosity syndrome in hematological diseases and therapeutic apheresis // The International Journal of Artificial Organs. – 2005. – Vol. 28, No. 10. – P. 1032–1038.

6. Adams B.D., Baker R., Lopez J.A., Spencer S. Myeloproliferative disorders and the hyperviscosity syndrome // *Emergency Medicine Clinics of North America*. – 2009. – Vol. 27, No. 3. – P. 459–476.
7. Armstrong J.K., Meiselman H.J., Fisher T.C. Evidence against macromolecular "bridging" as the mechanism of red blood cell aggregation induced by nonionic polymers // *Biorheology*. – 1999. – Vol. 36, No. 5–6. – P. 433–437.
8. Asakura S., Oosawa F. On interaction between two bodies immersed in a solution of macromolecules // *Journal of Chemical Physics*. – 1954. – Vol. 22. – P. 1255–1256.
9. Ashkin A. Acceleration and trapping of particles by radiation pressure // *Physical Review Letters*. – 1970. – Vol. 24, No. 4. – P. 156–159.
10. Bagchi P., Johnson P.C., Popel A.S. Computational fluid dynamic simulation of aggregation of deformable cells in a shear flow // *Journal of Biomechanical Engineering*. – 2005. – Vol. 127, No. 7. – P. 1070–1080.
11. Baskurt O.K., Meiselman H.J. Blood rheology and hemodynamics // *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*. – 2003. – Vol. 29, No. 5. – P. 435–450.
12. Ben-Ami R., Barshtein G., Mardi T., Deutch V., Elkayam O., Yedgar S., Berliner S. A synergistic effect of albumin and fibrinogen on immunoglobulin-induced red blood cell aggregation // *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*. – 2003. – Vol. 285, No. 6. – P. H2663–H2669.
13. Bishop J.J., Nance P.R., Popel A.S., Intaglietta M., Johnson P.C. Effect of erythrocyte aggregation on velocity profiles in venules // *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*. – 2001. – Vol. 280, No. 1. – P. H222–H236.
14. Bishop J.J., Popel A.S., Intaglietta M., Johnson P.C. Rheological effects of red blood cell aggregation in the venous network: a review of recent studies // *Biorheology*. – 2001. – Vol. 38, No. 2–3. – P. 263–270.
15. Bloch E.H. Principles of the microvascular system // *Investigative Ophthalmology*. – 1966. – Vol. 5, No. 3. – P. 250–256.
16. Bronkhorst P.J.H., Grimbergen J., Brakenhoff G.J., Heethaar R.M., Sixma J.J. The mechanism of red cell (dis)aggregation investigated by means of direct cell manipulation using multiple optical trapping // *British Journal of Haematology*. – 1997. – Vol. 96, No. 2. – P. 256–258.
17. Chien S., Jan K.M. Ultrastructure basis of the mechanism of rouleaux formation // *Microvascular Research*. – 1973. – Vol. 5, No. 2. – P. 155–166.
18. Chung B., Johnson P.C., Popel A.S. Application of chimera grid to modeling cell motion and aggregation in a narrow tube // *International Journal for Numerical Methods in Fluids*. – 2006. – Vol. 53, No. 1. – P. 105–128.
19. Donner M., Siadat M., Stoltz J.F. Erythrocyte aggregation: approach by light scattering determination // *Biorheology*. – 1988. – Vol. 25, No. 1–2. – P. 367–375.
20. Duling B.R., Berne R.M. Longitudinal gradients in periarteriolar oxygen tension. A possible mechanism for the participation of oxygen in local regulation of blood flow // *Circulation Research*. – 1970. – Vol. 27, No. 5. – P. 669–678.
21. Fåhræus R.S. The suspension-stability of the blood // *Acta Medica Scandinavica*. – 1921. – Vol. 55. – P. 1–228.
22. Forsdyke D.R., Ford P.M. Segregation into separate rouleaux of erythrocytes from different species // *Biochemical Journal*. – 1983. – Vol. 214, No. 1. – P. 257–260.
23. Golub A.S., Pitman R.N. PO₂ measurements in the microcirculation using phosphorescence quenching microscopy at high magnification // *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*. – 2008. – Vol. 294, No. 6. – P. H2905–H2916.
24. Henon S., Lenormand G., Richert A., Gallet F. A new determination of the shear modulus of the human erythrocyte membrane using optical tweezers // *Biophysical Journal*. – 1999. – Vol. 76, No. 2. – P. 1145–1151.
25. Hewson W. On the figure and composition of the red particles of the blood, commonly called the red globules // *Philosophical Transactions of the Royal Society, London*. – 1773. – Vol. 63. – P. 303–323.
26. Intaglietta M., Johnson P.C., Winslow R.M. Microvascular and tissue oxygen distribution // *Cardiovascular Research*. – 1996. – Vol. 32, No. 4. – P. 632–643.
27. Katchalsky A., Danon D., Nevo A., de Vries A. Interactions of basic polyelectrolytes with the red blood cell. II Agglutination of red blood cells by polymeric bases // *Biochimica et Biophysica Acta*. – 1959. – Vol. 33, No. 1. – P. 120–138.
28. Kim S., Popel A.S., Intaglietta M., Johnson P.C. Aggregate formation of erythrocytes in postcapillary venules // *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*. – 2005. – Vol. 288, No. 2. – P. H584–H590.
29. Kim S., Popel A.S., Intaglietta M., Johnson P.C. Effect of erythrocyte aggregation at normal human levels on functional capillary density in rat spinotrapezius muscle // *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*. – 2006. – Vol. 290, No. 3. – P. H941–H947.
30. Knisely M.H., Bloch E.H., Eliot T.S., Warner L. Sludged blood // *Science*. – 1947. – Vol. 106, No. 2758. – P. 431–440.

31. Korotaeva T.V., Firsov N.N., Bjelle A., Vishlova M.A. Erythrocytes aggregation in healthy donors at native and standard hematocrit: the influence of sex, age, immunoglobulins and fibrinogen concentrations. Standardization of parameters // *Clinical Hemorheology and Microcirculation*. – 2007. – Vol. 36, No. 4. – P. 335–343.
32. Merrill E.W., Cokelet G., Britten A., Wells R.E. Jr. Rheology of human blood and the red cell plasma membrane // *Bibliotheca Anatomica*. – 1965. – No. 7. – P. 11–17.
33. Nakano A., Sugii Y., Minamiyama M., Niimi H. Measurement of red cell velocity in microvessels using particle image velocimetry (PIV) // *Clinical Hemorheology and Microcirculation*. – 2003. – Vol. 29, No. 3–4. – P. 445–455.
34. Neu B., Meiselman H.J. Depletion-mediated red blood cell aggregation in polymer solutions // *Biophysical Journal*. – 2002. – Vol. 83, No. 5. – P. 2482–2490.
35. Neu B., Sowemimo-Coker S.O., Meiselman H.J. Cell-cell affinity of senescent human erythrocytes // *Biophysical Journal*. – 2003. – Vol. 85, No. 1. – P. 75–84.
36. van Oss C.J., Absolom D.R. Zeta potentials, van der Waals forces and hemagglutination // *Vox Sanguinis*. – 1983. – Vol. 44, No. 3. – P. 183–190.
37. Pearson M.J., Lipowsky H.H. Effect of fibrinogen on leukocyte margination and adhesion in postcapillary venules // *Microcirculation*. – 2004. – Vol. 11, No. 3. – P. 295–306.
38. Popel A.S., Johnson P.C. Microcirculation and hemorheology // *Annual Review of Fluid Mechanics*. – 2005. – Vol. 37. – P. 43–69.
39. Pribush A., Zilberman-Kravits D., Meyerstein N. The mechanism of the dextran-induced red blood cell aggregation // *European Biophysics Journal*. – 2007. – Vol. 36, No. 2. – P. 85–94.
40. Rampling M.W. Hyperviscosity as a complication in a variety of disorders // *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*. – 2003. – Vol. 29, No. 5. – P. 459–465.
41. Rampling M.W., Meiselman H.J., Neu B., Baskurt O.K. Influence of cell-specific factors on red blood cell aggregation // *Biorheology*. – 2004. – Vol. 41, No 2. – P. 91–112.
42. Schmid-Schonbein H., Rieger H., Gallasch G., Schachtner H. Pathological red cell aggregation (clump aggregation). Molecular and electrochemical factors // *Bibliotheca Anatomica*. – 1977. – No. 16, Pt. 2. – P. 484–489.
43. Skalak R., Zarda P.R., Jan K.M., Chien S. Mechanics of rouleau formation // *Biophysical Journal*. – 1981. – Vol. 35, No. 3. – P. 771–781.
44. Tateishi N., Suzuki Y., Cicha I., Maeda N. O(2) release from erythrocytes flowing in a narrow O(2)-permeable tube: effects of erythrocyte aggregation // *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*. – 2001. – Vol. 281, No. 1. – P. H448–H456.
45. Zhang J., Johnson P.C., Popel A.S. Red blood cell aggregation and dissociation in shear flows simulated by lattice Boltzmann method // *Journal of Biomechanics*. – 2008. – Vol. 41, No. 1. – P. 47–55.

ERYTHROCYTE AGGREGATION: SOME QUESTIONS AND HYPOTHESES

**I.A. Sokolova, S. Yu. Rykova, A.A. Shakhnazarov, M. A. Gafarava, T.N. Krasnova,
M.D. Khokhlova, E.V. Lyubin, M.N. Skryabina, A.G. Zhdanov, A.A. Fedyanin
(Moscow, Russia)**

Some issues related to the mechanisms and consequences of the erythrocyte aggregation are discussed. Complex study of erythrocyte aggregation is provided. The formation and destruction of individual paired erythrocyte aggregates are studied experimentally using optical tweezers technique. The model of erythrocyte aggregation based on the coexistence of “depletion” and “bridge” theories is suggested. The data obtained are in accordance with the theory of initially compensatory nature of erythrocyte hyperaggregation.

Key words: erythrocyte aggregation, hydrodynamic resistance, systemic lupus erythematosus, optical tweezers.

Получено 20 октября 2010