

## Цикл лекций

**«Морфофункциональные и метаболические особенности  
лейкоцитов периферической крови»**  
(к разделу «Физиология» и «Биохимия» крови для внеаудиторной  
самостоятельной работы студентов медицинских вузов)

## ЛЕКЦИЯ 1.

**ЛЕЙКОЦИТЫ КРОВИ: ОБЩАЯ  
ХАРАКТЕРИСТИКА, КЛАССИФИКАЦИЯ.  
ЛЕЙКОПОЭЗ И ЕГО РЕГУЛЯЦИЯ**

Чеснокова Н.П., Понукалина Е.В., Полутова  
Н.В., Бизенкова М.Н.,  
Жевак Т.Н., Моррисон В.В.

*ГБОУ ВПО «Саратовский  
государственный медицинский университет  
им. В.И. Разумовского Минздрава России»,  
Саратов, e-mail: polutovanat@mail.ru*

**Лейкоциты. Общая характеристика  
элементов белой крови**

Лейкоциты (греческое leukos – белый, kytos – вместилище) – одна из трех разновидностей форменных элементов крови позвоночных животных и человека.

Представление о лейкоцитах сформировалось более 100 лет назад одновременно с возникновением учения о крови и кроветворении, получило развитие в трудах Р. Вирхова (1955), И.И. Мечникова (1883), А.А. Максимова (1902), А.А. Заварзина (1945) и других отечественных и зарубежных исследователей.

Лейкоциты, в отличие от эритроцитов, это ядросодержащие клетки, структурная организация которых идентична другим клеткам нашего организма. Лейкоцитарная клетка ограничена цитоплазматической мембраной, в цитоплазме содержатся митохондрии, лизосомы с набором гидролитических ферментов и биологически активных соединений, имеется аппарат Гольджи, система эндоплазматического ретикулаума, белоксинтезирующая система, представленная рибосомами и полирибосомами, и другие органоиды. Размеры лейкоцитов варьируют от 4 до 20 мкм. Продолжительность жизни также весьма вариабельна и составляет от 4–5 дней до 20 дней для элементов гранулоцито-моноцитарного ряда, а для лимфоци-

тов 100–200 дней. Количество лейкоцитов в периферической крови здорового взрослого человека колеблется от  $4 \times 10^9/\text{л}$  до  $9 \times 10^9/\text{л}$ .

Количество лейкоцитов у новорожденных уже в течение первых суток достигает  $10 \times 10^9/\text{л}$  –  $30 \times 10^9/\text{л}$ , а затем несколько уменьшается и со второй недели жизни составляет в среднем  $10 \times 10^9/\text{л}$  –  $12 \times 10^9/\text{л}$ . Однако следует отметить, что согласно данным многочисленных авторов содержание лейкоцитов в периферической крови в течение первых лет жизни, а по некоторым данным и до 10–15 лет, может быть значительно выше аналогичного показателя крови здорового взрослого человека (таблица).

Прежде чем остановиться на морфофункциональных особенностях отдельных видов лейкоцитов, необходимо рассмотреть гистогенез элементов белой крови в костном мозге, поскольку именно четкие представления о гистогенезе позволят не только хорошо усвоить вопросы физиологии белой крови, но и современные принципы классификации лейкоцитов, их гематологическую характеристику.

Как известно, лейкоциты позвоночных животных и человека образуются в специальных кроветворных органах: в период эмбрионального развития такими органами являются желточный мешок, печень, селезенка и костный мозг. Во взрослом организме лейкоциты образуются в костном мозге, а лимфоциты, кроме того, в селезенке, вилочковой железе и лимфатических узлах.

В костном мозге имеется две неравнозначные группы клеток: клетки ретикулярной стромы и клетки кроветворной ткани костного мозга с их производными – зрелыми клетками крови. К клеточным элементам ретикулярной стромы относят фибробласты, остеобласты, жировые клетки, эндотелиальные клетки. Указанные клетки объединяют собирательным названием «ретикулярные клетки».

Возрастная динамика количества лейкоцитов и лейкоцитарной формулы у детей

Возраст (в годах)	Количество лейкоцитов (в $1 \text{ мм}^3$ )	Лейкоцитарная формула					
		Эозино- филы	Базо- филы	Нейтро- филы	Лимфоциты	Моноциты	Плазматиче- ские клетки
1–2	10800	2,5	0,5	34,5	50,0	11,5	0,25
2–3	11000	1,5	0,5	36,5	51,5	10,0	0
4–5	10200	1,0	0,5	45,5	44,5	9,0	0
6–7	10600	1,5	0,5	46,5	42,0	9,5	0
8–9	9880	2,0	0,5	49,5	39,5	8,5	0
10–11	8200	2,5	0,5	50,0	36,0	9,5	0
12–13	8100	2,5	0,5	53,5	35,0	8,5	0
14–15	7650	2,0	0,5	60,5	28,0	9,0	0

В настоящее время четко определена гистогенетическая независимость системы кроветворной стромы и кроветворных клеток. Ретикулярные клетки имеют самостоятельные стволовые клетки, способные дифференцироваться во все клеточные элементы.

#### Классификация лейкоцитов.

##### Морфологические и функциональные особенности отдельных видов лейкоцитов

Существующая в настоящее время классификация лейкоцитарных элементов является морфофункциональной и отражает уровень современных знаний по физиологии лейкоцитов.

Все морфологически идентифицируемые лейкоцитарные элементы можно разделить на две группы с учетом одной из основных функциональных характеристик клеток – способности к делению. Так, различают две подгруппы клеток – пролиферирующих и утративших способность к пролиферации (сюда входят и лейкоциты, покинувшие органы кроветворения – циркулирующие в крови и перешедшие в ткани). Циркулирующие в кровотоке лейкоциты подразделяются на два функциональных пула: а) свободно циркулирующие в крови, б) клетки, занимающие краевое положение в сосудах и не участвующие в циркуляции, – секвестрированные, или депонированные, лейкоциты.

С учетом морфологических особенностей (наличие зернистости и гранул) все лейкоцитарные элементы делятся на две большие группы: гранулоциты и агранулоциты.

##### Свойства лейкоцитов

1. Все виды лейкоцитов в большей или меньшей степени обладают способностью к амёбовидному движению, что обеспечивает миграцию лейкоцитов в ткани через сосудистую стенку. Этот процесс называется *диapedезом*. Он определяет защитную функцию лейкоцитов. 50% лейкоцитов за пределами сосудистого русла находятся в межклеточном пространстве, а 30% – в костном мозге.

2. Лейкоциты обладают *положительным хемотаксисом* по отношению к бактериальным токсинам, продуктам распада бактерий и дегенерирующим клеткам организма, комплексам антиген – антитело.

3. Одним из важных свойств лейкоцитов является способность к фагоцитозу и пиноцитозу.

4. Лейкоциты обеспечивают механизмы резистентности за счет лизосомальных ферментов, в частности протеаз, пептидаз, диастазы, дезоксирибонуклеазы, липаз, поступающих в окружающие ткани при жировой дегенерации лейкоцитов. Бактерицидные свойства лейкоцитов обеспечиваются и освобождением лизоцима, катионных белков, лактоферрина, активных форм кислорода.

5. Лейкоциты являются регуляторами коагуляционного потенциала крови. Это свойство лейкоцитов обусловлено содержанием в них активаторов и проактиваторов плазминогена,

а также наличием в лизосомах фибринолитически активных протеаз, которые могут расщеплять фибрин без участия плазминогена. Вышеуказанные факторы обеспечивают создание альтернативного механизма фибринолиза наряду с плазминовой фибринолитической системой, что играет важную роль в деблокировании сосудистого русла при ДВС-синдроме.

6. Лейкоциты участвуют в развитии синдрома системного воспалительного ответа, лихорадки, регуляции лейкопоза за счет образования цитокинов с дистантным действием.

7. Лейкоциты обеспечивают индукцию и развитие специфических иммунологических механизмов защиты, а также аллергических реакций гуморального и клеточного типов.

##### Гемопоз и его регуляция

Кровь является исключительно реактогенной системой, характеризующейся разнообразными изменениями клеточного состава, а также растворимых компонентов в ответ на действие патогенных факторов.

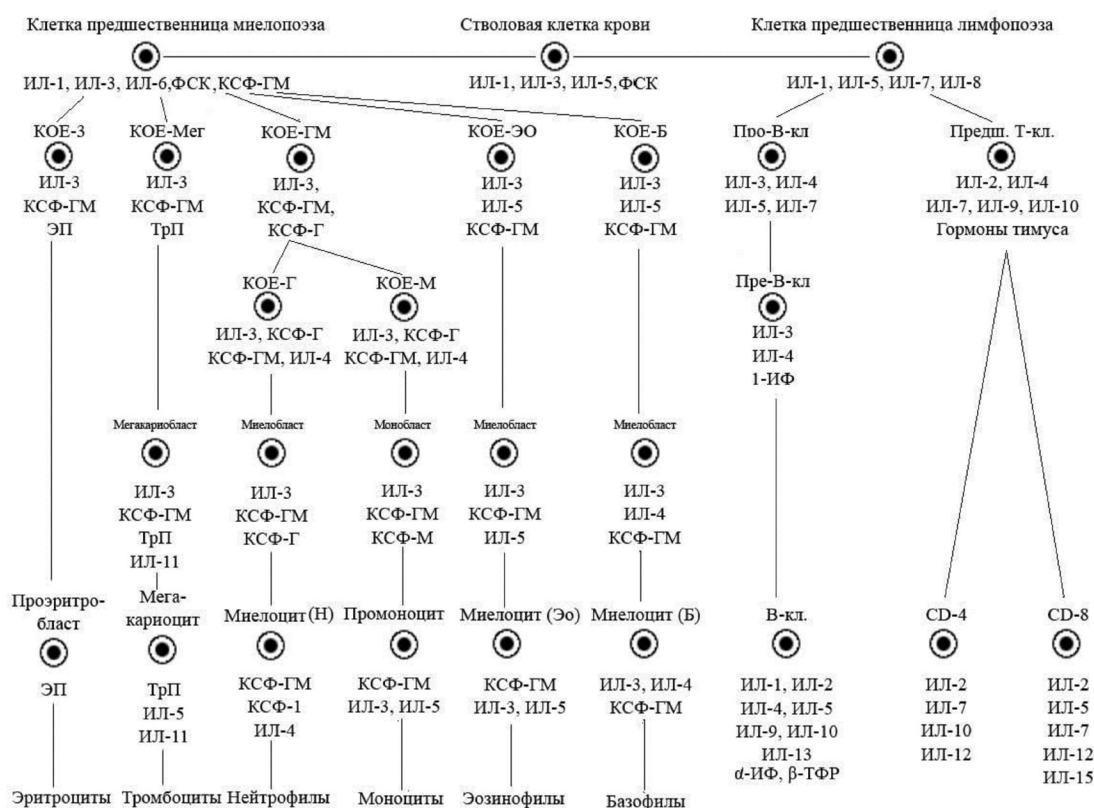
Система крови представляет собой производное мезенхимы и включает следующие основные компоненты: кровь и лимфу, органы кроветворения и иммунопоза, а также клетки крови, эмигрирующие в соединительную ткань, и эпителиальные ткани. Естественно, чрезвычайно важная роль в регуляции гомеостаза периферической крови отводится органам кроветворения, в частности костному мозгу, где в условиях нормы имеют место сохранение динамического равновесия между процессами гемопоза и распада клеток, а также определенная стадийность дифференцировки элементов миелоидного, лимфоидного, эритроцитарного и мегакариоцитарного рядов.

В процессе раннего эмбрионального периода жизни (около 2-х недель очаги системы гемостаза формируются в желточном мешке, где пролиферируют и дифференцируются участки мезенхимы, мезодермальных клеток).

Основными местами гемопоза, начиная с 11-й недели гестации и прежде всего второго триместра, являются печень и селезенка. Гемопоз смещается из печени и селезенки в мозговые полости костей лишь с 3-го триместра гестации и остается в этих структурах к моменту рождения ребенка. В течение юности и зрелого возраста места гемопоза постепенно смещаются из трубчатых костей скелета в плоские кости (череп, позвонки, грудина, ребра, таз), которые становятся основными местами гемопоза у взрослых людей.

Основные гемопозитические факторы роста включают группы гормонов и цитокинов, продуцируемых в значительной мере стромальными клетками микроокружения.

В последние годы достигнуты определенные успехи в унификации представлений о характере и механизмах процессов гемопоза в костном мозге, роли цитокинов в гистогенезе элементов крови.



Упрощенная схема регуляции кроветворения (Алмазов В.А., 1999): ФСК – фактор стволовой клетки, КОЕ – колониеобразующая единица, ИЛ – интерлейкин, КСФ – колониестимулирующий фактор, ИФ – интерферон, ТФР – трансформирующий фактор роста, ЭП – эритропоэтин, ТрП – тромбопоэтин

Ежедневно у человека обновляется около 100 млрд форменных элементов периферической крови. В гемопоэтической ткани костного мозга гранулоциты и их предшественники составляют около 60%, эритроидные предшественники – 20%, лимфо- и моноциты – около 10%, а недифференцированные и разрушающиеся клетки – также около 10%.

Согласно унитарной теории кроветворения, сформулированной А.А. Максимовым, источником всех линий кроветворения в костном мозге являются «родоначальные клетки». Длительное время не существовало единой терминологии для их обозначения. В настоящее время используют термин «плюрипотентные стволовые клетки» (ППСК), трансформирующиеся в костном мозге в мультипотентные стволовые клетки.

Современная схема гемопоэза была разработана А.И. Воробьевым совместно с И.Л. Чертковым (1973), которая в основном используется в настоящее время с различными дополнениями и модификациями.

Кровотворная ткань является динамичной, постоянно обновляющейся системой, в связи с этим знание кинетики гемопоэза необходимо для понимания патогенеза заболеваний различной этиологии. Гемопоэтические клетки от-

личаются большим разнообразием структуры и функции, обеспечивающим в процессе их созревания самые различные биологические процессы, такие, как транспорт  $O_2$ , гемостаз, фагоцитоз, иммунитет.

В настоящее время очевидно наличие шести классов дифференцировки клеток периферической крови (схема), причем первые два класса клеток включают плюрипотентные и мультипотентные клетки костного мозга, морфологически не распознаваемые элементы. К III классу относят коммитированные унипотентные клетки-предшественницы, к IV классу относятся бласты – ядродержащие клетки эритроцитарного, лимфоидного, миелоидного и мегакариоцитарного рядов, V класс – это созревающие клетки. Часть клеток миелоидного ряда (юные и палочкоядерные) уже содержатся в периферической крови, а VI класс – это зрелые клетки крови и костного мозга.

Касаясь более детальной характеристики гемопоэтических клеток костного мозга, следует отметить, что ППСК, являющиеся источником образования клеток крови, составляют 0,01% от всех ядродержащих клеток костного мозга. Однако этого количества достаточно для восстановления гемопоэза в случаях аплазии и ги-

поплазии костного мозга. Ранее считалось, что клетки крови происходят из гемоцитобласта – производного гемогистиобласта.

ППСК – морфологически не распознаваемая клетка, условно относится к I классу кроветворения, маркерной молекулой этих клеток является CD34, экспрессируемая и эндотелиоцитами сосудов. ППСК относится к категории самоподдерживающихся клеток, способных к митотическому делению до 100 раз в течение своей жизни. Всего у человека примерно  $4-400 \times 10^5$  стволовых клеток крови, некоторые из них выходят из костного мозга и обнаруживаются в крови.

Миграция стволовых клеток усиливается при нарушениях гомеостаза, в частности при гипоксиях, радиации, химиотерапии и других стрессорных воздействиях, находится под контролем хемокина CXCL-12, синтезируемого остеокластами, эндотелиальными клетками, клетками стромы. Регуляторами миграции стволовых клеток являются также КСФ-Г и ИЛ-1. Стволовые клетки в покое состоянии выполняют две основные функции: 1) самоподдержание за счет низкого уровня пролиферативной активности; 2) дифференцировку в сторону образования коммитированных предшественников.

Дальнейшая дифференцировка ППСК обеспечивается различными специфическими и неспецифическими механизмами. Различают локальные и длиннодистантные механизмы регуляции. Локальные механизмы регуляции обеспечиваются за счет тканевого, микрососудистого, нервного компонентов и распространяются преимущественно на I и II классы клеток кроветворения в костном мозге. Тканевый компонент регуляции гемопоэза включает межклеточное взаимодействие, а также продукцию клетками соединительной ткани, моноцитарно-макрофагальной, мегакариоцитарной линий, эндотелием различных цитокинов с ростстимулирующим действием. Микрососудистый и нервный компоненты обеспечивают соответственно оксигенацию и трофику стромы и паренхиматозных элементов, а также выход в кровотока форменных элементов.

Начиная с коммитированных клеток костного мозга, в регуляции гемопоэза доминируют длиннодистантные механизмы, обеспечиваемые различными цитокинами, системой «кейлоны – антикейлоны», гормонами.

Касаясь динамики гемопоэза в костном мозге, следует отметить, что вслед за классом ППСК возникает образование мультипотентной полустволовой клетки, или клетки – предшественницы лимфопоэза, под влиянием фактора стволовой клетки (ФСК), ИЛ-1, ИЛ-6. Параллельно происходит образование из полипотентной стволовой клетки мультипотентной полустволовой клетки – предшественницы миелопоэза под

влиянием ряда цитокинов: ФСК, ИЛ-1, ИЛ-3, ИЛ-6, КСФ-Г.

Третьим классом недифференцированных клеток гемопоэза костного мозга являются коммитированные, или унипотентные, клетки. Для лимфоидного ряда – это про-Т- и про-В-лимфоциты, а для миелоидного ряда – это колониеобразующие клетки эозинофильного и базофильного рядов (КОЕ-Эо, КОЕ-Б), нейтрофильного ряда (КОЕ-Г), моноцитарного ряда (КОЕ-М), а также эритроцитарного (КОЕ-Э) и мегакариоцитарного (КОЕ-Мег) рядов.

Гемопоэтические клетки III класса – короткоживущие, интенсивно пролиферирующие, идентифицируемые клетки. Регуляторами их пролиферации и дифференцировки являются цитокины и «специфические» гемопоэтины.

Последними пролиферирующими клетками гемопоэтического ряда являются клетки IV класса – бласты – морфологически и гистохимически распознаваемые элементы (миелобласты, лимфобласты, монобласты, эритробласты). V класс дифференцировки включает созревающие клеточные элементы (для миелоидного ряда это промиелоцит, миелоцит, метамиелоцит, палочкоядерные лейкоциты; для лимфоидного ряда – пре- и про-В- и Т-лимфоциты, протоплазмоциты; для эритроцитарного ряда – пронормоцит, базофильный, полихроматофильный, оксифильный нормоцит, ретикулоцит.

VI класс включает в себя зрелые клетки костного мозга и периферической крови.

Касаясь кинетики гемопоэза, следует отметить, что для делящихся клеток-предшественниц митотический цикл, помимо митоза, включает фазу  $G_1$ , во время которой происходит подготовка гемопоэтических клеток к синтезу ДНК, а далее S-фазу, характеризующуюся удвоением количества ДНК, и фазу  $G_2$ , включающую период подготовки к митотическому делению. Продолжительность митотического цикла для морфологически нераспознаваемых клеток-предшественников составляет в среднем около 20 часов.

Относительно регуляции гемопоэза необходимо отметить по крайней мере два его варианта – конститутивный и индуцированный гемопоэз. Конститутивный гемопоэз регулируется цитокинами и межклеточным взаимодействием, а осуществляется в особых зонах скопления стволовых клеток. Часть стволовых клеток, медленно размножаясь, мигрирует в другие зоны костного мозга, где и дифференцируется.

Индукцированный гемопоэз возможен при нарушениях гомеостаза при различных стрессорных воздействиях (гипоксия, интоксикация, ионизирующая радиация) и регулируется в основном КСФ-Г, ИЛ-1, ФСК.

Согласно данным литературы, важнейшими стимуляторами пролиферации и дифференцировки клеток гранулоцитарного и моноцитарно-

го рядов оказываются колониестимулирующие факторы (КСФ). Последние являются пептидами, продуцируемыми у человека моноцитарно-макрофагальными клетками крови различных тканей, в частности костного мозга, а также лимфоцитами, эндотелиальными клетками, фибробластами, тучными клетками на фоне антигенной стимуляции. Наиболее изучены мульти-КСФ (ИЛ-3), гранулоцитарно-макрофагальный КСФ (КСФ-ГМ), макрофагальный КСФ (КСФ-М), гранулоцитарный КСФ (КСФ-Г). Усиление лейкопоэза возникает под влиянием провоспалительных цитокинов: ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, а также под влиянием ряда медиаторов воспаления, в частности лейкотриенов  $V_4$ ,  $C_4$ , ФСК, вырабатываемого клетками микроокружения стволовых клеток. Универсальными стимуляторами гранулоцитарно-моноцитарного лейкопоэза являются гормоны адаптации: катехоламины, глюкокортикоиды, реализующие свои эффекты на костный мозг через усиление образования КСФ и интерлейкинов. К числу стимуляторов лейкопоэза относятся витамин  $B_{12}$ , аскорбиновая кислота, фолиевая кислота, железо. Подавление костно-мозгового кроветворения возможно под влиянием ряда медиаторов воспаления, таких, как простагландины  $E_1$ ,  $E_2$ , ИЛ-10, ИЛ-13, ФНО- $\alpha$ , трансформирующий фактор роста бета (ТФР- $\beta$ ), а также лактоферрина и кислого изоферритина.

Регуляция пролиферации и дифференцировки лимфоцитов находится под влиянием цитокинов, интенсивно образующихся на фоне воздействия различных антигенов инфекционной и неинфекционной природы лимфоцитами и моноцитами, в частности ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-7, blastогенного и митогенного факторов. Классическими ингибиторами лимфопоэза являются гормоны адаптации: АКГТ, глюкокортикоиды, индуцирующие развитие реакции апоптоза и цитолиза в лимфоидной ткани.

В настоящее время очевидна определяющая роль цитокинов в регуляции костно-мозгового кроветворения, в частности ФСК, КСФ-Г, КСФ-М, КСФ-ГМ, а также ИЛ-3 или мульти-КСФ, регулирующих дифференцировку и созревание практически всех ростков кроветворения. К настоящему моменту для многих цитокинов определены структура и биологические свойства.

Далее приведены особенности биологических эффектов некоторых из указанных цитокинов, влияющих на процессы роста и дифференцировки гемопоэтических клеток костного мозга.

**Фактор стволовых клеток (ФСК).** ФСК – ростовой фактор для гемопоэтических стволовых клеток, образование которого детерминировано геном 12-й хромосомы (q22-q24). Биологическая активность ФСК проявляется в виде растворимой и мембранно-связанной

форм. Трансмембранный белок состоит из 273 аминокислотных остатков, растворимая форма представлена нековалентно-связанным димером.

Рецептор ФСК, c-kit, обозначается как CD117, его связывание с ФСК приводит через ряд промежуточных реакций к активации протеинкиназы C и *yak2/STAT* пути клеточной активации [20]. ФСК интенсивно синтезируется в разных тканях плода, а в постнатальном периоде в фибробластах, эндотелиоцитах, недифференцированных стромальных клетках.

В организме человека ФСК оказывает интенсивное стимулирующее влияние на тучные клетки, пролиферацию предшественников Т- и В-лимфоцитов, интраэпителиальных  $\gamma\delta$ -лимфоцитов.

ФСК стимулирует CD34+ стволовые клетки человека и в сочетании с ИЛ-3, КСФ-Г, КСФ-ГМ усиливает формирование гранулоцитарно-макрофагальных и эритроцитарных колоний, предшественников тучных клеток.

**Fit-3-лиганд.** Другим стимулятором гемопоэза в костном мозге является *Fit-3-лиганд*, взаимодействующий с тирозинкиназными рецепторами. Подобно ФСК и КСФ-М, *Fit-3-лиганд* продуцируется стромальными клетками, клетками эндотелия и Т-лимфоцитами, а его рецептор экспрессируется на ранних гемопоэтических клетках – предшественниках миеломоноцитарного ряда и на пре-В-лимфоцитах.

Эффекты *fit-3-лиганда* на костно-мозговые клетки усиливаются цитокинами ИЛ-3 и КСФ-ГМ. Комбинация ФСК и *Fit-3-лиганда* значительно усиливает пролиферацию костно-мозговых стволовых клеток. Рекомбинантный *fit-3-лиганд* стимулирует пролиферацию CD34+ стволовых клеток костного мозга человека, а также ранних гемопоэтических клеток-предшественниц. Однако его эффекты слабее, чем у ФСК-ГМ.

**Гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (КСФ-Г).** Образование КСФ-Г детерминировано геном хромосомы 17 у человека (C17, q11-q21). Зрелый цитокин имеет глобулярную структуру с ММ 18,6 кДа, синтезируется моноцитами, фибробластами, эндотелием, стромальными клетками, а далее поступает в системный кровоток и в костный мозг. Рецепторы цитокина экспрессируются на клетках миеломоноцитарного ростка кроветворения от миелобластов до зрелых гранулоцитов, а также на некоторых клетках моноцитарного ростка. Продукция КСФ-Г стимулируется вовлечением провоспалительных цитокинов ИЛ-1, ФНО, бактериальных эндотоксинов. Биологическое действие КСФ-Г связано с ускорением пролиферации и созревания ранних предшественников гранулоцитов, усилением фагоцитарной активности нейтрофилов, их кислородзависимого киллинга и антителонезависимой цитотоксичности, про-