

**Кидалов В.Н., Хадарцев А.А.,
Гонтарев С.Н.**

**ВОЗМОЖНОСТИ
ИССЛЕДОВАНИЯ ЭРИТРОНА
ПРИ СЛАБЫХ
ИНФОРМАЦИОННЫХ
ВОЗДЕЙСТВИЯХ**

Тула – Белгород, 2011

ЕВРОПЕЙСКАЯ АКАДЕМИЯ ЕСТЕСТВЕННЫХ НАУК

Кидалов В.Н., Хадарцев А.А., Гонтарев С.Н.

**ВОЗМОЖНОСТИ
ИССЛЕДОВАНИЯ ЭРИТРОНА
ПРИ СЛАБЫХ
ИНФОРМАЦИОННЫХ
ВОЗДЕЙСТВИЯХ**

Под редакцией А.А. Хадарцева

Тула – Белгород, 2011

Кидалов В.Н., Хадарцев А.А., Гонтарев С.Н. Возможности исследования эритрона при слабых информационных воздействиях: Монография. – Тула: Изд-во ТулГУ – Белгород: ЗАО «Белгородская областная типография», 2011. – 198 с.

В монографии изложены современные положения о слабых информационных воздействиях. Освещены спорные и недостаточно изученные стороны физической базы информационного воздействия.

Работа предназначена для научных сотрудников, врачей, лаборантов и биологов, в задачи которых входит оценка и регистрация ранних изменений в крови, вызываемых хранением ее препаратов в разных условиях, слабыми воздействиями на организм внешних физических и других факторов внешней среды. В ней освещаются разработанные в последнее время и апробированные в эксперименте и лабораторной практике способы экспрессной диагностики, которые позволяют получить оценку морфофункционального состояния крови, ее клеток и плазмы у экспериментальных животных, а также у больных и практически здоровых людей, подвергающихся малоинтенсивным воздействиям неблагоприятных факторов современной техно– и биогенной внешней среды.

Особое внимание уделено методам оценки конфигурации и мало изученных функций эритроцитов, таких как неспецифическая фильтрационная, информационная и др.

Дано описание тезиографических методов, наиболее чувствительных к слабым и информационным воздействиям и способы оценки фрактальных элементов тезиограмм крови.

Рецензенты:

Засл. деятель науки РФ, д.м.н., профессор
Член-корр. РАМН, Засл. деятель науки РФ,
д.б.н., профессор

Б.Л. Винокуров
Н.А. Фудин

© В.Н. Кидалов, Хадарцев А.А., Гонтарев С.Н., 2011
© Издательство ТулГУ, 2010
© ЗАО «Белгородская областная типография», 2011

Предисловие

На состоявшемся в Санкт-Петербурге очередном Конгрессе по слабым и сверхслабым полям и излучениям в биологии и медицине (20.06-03.07.2009) констатируется, что физики разных академических направлений обратили серьезное внимание на биологические эффекты сверхслабых воздействий, которые давно волнуют биологов и медиков, и предпринято ряд серьезных попыток теоретического объяснения таких эффектов с позиции современных физических теорий.

Сверхслабыми воздействиями предложено считать такие, энергия которых может быть на 7-8 порядков (!) ниже теплового уровня kT . Такие воздействия соответствуют энергии квантовых процессов, таких как эффект Зеемана, Штарка и др. Сверхнизкими концентрациями рекомендовано считать величины ниже 10^{-12} М.

Объяснение первичных механизмов воздействия сверхслабых факторов на биологические системы заключается в квантовых спиновых эффектах, которые приводят к изменению структурно-динамических свойств водной фазы. Наличие кислорода и его активных форм в водных средах и в тканях живых организмов трактуется в большинстве случаев, как определяющий фактор в биоэффектах электромагнитных полей.

Обоснована необходимость междисциплинарного согласования терминологии, поскольку физики, биологи и медики, используя одни и те же терминологические названия, вкладывают в их понимание совершенно разный смысл (http://cosmo-bio.blogspot.com/2009/07/blog-post_15.html).

Биологические механизмы эффекта слабых и сверхслабых воздействий являются фундаментальной проблемой биофизики, не решенной до сих пор.

Некоторые причины этого: отсутствие теоретических представлений о физических основах слабых воздействий, сложность их выделения из экспериментально неконтролируемых шумов.

По-видимому, общепринятые подходы к изучению этих процессов, в том числе и в поставке эксперимента, и в приборной базе индикации, нуждаются в пересмотре.

Физика исследуемых процессов в биологических объектах требует получения научных знаний при взаимодействиях наноструктурных элементов, нелинейных зависимостей, использования положений теории хаоса и ее математического аппарата.

Цель данной книги состоит в ознакомлении биологов и врачей с возможностями наукоемких лабораторных технологий, включающих спектрофотометрию клеточных элементов, видеомикроскопическую и функциональную диагностику изменений крови и ее препаратов при длительном хранении и при воздействии различных факторов внешней среды.

В основу изложения положены недавно разработанные и адаптированные к современным комплексам телевизионной микроскопии и спектрофотометрии (с разрешающей способностью на уровне первых увеличений электронной микроскопии – до 3 – 5 тыс. крат), а также традиционные лабораторные методы наблюдения за состоянием эритрона. Использование информативных и доступных высокочувствительных методов может сыграть важную роль в контроле за качеством проводимых исследований по оценке состояния крови и ее элементов при длительном хранении в различных условиях, а также при воздействиях, как на саму кровь, так и на организм человека, внешних факторов, включая низкие по интенсивности факторы и информационные воздействия.

Следует подчеркнуть, что с помощью современных телевизионных микроскопов, в их числе и с комплексом, усовершенствованным нашей группой с участием инженера–оптика В.Е. Куликова, весьма простой и удобной становится оценка малоконтрастных препаратов без сопутствующей фиксации и окраски. Такой способ оценки препаратов крови имеет ряд преимуществ, так как устраняются сверхсильные (по отношению к отдельной клетке) воздействия красителей и фиксаторов, приводящих к грубым изменениям клеток и полностью выключающих их витальные процессы.

Разработка этого направления имеет хорошие перспективы, поскольку заманчивой является возможность определять состояние живых клеток, тканей, органов, систем организма неинвазивными, малозатратными и информативными способами. Упомянутый комплекс (рабочая станция по исследованию со-

стояния микрообъектов по феномену нативной люминесценции) уже сегодня позволяет использовать исследование биообъектов в проходящем, отраженном, поляризованном свете, регистрировать их люминесценцию и методом спектрофотометрии оценивать энергетичность (насыщенность энергоемкими субстратами) клеток и тканей. Он может быть использован для исследования динамичных процессов на клеточном и молекулярном уровне, для создания баз данных на основе телевизионной микроскопии в различных отраслях знаний.

В настоящей книге представлен опыт авторов, касающийся преимущественно гематологических исследований. Врачи, владеющие биофизическими, биохимическими и физиологическими знаниями в сфере функционирования систем организма, клеток крови, биологических мембран, генов и имеющие широкие знания об электрических процессах, протекающих в тканях, о биологических комплексах полей организма, могут почерпнуть из данной книги дополнительную информацию о новых методах исследования живых и переживающих клеток. При использовании описанных методов в практическом здравоохранении может быть достигнуто улучшение диагностики преморбидных, экстремальных состояний и распространенных заболеваний, своевременно проведен поиск оптимальных способов восстановления пошатнувшегося, в результате «экологической агрессии» здоровья своих подопечных.

Книга содержит наиболее привлекательные с нашей точки зрения способы оценки влияния на организм слабых раздражителей и диагностики измененного здоровья.

*Засл. деятель науки РФ, академик Европейской
академии естественных наук,
Лауреат премии Правительства РФ,
д.м.н., профессор.
А.А. Хадарцев*

ГЛАВА I

РЕЗУЛЬТАТЫ НАУЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ СЛАБЫХ ИНФОРМАЦИОННЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ

1. Историческая справка

В публикациях А.С. Пресмана (Пресман А.С., 1968) были обобщены экспериментальные данные и определены три базовые позиции определения развития такого раздела современной биофизики, как *электромагнитная биология неионизирующих излучений*:

1. Природные и техногенные *электромагнитные поля* (ЭМП) влияют на биологические процессы.

2. Внутренние ЭМП живых организмов участвуют в регуляции биологических процессов.

3. ЭМП принимают участие в коммуникации между организмами. Обозначился информационный подход к роли электромагнитных полей в биосфере, получивший серьезное экспериментальное обоснование.

В электромагнитной биологии четкого критерия «слабого» или «сильного» электромагнитного воздействия не существует из-за высокой чувствительности и нелинейности ответа живого организма на любое электромагнитное воздействие. При этом, «слабыми» называются воздействия, которые не приводят к нагреву биологических тканей. Более точное определение – это величина энергии воздействия, которая по своему уровню не должна быть больше энергии, приходящейся на единицу степени свободы теплового движения простых молекул. Часто «слабыми» называют низкочастотные магнитные поля, амплитуда которых ниже установленных предельно допустимых уровней для жилых и офисных помещений (ниже 100 микротесла). При этом средняя напряженность (индукция) постоянного магнитного поля Земли составляет приблизительно 50 микротесла, а амплитуда его медленных вариаций может достигать до 1 микротесла; уровень электромагнитного фона, создаваемого электротехническими устройствами в обычных помещениях, в которых проводятся эксперименты, находится в пределах от нескольких

десятков до нескольких сотен нанотесла; уровень электромагнитного фона на частотах Шумановского резонанса для электрической компоненты составляет десятые доли милливольт на метр, а для магнитной компоненты – доли–единицы нанотесла; реакции живых организмов экспериментально обнаружены для магнитных полей начиная с единиц пикотесла (Qin C. et al., 2005).

Биологические эффекты ЭМП *крайне низких частот* (КНЧ) – менее 300 Гц, близких по отдельным характеристикам к природным обнаруживаются на всех уровнях организации живых систем (Темурьянц Н.А. и соавт., 1992; Бинги В.Н., 2000).

Воздействие слабых магнитных полей КНЧ влияют на электрическую активность мозга животных и человека, при этом энцефалографические данные показывают усвоение разных частот действующего поля (Ludwig H.W., 1987). Слабые низкочастотные магнитные поля угнетают развитие условных рефлексов (Сидякин В.Г., 1986; Pavlenko V.B. et al., 2004), и изменяют зоосоциальное поведение животных (Сидякин В.Г. и соавт., 1995). Торможение на уровне интегративной деятельности центральной нервной системы зависит от повышения активности серотонинэргических систем (Zessa L. et al., 1995), контролируемых уровнем мелатонина в крови, который в свою очередь определяется функциональной активностью эпифиза (Burch J.B. et al., 1999; Pfluger D.H. et al., 1996). Эффекты действия магнитных полей КНЧ на поведение и условно–рефлекторную деятельность животных связывают с изменениями также и в холинэргическом медиаторном звене. Показано, что причиной снижения холинэргической активности в таких случаях является активация опиоидной системы мозга (Kavaliers M., 1986). Такие изменения в нейромедиаторных системах головного мозга, вероятно, могут быть одной из причин магнитоиндуцированного повышения алкогольного влечения у животных, находящихся в условиях стресса (Никольская К.А. и соавт., 2000). Важно также то, что слабые электромагнитные поля КНЧ влияют на параметры межполушарной асимметрии, которая является одной из базовых характеристик интегративной деятельности головного мозга (Мартынюк В.С. и соавт., 2001). Это объясняет феномен зависимости распределения острых мозговых нарушений кровообращения в

полушариях мозга от фазы цикла солнечной активности, обнаруженной К.В. Цыганковым и соавт. (2007).

Коллективом под руководством Н.А. Агаджаняна (1992) в лабораторных условиях смоделированы короткопериодные магнитные пульсации с частотами 0,05–5 Гц 100 нТл, которые по своим характеристикам близки к пульсациям геомагнитного поля. Результаты их исследований показали, что такие МП КНЧ повышают спонтанную ритмическую активность нервных клеток мозжечка, что доказывает возможность прямого влияния МП КНЧ на функциональную активность отдельных нейронов и целых нейронных структур.

Эндокринные железы и, в частности, система гипоталамус–гипофиз–кора надпочечников играют важную роль в неспецифических защитно–приспособительных реакциях организма на действие электромагнитных полей (Андрейчук Л.А., 1999). В исследованиях биологической активности слабых электромагнитных полей обнаруживаются разнообразные реакции: повышается активность симпато–адреналовой системы и увеличивается накопление адреналина в эритроцитах, сдвигаются параметры ее биоритмов (Темурьянц Н.А. и соавт., 1982). Доказана фазная активация гипоталамо–гипофизарно–надпочечниковой системы, реакции со стороны щитовидной железы, половых желез (Гаркави Л.Х. и соавт., 1990).

В системных механизмах воздействия электромагнитных полей на живые организмы важную роль играет эпифиз, участвующий в регуляции циркадианного ритма посредством специального гормона – *мелатонина* (Темурьянц Н.А. и соавт., 1998). Эпифиз вовлекается в регуляцию разнообразных физиологических и иммунных процессов, что во многом объясняется существованием многочисленных взаимосвязей с различными структурами мозга и эндокринными железами. Оказывая сложное влияние на состояние гипоталамо–гипофизарно–надпочечниковой системы, эпифиз взаимодействует с различными эндокринными органами (гонады, надпочечники, щитовидная и поджелудочная железы). Это влияние имеет сдерживающий, ингибирующий характер. Одновременно с этим *мелатонин* является важным и тонким модулятором активности разных звеньев иммунной системы. Слабые магнитные поля с различными характеристиками вызывают

принципиально одинаковые изменения в функциональной активности эпифиза, которые сводятся к снижению концентрации *мелатонина* в крови.

Одной из магниточувствительных систем организма является сердечно-сосудистая система, а ее функциональные изменения, скорее всего, являются результатом нарушения транспорта кислорода в тканях. Слабые магнитные поля, в зависимости от условий эксперимента, могут оказывать аритмогенное действие на функции сердца (Кузнецов А.И., 1990) или снижать показатель variability сердечного ритма (Sastre A. et al., 1998). Это рассматривается как неблагоприятный фактор, свидетельствующий о напряженной работе регуляторных механизмов, контролирующих работу сердца.

Эффекты воздействия слабых магнитных полей КНЧ хорошо выявляются на показателях системы крови и зависят от частоты, интенсивности и экспозиции воздействия. В первые часы воздействия, как правило, наблюдается лейкопения, т.е. происходит снижение количества лейкоцитов в крови (Мартынюк В.С., 1995). Одновременно в режиме колебаний изменяются показатели функциональной активности лейкоцитов (Темурьянц Н.А. и соавт., 1996). Действие магнитных полей также проявляется в активизации противосвертывающей системы крови (Русяев В.Ф., 1984). Важным является тот факт, что были найдены частотные «окна», в которых наблюдались более выраженные биоэффекты синусоидальных и импульсных переменных магнитных полей крайне низких частот с амплитудами 5,1; 51 и 5100 нТл. Так показатели периферической крови существенно изменялись только в результате воздействия отдельных частот: 0,02; 0,55; 5,5; 9,5 и 80 Гц (Темурьянц Н.А. и соавт., 1982).

Иммунная система обладает высокой чувствительностью к действию электромагнитных факторов. При действии ЭМП изменяются факторы гуморального естественного иммунитета (Думанский Ю.Д. и соавт., 1992), при этом лейкоцитарное звено проявляет наиболее высокую чувствительность к этому воздействию. Хроническая экспозиция в МП КНЧ может подавлять активность некоторых клонов клеток иммунной системы, способствовать развитию иммунодефицитов и снижению защиты организма от перерождающихся клеток (Lyle D.B. et al., 1988). Однако есть

данные и о магнитно–полевой активации иммунных процессов, когда магнитно–полевое воздействие приводило к повышению синтетического потенциала лимфоцитов и тимоцитов, т.е. магнитные поля КНЧ способствуют восстановлению исходно сниженных клеточных характеристик до субнормальных и даже нормальных значений. Нормализующее и «антистрессорное» влияние слабых переменных магнитных полей 8 Гц на животных выявлено в исследованиях Н.А. Темурьянц и соавт. (1982, 1988).

Одним из важных клеточных элементов иммунного происхождения в разных тканях организма человека и животных являются тучные клетки, синтезирующие и секретирующие биологически активные регуляторы – гепарин, гистамин, серотонин, катехоламины. Магнитное поле вызывает увеличение количества тучных клеток и повышает их функциональную активность, что свидетельствует о важной роли тучных клеток в изменении реактивности организма на воздействие магнитных полей, на активное участие их в иммунорегуляторном цикле. Проведены исследования реакции тучных клеток на действие магнитного поля частотой 8 Гц в условиях *in vitro* (Мартынюк В.С., 2001). Показано, что тучные клетки непосредственно реагируют на магнитно–полевое воздействие повышением своей функциональной активности, при этом слабая, но достоверная реакция данных клеток была обнаружена для интенсивностей магнитного поля порядка несколько десятков нанотесла. Эта реакция усиливалась с увеличением амплитуды переменного магнитного поля. Был сделан вывод о том, что данные клетки и им подобные (клетки APUD–системы) в организме человека и животных могут выступать в роли неспецифических акцепторов магнитно–полевого воздействия, вызывая комплекс неспецифических тканевых и системных реакций.

Воздействие *переменных магнитных полей* (ПеМП) на организм животных и человека изменяет углеводный обмен (Колдуб Ф.А., 1989), угнетая кислородное энергетическое звено и активируя бескислородно–гликолитическое. Эти метаболические сдвиги являются отражением развития гипоксии в разных тканях организма и активации анаэробных путей энергетического обмена в клетках тканей (Сташков А.М. и соавт., 1998). При действии магнитных полей КНЧ изменяются показатели липид-

ного обмена: уменьшается содержание липидов в крови и в печени экспериментальных животных (Чернышева О.Н., 1987). В результате развития неспецифической адаптационной реакции организма в ответ на многократное действие магнитного поля происходит переключение метаболизма с углеводного типа на липидный. Причем, на фоне количественных изменений наблюдаются и качественные сдвиги липидного состава. Одновременно наблюдаются изменения со стороны системы транспорта липидов в крови, в том числе и такие, которые в зависимости от параметров электромагнитного воздействия носят анти– или наоборот про–атеросклеротический характер. Показано влияние слабых магнитных полей на процессы свободнорадикального окисления липидов (Мартынюк В.С., 1992). Одновременно с этим изменяется активность разных звеньев антиоксидантной системы, которая контролирует активность свободнорадикальных процессов в клетках. Наиболее чувствительным звеном этой системы является тиол–дисульфидный обмен, контролирующий количество тиоловых групп, которые активно реагируют со свободными радикалами. Подтверждением данных о влиянии магнитных полей на свободнорадикальные процессы могут служить работы, посвященные изучению влияния данного фактора на химические реакции с участием тиоловых соединений (Павлова Р.Н. и соавт., 1978).

Обнаружены изменения водно–солевого баланса в разных тканях животных, находящихся в магнитном поле (выявляется повышение гидратации тканей под влиянием магнитных полей, которое зависит от времени экспозиции и типа биологической ткани). Наиболее чувствительными и реактивными являются нервная ткань и миокард.

Доказано, что в ответ на единичное или длительное воздействие магнитных полей, близких по своим частотным характеристикам к природным, у животных развивается неспецифическая адаптационная реакция (Темурьянц Н.А. и соавт., 1982, 1988). При этом указанная адаптационная реакция характеризуется повышением уровня неспецифической резистентности, которая проявляется в возрастании функциональной активности лимфоцитов и повышении активности противосвертывающей системы крови. Поведенческая адаптация проявляется в усилении процессов торможения в центральной нервной системе и

повышении физиологического резерва симпатoadреналовой системы. Обнаружен феномен «антистрессорного» действия слабого магнитного поля частотой 8 Гц, когда у нормальных животных данный фактор вызывал адаптивную активацию системы неспецифической резистентности организма, тогда как у стрессированных животных воздействие слабым магнитным полем приводило к нормализации функциональных показателей деятельности иммунной и симпатoadреналовой систем. На основании результатов исследований реакции организма человека и животных на действие низкочастотных магнитных полей предложена классификация адаптационных реакций, которая в настоящее время широко используется в физиологических исследованиях (Гаркави Л.Х. и соавт., 1990). Согласно этой классификации существует три основных типа неспецифических адаптационных реакций, которые развиваются на действие слабых, средних и сильных по интенсивности факторов – *реакция активации, реакция тренировки и стресс-реакция* (по Селье). В ответ на действие слабых переменных магнитных полей развивается, как правило, неспецифическая адаптационная реакция активации. При длительном и более сильном воздействии может развиваться реакция тренировки. При этом классическую стресс-реакцию по Селье на действие магнитных полей получить практически не удастся.

В современной электромагнитной биологии изучается проблема индивидуальной чувствительности и гиперчувствительности к ЭМП. Показано, что чувствительность животных к магнитным полям коррелирует с повышенной активностью свертывающей системы, повышенным влечением к употреблению алкоголя и повышенной активностью опиоидной системы (Никольская К.А. и соавт., 2000). Было обнаружено, что у животных с разным типом поведения в «открытом поле» в ответ на действие МП частотой 8 Гц наблюдаются разные изменения со стороны функциональной активности нейтрофилов и лимфоцитов, а также симпатoadреналовой системы. У низкоактивных животных наблюдалась более сильная активация симпатoadреналовой системы и повышение возбудимости, тогда как у высокоактивных проявлялись признаки снижения возбудимости центральной нервной системы. Исследование метаболического состояния разных

структур головного мозга животных в условиях воздействия магнитным полем также подтвердило зависимость реакции организма от его индивидуально–типологических характеристик (Мартынюк В.С. и соавт., 2001). Особенностью реакции организма животных на действие слабых магнитных полей является ее зависимость от исходного состояния того или иного органа или функциональной системы. Если для органа или функциональной системы исходно характерен высокий уровень активности, то в ответ на действие слабого магнитного поля, как правило, происходит снижение активности и наоборот. В результате такой реакции часто наблюдается эффект нивелирования различий между экспериментальными индивидуально–типологическими группами. Экранирование животных от воздействия фоновых ЭМП приводит к обратному эффекту, т.е. к усилению их индивидуальных различий (Пальчикова Н.А. и соавт., 2003).

Стало ясно, что эмоциональная сфера животных с низкой активностью в «открытом поле» более чувствительна к действию слабых магнитных полей, чем у более активных животных. Можно считать экспериментально доказанным, что в популяции организмов всегда существуют своего рода «организмы–сенситивы», демонстрирующие повышенную чувствительность и реактивность к действию слабых электромагнитных факторов. Данная проблема имеет важное теоретическое и практическое значение и нуждается в изучении.

Показано, что экспозиция куриных эмбрионов в магнитном поле повышает вероятность гибели эмбрионов. При этом эффективность негативного влияния магнитного поля более высокая, если воздействие осуществляется в критические фазы эмбрионального развития (Leal J. et al., 1986). Негативное влияние магнитных полей, по всей видимости, начинается с некоторых пороговых значений (Juutilainen J. et al., 1987), а влияние магнитных полей более низких (подпороговых) амплитуд остается неизученным. Ряд исследований показывает, что на стадии гастрюлы эмбрионы наиболее чувствительны к действию слабых магнитных полей (Leal J. et al., 1986). Одной из главных мишеней влияния ПемП рассматривают сложную систему электрических токов в эндогенном электрическом поле эмбриона, которая иг-

рает важную роль в реализации программы развития организма (McCaig C.D. et al., 1991).

Динамика биологических систем характеризуется широким спектром периодов: от микро- и внутрисуточных до многолетних биоритмов. Согласование спектра биологических процессов с периодами гео-гелиодинамики позволяет предположить наличие явления синхронизации биологических ритмов внешними датчиками времени. R.A. Wever (1971) показал синхронизирующее влияние слабых переменных ЭМП на суточную ритмику организма человека, находящегося в экспериментальных условиях изоляции от воздействия природных факторов внешней среды. В биоритмологических исследованиях, проведенных исследовательской группой Н.А. Темурьянц, магнитное поле частотой 8 Гц индукцией 5 мкТл при ежедневном трехчасовом воздействии в течение 45 суток на животных приводило к сдвигу фазу инфрадианных (многосуточных) периодов разнообразных физиологических процессов. Эти факты обусловлены изменениями временной организации в инфрадианном диапазоне биоритмов системных регуляторных процессов на уровне центральной и вегетативной нервной системы.

Показано также нарушение суточного ритма секреции эпифизом гормона *мелатонина*. Но при десинхронозе, вызванном удалением эпифиза, периодическое воздействие магнитным полем оказывает стабилизирующее действие на временную организацию физиологических процессов (Темурьянц Н.А. и соавт., 1999), что свидетельствует о наличии альтернативных механизмов влияния магнитных полей, не требующих участия эпифиза.

Воздействие магнитных полей КНЧ не только изменяет параметры биоритмов и нивелирует исходные различия в параметрах временной организации физиологических процессов у животных с разными индивидуально-типологическими особенностями. Это доказывает, что периодически воздействующее слабое магнитное поле является синхронизирующим фактором, в ответ на действие которого у животных формируется соответствующий биоритмологический паттерн, который по своим параметрам становится близким у всех животных, не зависимо от первоначальных различий. Одним из наглядных примеров такого воздействия является выраженный синхронизирующий эф-

фekt магнитного поля частотой 8 Гц для ультрадианных (внутрисуточных) ритмов. На рис. 1 представлена динамика продуктов перекисного окисления липидов и концентрации тиоловых групп в головном мозге мышей в контрольных условиях и при однократном воздействии слабым магнитным полем частотой 8 Гц (Мартынюк В.С., 1992). Хорошо видно, что синхронизирующий эффект сохраняется некоторое время после прекращения магнитнополевого воздействия.

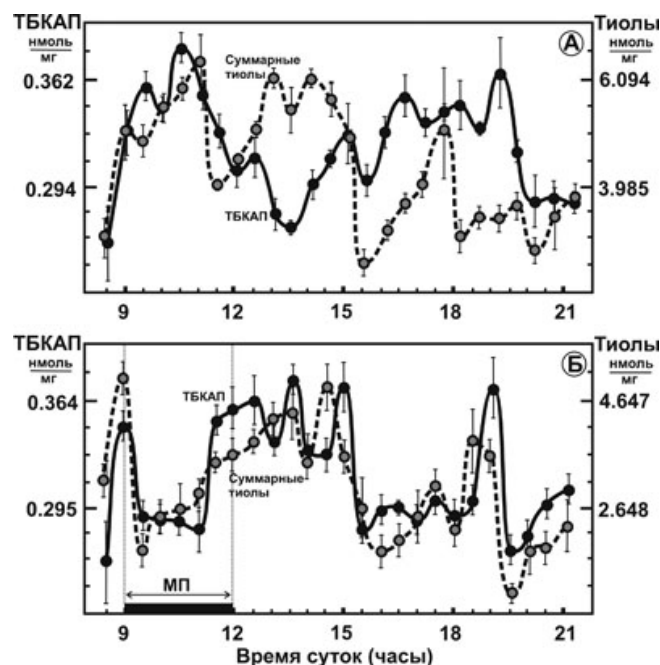


Рис. 1. Синхронизирующее действие магнитного поля частотой 8 Гц 30 мкТл на ультрадианную ритмику концентрации вторичных продуктов перекисного окисления липидов (сплошная линия, левая шкала) и тиоловых групп (пунктирная линия, правая шкала) в головном мозге животных. А – контрольная группа животных, Б – в условиях воздействия магнитным полем. По горизонтальной шкале – местное время суток, по вертикальным шкалам – количество исследуемых соединений в наномолях на миллиграмм исследуемой ткани; МП – экспозиция животных в магнитном поле (Мартынюк В.С., 1992).

Клетка является основным элементом в строении тканей и органов, содержит набор специфических структур (органелл) – митохондрии, рибосомы, лизосомы, эндоплазматическую сеть и др., которые выполняют важные специфические функции: биоэнергетическую, белоксинтезирующую, защитную, секреторную и др. Эти органеллы реагируют на различные функциональные колебания активности клетки и изменения внешней среды, подвергаются обновлению (физиологическая регенерация), а при неблагоприятных условиях в них развиваются неспецифические адаптационные изменения, а в крайних случаях – дистрофические и некротические процессы.

Слабые ПМП изменяют скорость созревания и дифференциации развивающихся нейронов (Lisi A. et al., 2005). Магнитно-полевое воздействие достоверно влияет на транскрипцию разнообразных генов (Goodman R. et al., 1983), при этом эффекты на этом уровне зависят от частоты магнитного поля (Goodman R. et al., 1989). Обработка клеточных культур низкочастотным магнитным полем приводит к появлению в цитоплазме и ядре клеток белков теплового шока, что свидетельствует об активации неспецифических механизмов клеточной защиты (Tokalov S.V. et al., 2004). Эффекты активации синтеза белков теплового шока зависят от амплитуды воздействующего магнитного поля, повышение амплитуды которого с 0,8 мкТл до 800 мкТл эквивалентно эффекту разогрева исследуемых клеточных культур с 20° С до 45° С (Blank M. et al., 1995). Исследования показали, что к воздействию низкочастотных магнитных полей чувствительны отдельные участки ДНК, обогащенные nCTCTn-последовательностями. Эти последовательности входят в состав промоторных (регуляторных) участков генов разных белков, в том числе и белков теплового шока (Lin H. et al., 2001).

Обнаружено влияние слабых магнитных полей КНЧ на устойчивость хроматина к действию ферментов, расщепляющих ДНК (Новиков В.В. и соавт., 1997). Эти изменения связаны со снижением активности белков-ингибиторов (Новиков В.В. и соавт., 1997). В свою очередь это свидетельствует о магнито-индуцированных конформационных изменениях в структуре белка-ингибитора, приводящих к потере его функциональной активности. Структурные изменения ДНК-белкового комплекса

обнаружены и у прокариот (Alipov Y.D. et al., 1996). При этом максимальные эффекты регистрировали на частотах, близких к частотам ионосферного волновода, – 8,9, 15,5 и 29,4 Гц у мутантных форм, и на частотах 8,3 и 27 Гц у бактерий с диким фенотипом. Аналогичные исследования на эукариотических клетках показали максимальные эффекты магнитных полей на частотах 9 и 16 Гц (Alipov Y.D. et al., 1996). Эти данные свидетельствуют о том, что биологическая эффективность магнитных полей КНЧ на генетическом уровне в определенной степени зависит от особенностей нуклеотидной последовательности и характера взаимодействия белков с ДНК.

Слабые магнитные поля КНЧ способны влиять на концентрацию некоторых регуляторных молекул и ионов, выполняющих роль внутриклеточных сигналов (Lednev V.V. et al., 1999), а также на продукцию свободнорадикальных форм кислорода (Simko M., et al., 2001).

Одной из мишеней действия магнитных полей могут быть кальций-зависимые пути внутриклеточной регуляции, посредством которых осуществляется передача в клетку сигналов разной природы (Liboff A.R. et al., 1987; Леднев В.В. и соавт., 1996). Малые изменения концентрации ионов кальция (Ca^{2+}) в цитоплазме могут вызывать достаточно сильные функциональные изменения в клетке, поэтому с влиянием электромагнитных полей на Ca^{2+} -зависимые пути внутриклеточной сигнализации многие исследователи связывают разнообразные эффекты данного фактора на клеточном уровне.

Важным моментом влияния слабых магнитных полей является изменение активности ряда биологически активных веществ и фармакологических препаратов. Так, например, снижается онкостатическое действие *мелатонина* и тамоксифена на раковые клетки (Ishido M. et al., 2001; Harland J. et al., 1999), не проявляет свое биологическое действие хромогликат натрия, который используется для купирования приступов бронхиальной астмы (Мартынюк В.С. и соавт., 2001). Перечень таких эффектов в настоящее время постоянно расширяется.

Показана принципиальная возможность изменения сопряженности окисления и фосфорилирования в дыхательной цепи, интегрированной в мембрану (Холодов Ю.А. и соавт., 1979).

Это может быть связано с изменениями гидрофобности поверхности, проницаемости и других физико-химических свойств клеточных мембран, в том числе на уровне проявления поверхностно-активных свойств природных липидов (Martynyuk V.S. et al., 2004).

Показано, что ЭМП в диапазоне частот 1 – 3000 Гц изменяют активность ряда мембранных ферментов, выполняющих разные задачи в клетке (Blank M. et al., 1997, 1998; Фесенко Е.Е., Новиков В.В., 1997). Эти эффекты связаны с изменением пространственной структуры белков (Новиков В.В. и соавт., 1999), но такие структурные изменения, по всей видимости, лучше проявляются при неспецифической нагрузке белков низкомолекулярными гидрофобными лигандами (Martynyuk V.S. et al., 2006), что убедительно свидетельствует о непосредственном влиянии слабых магнитных полей на структурно-функциональные свойства белков.

Известен феномен частотных и амплитудных «окон», в которых имеют место выраженные биологические эффекты. В других диапазонах ответ биологической системы может отсутствовать. К сожалению, наличие таких частотно-амплитудных «окон» не всегда подтверждается в независимых исследованиях, что часто связано с разными условиями экспериментов. Тем не менее, в последние десятилетия выяснена природа некоторых таких частотно-амплитудных зависимостей. Adey и соавт. одни из первых обнаружили в диапазоне крайне низких частот выраженную частотную зависимость выхода ионов кальция (Ca^{2+}) из тканей цыпленка (Adey W.R., 1981), и это послужило толчком к дальнейшему исследованию роли биологически значимых ионов в первичных механизмах биологического действия низкочастотных электромагнитных полей. В настоящее время благодаря работам В.В. Леднева (1996), В.Н. Бинги (2002) и др. исследователей указанная частотная зависимость получила ряд альтернативных теоретических объяснений. В основе предлагаемых моделей лежит явление взаимодействия заряженных ионов с постоянной и переменной компонентами магнитного поля. Согласно теоретическим представлениям для конкретного значения постоянного магнитного поля существуют определенные комбинации частот и амплитуд переменной компоненты, когда

наступает явление резонанса. В таких условиях резонанса сильно изменяются параметры взаимодействия ионов, например, с белками, которые в свою очередь изменяют свою активность и запускают (или, наоборот, тормозят) в клетке каскадные метаболические реакции, которые таким образом на многие порядки усиливают исходно крайне слабый по энергии сигнал.

Основным веществом живых организмов является вода, содержание которой в разных биологических тканях составляет от 60 до 99 %. Вода – это не только и не столько растворитель, в котором протекают все биохимические превращения. Вода является непосредственным участником метаболических и энергетических процессов. Она является главным структурообразующим фактором на бимолекулярном уровне. Особая роль воды в реализации магнитобиологических эффектов обусловлена тем, что она образует с биологическими макромолекулами единую систему, где свойства компонентов неразрывно связаны друг с другом. Это, в свою очередь, оказывает влияние на разнообразные биологические процессы, протекающие в водной среде. При этом уникальность роли воды проявляется в том, что она непосредственно влияет на формирование и стабилизацию нативной структуры и функционирование макромолекул биополимеров, клеточных мембран и более сложных надмолекулярных образований. Так, еще Дж. Пиккарди в середине прошлого века в ходе многолетних исследований пришел к выводу о том, что в основе биологических эффектов низкочастотных электромагнитных полей лежит их взаимодействие с водой и водными системами. По мнению этого исследователя, это вызвано динамическим метастабильным состоянием, характерным для большинства растворённых в воде макромолекулярных систем.

Водная квазикристаллическая метастабильная фаза является первичным акцептором магнитно-полевого воздействия. Изменения свойств воды неминуемо должны сказываться на структуре и функции белков и биологических мембран, для которых вода является той самой внешней средой, которая определяет их структурную организацию и функциональную динамику. Вероятно, по этой причине изменяются оптические свойства белков (Новиков В.В. и соавт., 1999; Martynyuk V.S. et al., 2006) и проявление поверхностно-активных свойств природных

фософолипидов (Martynyuk V.S. et al., 2004), изменяется растворимость в воде веществ и их адсорбция (Классен В.Н., 1982; Мартынюк В.С. и соавт., 1999). П.В. Василик (1985) высказал предположение о том, что в основе механизмов формирования биологических ритмов могут лежать элементарные физико-химические процессы в водной фазе, активность которых модулируется природными электромагнитными факторами, связанными с космической погодой. В качестве доказательства своей правоты исследователь приводит данные по совпадению основных характеристик спектров вариаций свойств воды и водных растворов и биологических процессов. Результаты исследований по динамике электропроводности воды (Агеев И.М. и соавт., 2001) и других физико-химических показателей воды и водных растворов (Огменюй I. et al., 1990), а также результаты сопоставления динамики физических параметров водных растворов электролитов и показателей функциональной активности головного мозга (Макарова И., 2000) могут служить подтверждением правоты таких представлений. Гипотеза о том, что вода в живых системах является одним из главных акцепторов электромагнитного воздействия требует всесторонней скрупулезной проверки.

Показана сверхчувствительность живых организмов к воздействию электромагнитных волн миллиметрового диапазона нетепловой интенсивности (менее $10 \text{ мВт} \cdot \text{см}^{-2}$), при этом имеют место выраженные резонансные эффекты (Бецкий О.В. и соавт., 2004). Ряд исследователей отмечает, что минимальные пороговые значения интенсивности электромагнитных волн миллиметрового диапазона, при которых регистрируется какая-либо реакция живого организма, лежат в пределах 10^{-19} – $10^{-20} \text{ Вт} \cdot \text{см}^{-2} \cdot \text{Гц}^{-1}$ (Ситько С.П. и соавт., 1994). Такие невероятно низкие пороговые уровни не всегда обнаруживаются в независимых исследованиях. Открытие высокой биологической активности электромагнитных излучений крайне высоких частот позволяет по-новому осмыслить биофизические принципы организации и регулирования биологических процессов, а также разрабатывать принципиально новые медицинские технологии лечения заболеваний разной этиологии.

2. Медико–биологические аспекты теории фракталов

Философский взгляд на сущность процессов мироздания отразился в словах Гегеля: «Мир – есть дисгармония гармоний». Исследования последних десятилетий показали справедливость этого высказывания, когда было признано, что гармонические отношения обусловлены фрактальностью.

Бенуа Б. Мандельброт (2002) дал несколько определений фрактала. «Фрактал – это структура, состоящая из частей, которые в каком-то смысле подобны целому» и «Фрактал – это множество, размерность Хаусдорфа–Безиковича которого строго больше его топологической размерности».

Под размерностью Хаусдорфа–Безиковича (D) множества понимается критическая размерность, при которой мера M изменяет свое значение с нуля на бесконечность:

$$M_d = \sum \gamma(d) \delta^d = \gamma(d) N(\delta) \delta^d \rightarrow \begin{cases} 0 & \text{при } d > D \\ \infty & \text{при } d < D \end{cases} \quad \delta \rightarrow 0$$

где $M_d - d$ – мера множества; d – размерность меры (при $d=D$ значение M_d – конечно, но может $=0$ или бесконечности, $D=1$ для линий, $D=2$ для плоскостей, $D=3$ для шаров), не целая размерность Хаусдорфа–Безиковича – фрактальная; $\gamma(d)$ – геометрический коэффициент (для отрезков, квадратов, кубов $=1$, для кругов $=\pi/4$, для сфер $=\pi/6$); $N(\delta)$ – число прямолинейных отрезков длины δ .

Дж. Глейк также дал определение фракталов: это «геометрические фигуры, полученные в результате дробления на части подобные целому, или при одном и том же преобразовании, повторяющемся при уменьшающихся масштабах».

Фрактальность тела человека (и не только тела) проявляется в дерматоглифике, в системе локализации биологически активных точек (аурикулярных, корпоральных) и т.д. Взаимосвязи гармонии и фрактальности наиболее четко видны при анализе соотношений в морфометрических, лабораторных исследованиях, при обосновании понятия «золотого вурфа».

Слово *вурф* – от немецкого «wurf» – взрыв. Двойное отношение длин трехзвенных конечностей млекопитающих и человека, птиц и насекомых приблизительно равно 1,309. Величина 1,309 связана с числом 1,618 через выражение $W = \Phi^2/2 = 1,309...$ Эта величина получила обозначение «*золотого вурфа*». Это инвариант конформных преобразований длины блоков тела человека в ходе развития организма. Эта же величина оказалась инвариантом и в отношении клеточного состава периферической крови. При воздействии стрессоров, не вызывающих срыва адаптационных процессов в системе крови, отклонения от величины «*золотого вурфа*» – не превышают 22 %. При воздействии на организм средних по интенсивности факторов возникает существенная дисгармонизация в числе, форме и функциях составных частей крови, при этом отклонение указанных вурфовых пропорций от «*золотого вурфа*» – превышает 22 %. При тяжелых дистресс-синдромах и при возникновении тяжелой патологии вурфы больного отличаются от вурфов здорового организма и «*золотого вурфа*» – в несколько раз.

Тело человека построено по закону «*золотого сечения*» и «*золотого вурфа*»: длина плода с 1-го по 9-ый месяц нарастает в соответствии с последовательностью Фибоначчи; головной мозг – деятельность правого и левого полушарий отличается на величину «*золотого сечения*»; ДНК – форма двойной спирали, сдвиг которой подчиняется пропорциям «*золотого сечения*»; реснички эпителия мукоцилиарного транспорта легких – обеспечивают восстановительный и эффективный удары, соотносящиеся в «*золотой пропорции*»; линейный размер трубчатых костей соответствует «*золотому сечению*»; количественный набор костей соответствует числам ряда Фибоначчи: 3 фаланги, 5 пальцев, 8 костей запястья, 13 пар ребер, 34 позвонка; в работе локомоторного аппарата при ходьбе, беге – гармоническое раздражение экстеро- и интерорецепторов осуществляется в режиме «*золотого сечения*».

По И.Р. Пригожину и И. Стенгерсу (1986): «*Хаос (рост энтропии) – это особая форма порядка, в которой случайность и бессистемные импульсы являются организующим началом*».

Упорядочение хаоса (уменьшение энтропии, негэнтропия) ведет к конечной ступени развития системы (явления) – *ат-*

трактору, который управляет всеми явлениями, извлекая порядок из беспорядка, обеспечивая в организме лабильность физиологических систем, формирование точки, линии, поверхности или объема.

Начавшиеся в 50–60-х годах XX века споры об «энтропийности» мироздания находят свое разрешение в двойственности хаоса и упорядоченности. Аттрактор в фазовом пространстве, в котором точки никогда не повторяются и орбиты никогда не пересекают друг друга, однако как точки, так и орбиты остаются внутри некоторой области в фазовом пространстве. В отличие от предельных циклов или точечных аттракторов *странные аттракторы* являются непериодическими и имеют фрактальную размерность. Они являются конфигурацией нелинейной хаотической системы.

Справедливо мнение Ю.Л. Климонтовича (1996) о том, что процесс самоорганизации есть переход от более хаотического состояния к менее хаотическому, причем *увеличение упорядоченности – не есть непременно условие самоорганизации*.

Для биологических открытых систем важным понятием является «*норма хаотичности*». Несмотря на то, что диссипация ассоциируется с понятием рассеяния различных видов энергии, затухания движений, с потерей информации, – в открытых системах диссипация служит источником образования структур. Под структурами подразумеваются их различные виды: временные, пространственные и пространственно–временные структуры (автоволны). Именно в них и осуществляются кооперативные явления. При образовании диссипативных структур важна роль коллективных, совместных действий, получивших терминологическое звучание – *синергетика* (Хакен Г., 1985).

В природе и обществе суммарное выражение процессов изменения и развития заключается в определении – *эволюция*.

Эволюция во времени и замкнутых, закрытых системах реализуется в *равновесном состоянии*, которому присуще максимальное значение энтропии, хаотичности. В открытых системах эволюционные процессы идут по двум путям: либо происходит временная эволюция к *неравновесному состоянию*, либо она осуществляется через некоторую последовательность *неравновесных состояний* открытой системы из-за изменения

управляющих параметров. При этом направление вектора эволюции может быть направлено либо на *самоорганизацию*, либо на *деградацию*.

В этом заключена возможная роль человека, познающего законы и методы управления, в изменении вектора направленности процессов в открытых системах, для воздействия на живой организм с лечебно–оздоровительными целями. Поэтому необходимы *количественные критерии* некоторой «*нормы хаотичности*» и степени отклонений от нее под влиянием внешних и внутренних факторов. При этом процессы самоорганизации включаются в понятие – *здоровье*, а деградации – в понятие *болезни*. Без такого понимания основ теории открытых систем, синергетики, базирующихся на фундаментальных физических законах, все предлагаемые определения понятия здоровья и болезни, включая данные ВОЗ, – представляются ограниченными, неполными. Все отклонения от *нормы хаотичности* можно условно считать *болезнью*. Приведение *внешними управляющими воздействиями* (лечением) открытой системы к норме хаотичности и есть процесс *самоорганизации* системы.

Взаимоотношения между степенями упорядоченности и процессами самоорганизации, фундаментальных критериев нормы хаотичности, – являются предметом иных исследований, вне рамок настоящей работы, но как ее продолжение.

Эти подходы объясняют реальность управляющих воздействий биофизических эффектов полей и излучений в лечебно–восстановительных мероприятиях. В частности полученный нами несколько лет назад патент № 2183483 «Способ переноса энергоинформационных характеристик эталонного биообъекта на интактный биообъект» в случае дальнейшей разработки с привлечением значительных инвестиций может стать основой медицины будущего. В перспективе – это запись характеристик здорового человека на тот или иной носитель, создание индивидуальных банков данных на каждого человека. В случае болезни, а также для профилактики – будет возможна коррекция энергоинформационного поля собственной информацией, а также целенаправленное видоизменение ее.

Становится реальностью создание наркозных аппаратов без наркотических веществ, использующих модулированные элек-

тромагнитные колебания, присущие разным фазам естественного сна. Появится возможность избежать ситуации, сложившейся при ликвидации боевиков во время штурма концертного зала на Дубровке («Норд – Ост»).

Дело в том, что информация сохраняется и видоизменяется как внутри клетки, так и в межклеточном веществе (интерцеллюлярном ретикулууме), во *внеклеточных матриксах* (ВКМ) с их противоречивой функцией интеграции и дифференциации клеток. ВКМ – это субстрат для хранения информации о будущем развитии клетки, ткани и организма в целом, наряду с хромосомными кодами им определяется дифференцировка тканей, их формирование, стабильное состояние, обеспечивается тканевая специфичность.

Передача сигналов между клетками осуществляется через внеклеточное пространство. Каналы внеклеточного пространства являются хорошими проводниками ЭМП, в это пространство выступают скрученные белковые молекулы, внешние окончания спиральных протеинов, пронизывающих плазматические мембраны, воспринимающие химические и электрические сигналы. Это – морфологический субстрат, предназначенный для первичного обнаружения самых слабых электрохимических колебаний, полевых потенциалов в межклеточном пространстве. Достаточно хорошо изучена модель «протонного насоса» на примере пронизывающего липидный бислой оболочки белка бактериородопсина у бактерий *Holobacterium halobium*, состоящего из 7 альфа-спиралей. При активизации квантом света хромофор (ретиналь), содержащийся в этом белке, вызывает конформацию белка с переносом 2 протонов с внутренней поверхности клеток на наружную. Градиент концентрации протонов сопряжен с градиентом электрического потенциала.

Токовые потоки во внеклеточном пространстве могут быть крайне низких интенсивностей, при градиентах в тканях ниже 10^{-7} В/см, но их регуляторное влияние несомненно. Низкочастотные импульсные магнитные поля, индуцирующие в тканях градиенты порядка 3 мВ/см при плотности тока во внеклеточном пространстве 10^{-6} А/см², модифицируют активность энзимов и модулируют секрецию коллагена. Это ответ на миллионную долю пороговых трансмембранных токов. Нелинейность и

неравновесность взаимодействия совместимы и объясняются квантовыми процессами, инициирующими длительные контакты между электрическими зарядами макромолекул на поверхности клетки, когерентными состояниями и фазными переходами в заряженных элементах биомолекулярных систем клеточных мембран.

Построена *корреляционная модель* активации собственных ЭМП клеток организма (Афромеев В.И. и соавт., 1999). Естественным «биологическим полем» живого организма является ЭМП диапазонов от ИК до УФ, а возможно и более коротковолновое. Отвлекаясь от механизма генерации собственных ЭМП организма, отметим, что колебания $S_1(t)$ генерируются (рис. 2), а само их наличие необходимо для реализации биокibernетического принципа обратной связи организма со средой.

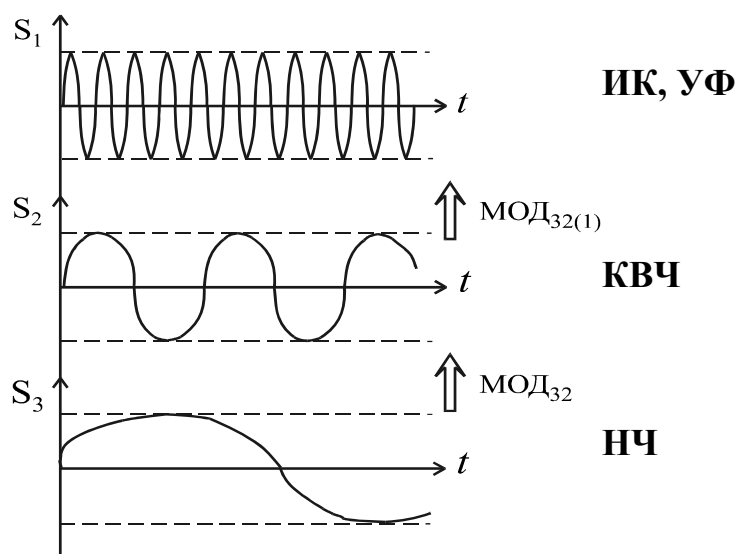


Рис. 2. Принцип работы корреляционной модели в активации собственных ЭМП клеток: ИК – инфракрасное излучение, УФ – ультрафиолетовое излучение, КВЧ – крайневыхочастотное излучение, НЧ – низкочастотное излучение

Вторым и тоже естественным полем организма являются поля, обусловленные физиологическими ритмами $S_3(t)$; это низкочастотные колебания от долей герца до сотен (тысяч) герц, физически реализуемые как акустоэлектрические колебания. *Корреляционная связь* единственно представляется как модуляция (в модели – амплитудная, но в действительности носящая очень сложный, комбинированный характер). Однако непосредственная модуляция (S_3/S_1) вряд ли возможна, ибо слишком иерархически удалены друг от друга соответствующие биоструктуры – среды генерации и распределения ЭМП: колебания $S_1(t)$ существуют в микроструктурах клеток на уровне, например, ферропротеидов, а средой распространения акустоэлектрических колебаний S_3 является, преимущественно, структура (решетка) межклеточной среды (матрикса).

Поэтому в организме существуют колебания $S_2(t)$ – скорее всего как колебания заряженных клеточных мембран, длинноволновая часть спектра которых совпадает с КВЧ-диапазоном. То есть их назначение в естественном биофизическом процессе – *корреляционно-связующее, медианно-модулирующее*.

Эти процессы являются базовыми при разработке технологий визуализации и качественно-количественной оценки клеточного метаболизма. Доказано, что в основе различных видов патологии лежат процессы, протекающие в микроциркуляторном русле и отражающиеся в тех, или иных видах излучения, которое можно регистрировать (Хадарцев А.А. и соавт., 2003).

Весь комплекс стрессреализующих и стресслимитирующих эффектов (Меерсон Ф.З., 1993) осуществляется через систему микроциркуляции, представляющей собой функциональную подсистему с соответствующими локальными и общесистемными механизмами управления. На уровне микроциркуляции осуществляется также формирование типа механизма адаптации. *Микроциркуляция – это зона формирования информационной обратной связи и зона реализации управляющих эффектов*.

Реципрокность холинергических и адренергических систем, свертывания и противосвертывания, иммуносупрессии и иммуноактивации и прочие известные антагонистические зависимости – это по сути сбалансированный механизм, деятельность которого энергетически и информационно обеспечивается через

инфраструктуры микроциркуляции, расположенные по всему организму.

Это согласуется с принципом *голографической организации* процессов жизнедеятельности организма, сформулированным К.В. Судаковым (1999). Согласно этому принципу осуществляется интеграция акцепторов результата действия функциональных систем в виде *единого информационного голографического экрана* мозга, имеющего основное свойство – опережающее отражение действительности по П.К. Анохину (1962).

Именно на этом уровне реализуется диалектическое взаимодействие объективного и субъективного, идеального и материального, энтропии и негэнтропии.

Порционное дозирование крови, поступающей в систему микроциркуляции, не только предоставляет возможность для осуществления обменных процессов в клетках, но и обеспечивает резерв времени, необходимого для системного квантования. Это также соответствует принципу взаимодействия системоквантов между собой, предусматривающему последовательность, мультипараметричность и иерархичность (Судаков К.В., 1997).

Опережающие процессы на клеточном уровне обусловлены быстротой ферментативных реакций, а в соединительной ткани опережение возможно лишь при имеющем место дозированном, *порционном* поступлении крови в микроциркуляторное русло, когда коррекция метаболизма осуществляется постоянно, но при последовательном анализе отдельных порций. При этом создаются необходимые условия для опережающего программирования в акцепторе результатов действия с выработкой соответствующего управленческого решения и механизма исполнения. Именно на этом уровне интегрируются врожденные механизмы управления (вегетативные – регулирующие гомеостатические, метаболические реакции) и приобретенные механизмы обучения, регулирующие поведенческие реакции.

Соединительнотканым представительством информационного экрана организма, его «вторым эшелон», являются коллоиды межклеточного вещества соединительной ткани, протеингликаны (гиалуроновая кислота и др.), белковые молекулы крови. Именно в соединительной ткани сконцентрированы информационные молекулы клеток тканей, происходит взаимо-

действие гормонов, простагландинов, витаминов, иммунных комплексов, гликопротеинов и различных биологически активных веществ.

При этом осуществляются экспрессирующие эффекты молекул «первого эшелона» (ДНК, РНК), определяющие дифференцировку клеток, рост, характер метаболизма, опережающего их потребности. И, конечно, велика роль структур головного мозга («третьего эшелона») – конструкторов математических информационных моделей (Зилов В.Г., Судаков К.В., Эпштейн О.И., 2000). Но совокупность этих «эшелонов» – есть не что иное, как информационно–пластическая инфраструктура человеческого бытия.

Таким образом, микроциркуляторная (кровеная и лимфатическая) сосудистая сеть играет важную роль в формировании различных физиологических и патологических процессов, происходящих в макросистеме – человеческом организме. Это положение нашло подтверждение в наших исследованиях, основанных на прямом и косвенном определении состояния микроциркуляции в норме и патологии. С этой целью применялись различные способы визуализации состояния микроциркуляторной системы в условиях клиники.

3. Сано- и патогенные воздействия низкоинтенсивных, низкочастотных магнитных полей

Как и в случае воздействия высокочастотных ЭМП на организм человека в группах профессионального риска, факторы воздействия низкочастотных, низкоинтенсивных МП целесообразно разделить по трем группам: а) воздействие геомагнитного поля; б) воздействие МП промышленных устройств; в) сопутствующие негативные эффекты клинической магнитотерапии. Теоретические аспекты медико-биологических эффектов воздействия МП на биообъект рассмотрены в большом числе работ (Демецкий А.М., Цецохо А.В., 1990; Нефедов Е.И., Протопопов А.А., Семенцов А.А., 1995; Алешенков М.С., Родионов Б.Н., 1998; Нефедов Е.И., Протопопов А.А., Хадарцев А.А., 1998; Афромеев В.И., Хадарцев А.А., Яшин А.А., 1999; Владимирский Б.М., Темурьянц Н.А., 2000; Житник Н.Е., Новицки Я.В., Привалов В.Н., 2000; Ар-

хипов М.Е., Субботина Т.И., Яшин А.А., 2002; Бинги В.Г., 2003; Субботина Т.И., Туктамышев И.Ш., Хадарцев А.А. и соавт., 2003; Дорофеев А.И., Кузнецов Д.А., Куротченко С.П., Субботина Т.И., Яшин М.А., 2003). Материалы практических исследований содержатся в (Фролова Н.М., 2003; Токарский А.Ю., 2004; Торубаров Ф.С., 2004; Ушаков И.Б., Измеров Н.Ф., Бухтияров И.В., 2005).

Сопутствующим патогенным эффектам магнитотерапии посвящено множество работ, преимущественно Тульской научной школы биофизики полей и излучений (Сергеев А.В., Субботина Т.И., Яшин А.А., 2002; Куротченко С.П., Галкина Л.В., Субботина Т.И. и соавт., 2004; Луценко Ю.А., Яшин М.А., Новиков А.С. и соавт., 2004; Яшин М.А., 2004). Показано, что в современных условиях электромагнитной и магнитной загрязненности окружающей среды прежде всего развиваются (стимулируются) патологии иммунной, нервной, репродуктивной, эндокринной, кроветворной и других систем организма человека, причем стойкие и зачастую необратимые изменения вызываются при периодическом воздействии ЭМП и МП малой интенсивности (Черных А.М., Черных Т.В., 2004).

К биофизическим механизмам влияния постоянных и переменных МП различных частот и интенсивностей на организм человека можно отнести магнитную индукцию, возникающую при электродинамическом взаимодействии с подвижными электrolитами. Поля в виде сил Лоренца оказывают влияние на движущиеся носители ионных разрядов, образуя, таким образом, индуцированные электрические поля и токи. Такое взаимодействие является основой магнитоиндуцированных потенциалов тока крови, а также потенциалов, обеспечивающих ключи сенсорной направленности для некоторых видов организмов и рыб, что позволяет им хорошо ориентироваться в поле Земли. Экспериментально доказано, что переменные МП индуцируют токи Фарадея в живых тканях. Определенную роль могут играть магнитомеханические эффекты, к которым относятся магнитоориентация и магнитомеханическая передача. Нельзя исключить и влияние эффекта Холла, возникающего в МП при распространении электрических импульсов, а также электронные взаимо-

действия. Возможны и другие биофизические механизмы (Чижевский А.Л., 1976).

Другой важнейший фактор – это наличие магнитных аномалий с относительно высокой возмущенностью (усилением) естественного *геомагнитного поля* (ГМП). Исследования показали, что на Земле имеется несколько магнитных аномалий, где ГМП отличается от остальных территорий в среднем на 10 %. В Российской Федерации имеются две крупнейшие из них: Ангаро-Илимская и *Курская магнитные аномалии* (КМА). Горизонтальная компонента индукции ГМП на территории КМА достигает до 80 тыс. нТ, а вертикальная – до 170 тыс. нТ, что в 4–5 раз превышает аналогичные параметры на других территориях. Простираясь с северо-запада на юго-восток от Балтийского до Азовского морей полосой, ширина которой 250 км, КМА занимает площадь более 160 тыс. км² и охватывает территорию 12 областей России и Украины (Смоленскую, Калужскую, Брянскую, Орловскую, Курскую, Белгородскую, Воронежскую, Сумскую, Харьковскую, Донецкую, Луганскую и Ростовскую). Максимальные величины напряженности ГМП (до 2 э) зарегистрированы на территории Курской обл. в г. Железногорске, что позволяет считать его эпицентром КМА, а аномальное ГМП – главным природным фактором риска для здоровья населения.

На данных территориях достоверно наблюдается почти по всем нозологическим единицам связь между аномальностью ГМП и заболеваемостью населения. Таким образом, экологические угрозы здоровью человека в условиях магнитных аномалий и усиленных (возмущенных) ГМП несомненны.

Воздействие на группы риска магнитных полей промышленных установок является важнейшими в медицине труда и промышленной экологии (Бочков Н.П., 2004; Никитина В.Н., Ляшко Г.Г., Никанов А.Н. и соавт., 2004; Подзолкова Н.М., Глазкова О.Л., Шарапова Г.А. и соавт., 2005). Здесь прежде всего учитываются МП с промышленной частотой 50 Гц. В частности, в (Никитина В.Н., Ляшко Г.Г., Никанов А.Н. и соавт., 2004) приведены результаты изучения условий труда в плавильных отделениях производства никеля (на базе комбината «Североникель», Мурманская обл.), где источниками МП промышленной частоты являются:

- электродуговая печь (анодной плавки), в которой происходит плавка подготовленного концентрата на анодный никель;
- индукционная печь (миксер), осуществляющая разогрев металла для разлива в карусель.

Одну секцию обслуживают 5 человек. За смену осуществляется 2 плавки. Электродуговые печи оборудованы тремя графитовыми электродами, печными трансформаторами, энергетическими кабельными трассами.

Специфика воздействия на организм человека в группах риска и для населения вращающихся (вихревых) ЭМП и ЭМИ с вращением плоскости поляризации (далее просто вращающихся ЭМИ) является приоритетом исследований Тульской научной школы биофизики полей и излучения и Днепропетровской (Украина) школы КВЧ-терапии и магнитотерапии (И.И. Соколовский, Н.Е. Житник, В.В. Крысь и др.) (Владимирский Б.М., Темуриянц Н.А., 2000; Бинги В.Г., 2000; Архипов М.Е., Субботина Т.И., Яшин А.А., 2002; Сергеев А.В., Субботина Т.И., Яшин А.А., 2002; Субботина Т.И., Туктамышев И.Ш., Хадарцев А.А. и соавт., 2003; Луценко Ю.А., Яшин М.А., 2004; Новиков А.С., Субботина Т.И., Яшин М.А., 2004; Субботина Т.И., Хадарцев А.А., Яшин М.А. и соавт., 2005).

Как следует из анализа вышеназванных работ, воздействие вращающихся ЭМИ и МП на организм человека оказывает как саногенное (в КВЧ-терапии и магнитотерапии), так и патогенное воздействие. Можно выделить три группы воздействующих вращающихся ЭМИ и МП:

- природный фактор, то есть возмущение ГМП в период «солнечных бурь» – группы риска: все население;
- побочное (негативное) воздействие вращающихся ЭМИ и МП в процедурах КВЧ-терапии и магнитотерапии, использующих вращающиеся поля – группы риска: пациент и обслуживающий медицинский персонал;
- воздействие на обслуживающий персонал излучений промышленных электроустановок, генерирующих вращающихся ЭМИ и МП.

В первом случае наблюдаем завихрение ГМП под воздействием потока ионизирующих частиц солнечного излучения в периоды солнечной активности, в особенности – «солнечных

бурь». Этот процесс хорошо объясняется, исходя из основных положений электродинамики и радиофизики. Биофизический эффект зависит от текущего направления вращения возмущенного ГМП: правой или левой (*D*- и *L*-формы киральности, то есть вращения).

Поскольку КВЧ-терапия и магнитотерапия, использующие вращающиеся ЭМИ и МП, является в настоящее время весьма перспективной, то важно учитывать: а) побочное (негативное) воздействие на организм пациента; б) воздействие на обслуживающий персонал физиотерапевтических кабинетов учреждений здравоохранения. Например: лечение пародонтита правовращающимися МП (или ЭМИ) может спровоцировать обострение язвенного процесса (Житник Н.Е., Новицки Я.В., Привалов В.Н. и соавт., 2000).

Наиболее многочисленной группой профессионального риска по воздействию вращающихся ЭМИ и МП является обслуживающий персонал промышленных установок, генерирующих соответствующие поля, а это очень широкая номенклатура электродвигателей и электрогенераторов с промышленной частотой 50 Гц, работа которых основана на действии вращающегося МП.

Биофизические эффекты воздействия на живой организм вращающихся низкоинтенсивных ЭМИ и МП к настоящему времени далеко не полностью изучены – отсюда и недостаточность литературной обзорной базы.

Широкое распространение в последнее десятилетие сотовой (мобильной) связи и резкое увеличение числа пользователей *персональных компьютеров* (ПК) – от профессиональных до бытовых) фактически сделали группой риска по излучению сотовых станций и телефонов, излучению мониторов ПК до четверти населения Земли и до 50...80 % в промышленно развитых странах (Денисов С.Г., 2002).

О повреждающем воздействии ЭМИ сотовой связи на организм человека свидетельствует тот факт, что многие специалисты в области биофизики и радиоэкологии настаивают на введении норм ограничения – в рамках правительственных постановлений и рекомендаций – пользования сотовой связью несовершеннолетними и беременными женщинами (МЗ РФ в 2003 г. уже дало

официальную рекомендацию). Так, по результатам состоявшейся 20–22/IX 2004 года в Москве международной конференции «Сотовая связь и здоровье: Медико-биологические и социальные аспекты» был принят меморандум «Сотовая связь и здоровье детей», в котором резюмировалось: *«Итоги проведенной Международной конференции позволяют сделать вывод, что мы не располагаем достаточными научными данными, чтобы оценить опасность для населения ЭМП сотовой связи с учетом ее распространения: массовое добровольное облучение ЭМП головного мозга (в России к концу 2004 г. более 50 млн. пользователей) и круглосуточное добровольное облучение ЭМП РЧ всего состава населения в местах проживания действия базовых станций. Особую заботу в этой ситуации составляют дети».*

На основе анализа литературных источников можно оценить степень угрозы здоровью больших групп населения: пользователей сотовой связи и несанкционированно облучаемых ЭМП базовых станций (Григорьев Ю.Г., 2001; Бобраков С.Н., Карташев А.Г., 2001; Куротченко С.П., Дорофеев А.И., Субботина Т.И., 2003; Яшин М.А., 2004; Додина Л.Г., Поддубный Д.А., Сомов А.Ю., 2004). Предварительно отметим два наиболее существенных фактора:

- как следует из результатов исследований Тульской научной школы биофизики полей и излучений, патогенность излучений сотовой связи объясняется использованием в ней 1-ГГц-диапазона (453÷1785 МГц в зависимости от стандарта телефона), так называемой «лэмбовской частоты», изменяющей протекание всех биохимически важных реакций);

- «заказной» характер многих исследований, учитывающих интересы фирм-производителей средств сотовой связи, что препятствует однозначной оценке рассматриваемой ситуации (WWW.microwavenews.com).

Рост потенциальной опасности ЭМП сотовой связи требует разработки четких критериев оценки их биологического действия. Трудности в решении этой задачи вызваны качественным и количественным разнообразием ответных реакций организма на воздействие ЭМП, которые зависят не только от их физических параметров, но и от состояния здоровья, возрастных, половых и

наследственных особенностей индивидуума (Додина Л.Г., Поддубный Д.А., Сомов А.Ю., 2004).

В период 1997–1999 гг. Центром электромагнитной безопасности была обследована электромагнитная обстановка территорий, непосредственно прилегающих к 86 *базовым станциям* (БС) различных стандартов сотовой связи московского региона. В районах размещения каждой БС выбиралось от 14 до 30 точек измерения, в основном в местах свободного доступа населения. Исследования показали, что ни в одной из точек измерения зафиксированные уровни ЭМП не превышали предельно допустимого значения, приведенного в российских нормативных документах (10 мкВт/см^2), причем в 91 % случаев зафиксированный уровень поверхностной плотности потока энергии не превышал $0,17 \text{ мкВт/см}^2$. Максимальное зафиксированное значение – $0,93 \text{ мкВт/см}^2$. Таким образом, имеющиеся данные и существующая система санитарно-гигиенического контроля при введении в эксплуатацию базовых станций сотовой связи позволяют отнести базовые станции сотовой связи к экологически и санитарно-гигиенически безопасным системам связи.

Резко увеличивается, особенно в крупных городах и мегаполисах, в последние годы число БС, ощущается недостаточная контролируемость радиоэкологических норм в РФ. Определенная ситуация складывается с пользователями связи (WWW.microwavenews.com).

Мобильные радиотелефонные аппараты (МРТ) представляют собой малогабаритные приемопередатчики. В зависимости от стандарта телефона передача ведется в диапазоне частот 453–1785 МГц. Мощность излучения МРТ является величиной переменной, в значительной степени, зависящей от состояния канала связи «мобильный радиотелефон – базовая станция», то есть чем выше уровень сигнала БС в месте приема, тем меньше мощность излучения МРТ. Максимальная мощность находится в границах $0,125\text{--}1 \text{ Вт}$, однако в реальной обстановке она обычно не превышает $0,05\text{--}0,2 \text{ Вт}$. В момент активного использования МРТ голова человека находится на расстоянии 2–5 см от передающей антенны телефона, то есть в «ближней» зоне ЭМИ. В этой зоне электромагнитная волна еще не сформирована, что представляет сложности для оценки экспозиционной дозы. С

точки зрения классической электродинамики значение нормируемого параметра сотовых телефонов должно определяться через значения напряженности электрического и магнитного полей, измеряемых в «ближней» зоне.

Еще большие сложности представляет оценка дозы поглощенной энергии. В биологических тканях поглощаемая энергия ЭМП распределяется неравномерно, что создаст возможность появления отдельных «горячих» участков, температура которых будет значительно выше температуры окружающих тканей. В полной мере это относится и к излучению сотовых телефонов. Характер распределения ЭМП сотового телефона в пространстве значительно меняется в присутствии абонента (при разговоре человека по телефону). Голова человека при этом поглощает от 10,8 до 98 % излучаемой энергии. Разрабатываются методики расчетного определения удельной поглощенной мощности (SAR), используются методики математического и физического моделирования.

Как показали многочисленные исследования, к ЭМИ наиболее чувствительны так называемые критические системы организма: нервная, эндокринная, иммунная, половая (Бобраков С.Н., Карташев А.Г., 2001; Григорьев Ю.Г., 2001; Додина Л.Г., Поддубный Д.А., Сомов А.Ю., 2004). Учитывая специфику воздействия ЭМП сотовых телефонов (локальное действие на головной мозг и связанные с ним структуры), следует предполагать наличие изменений, в первую очередь, со стороны нервной и эндокринной систем.

Проведенные исследования показали, что головной мозг человека реагирует на воздействие ЭМП малой интенсивности. При использовании сотового телефона действие ЭМП реализуется несколькими путями: 1) прямое воздействие на центральные структуры мозга; 2) прямое воздействие на периферические рецепторы вестибулярного, слухового и зрительного анализаторов; 3) рефлексогенное влияние на головной мозг через кожные рецепторы лица и уха. Одним из серьезных аспектов данной проблемы является оценка влияния ЭМП сотовых телефонов на биоэлектрическую активность головного мозга.

Учитывая «лэмбовский» характер частот сотовой связи и общую специфику воздействия на организм низкочастотных

ЭМИ высоких частот, а также пользуясь данными, можно аргументированно утверждать: излучение МРТ является массовым фактором нарушения норм радиозкологии с вероятной провокацией внутренних болезней. Наиболее вредным является излучение диапазона 1000 ± 200 МГц; несколько менее вредно использование стандарта GSM-1800 (МГц). Как показано Ю.Г. Григорьевым (2001), на этой частоте уже не регистрируются изменения биоэлектрической активности головного мозга. Однако с ростом частоты мобильной связи, по законам радиофизики и электродинамики, увеличивается и число БС, что увеличивает суммарную интенсивность воздействующего (уже на все население!) ЭМИ.

И еще один фактор, объясняемый «молодостью» сотовой связи (Додина Л.Г., Поддубный Д.А., Сомов А.Ю., 2001). При изучении возможной связи опухолей нервной системы и использования МРТ следует учитывать и тот факт, что для развития и манифестации большинства мозговых опухолей необходимо не менее 20 лет. Примерно столько же лет существует сотовая связь и ее старейшие аналоговые стандарты; цифровые стандарты появились намного позднее. Поэтому, проблема развития опухолевых процессов у пользователей сотовых телефонов далека от решения и требует долгосрочных исследований.

Риск развития нейродегенеративных заболеваний (болезни Альцгеймера, Паркинсона, рассеянного склероза, бокового амиотрофического склероза) при использовании мобильных радиотелефонов также в настоящее время практически не изучен и требует дальнейших исследований.

Сказанное выше в полной мере можно отнести и к риску возникновения многих заболеваний внутренних органов, прежде всего кровеносной, пищеварительной, иммунной и дыхательной систем (Григорьев Ю.Г., 2001).

Таким образом, проблема неблагоприятного воздействия ЭМП сотового телефона на организм человека является в настоящее время актуальной. Практического исследования требует исследование возможного влияния ЭМП сотового телефона на такие «критические» системы человеческого организма, как иммунная и половая, возможность развития новообразований нервной системы, нейродегенеративных заболеваний. Результа-

ты проведенных исследований по оценке воздействия ЭМП на нервную, эндокринную, сердечно-сосудистую и другие системы человеческого организма свидетельствуют об этом. Это обуславливает чрезвычайную актуальность работ, проводимых по данной проблеме, необходимость проведения долгосрочных многоцентровых популяционных исследований. Чрезвычайно важным представляется и международное сотрудничество по проблеме электромагнитной безопасности человека, что обусловлено, в значительной степени, необходимостью гармонизации гигиенических стандартов и выработкой новых, единых, научно обоснованных нормативов.

Повреждающее воздействие излучений видеотерминалов ПК уже с самого начала появления электронно-лучевых трубок и начала широкого их применения, начиная с середины XX века – обсуждается в научной печати (Алешенков М.С., Родионов Б.Н., 1998; Анисимов В.Н., Забежинский М.А., Муратов Е.И. и соавт., 1998; и пр.), а более всего в масс-медиа. Несмотря на постоянное усовершенствование видеотерминалов ПК, полное экранирование их (проходящего, то есть воздействующего на оператора) вряд ли технически возможно.

Известно, что при работе с ПК пользователь подвергается воздействию комплекса разнообразных ЭМП, включая видимый и ультрафиолетовый свет, радиодиапазон, низкочастотные поля (50 Гц) и их гармоники. Проведенные исследования показали, что ЭМП различной частоты и интенсивности вызывают разнообразные биологические эффекты, включая активацию ряда онкогенов, угнетение иммунной системы, различные неврологические симптомы, нарушения функции гипоталамо-гипофизарной и репродуктивной систем и, наконец, увеличивают риск возникновения новообразований. В отношении мониторов ПК было установлено, что наряду с увеличением частоты недонашиваемости беременности у женщин-операторов ПК и рождения у них детей с различной патологией, включая уродства, у пользователей увеличивается риск возникновения опухолей мозга. Однако убедительные подтверждения этих наблюдений в литературе отсутствуют. Одним из ключевых факторов в механизме биологического эффекта ЭМП, как полагают, может быть, снижение под их влиянием уровня гормона эпифиза *мелатонина*,

который является мощным эндогенным ингибитором свободных радикалов в организме.

В частности, как показано в (Анисимов В.Н., Муратов Е.И. Забежинский М.А. и соавт., 1998), хроническое облучение мониторов ПК вызывает ускорение полового созревания и преждевременное выключение репродуктивной функции у самок мышей, снижает ночной уровень *мелатонина* в сыворотке крови и содержание в ней диеновых конъюгатов и шиффовых оснований, не влияет на интенсивность ее хемилюминесценции у самцов крыс. Полученные данные свидетельствуют о выраженном биологическом эффекте облучения мониторов ПК и возможном его неблагоприятном действии на здоровье пользователей. Также были исследованы иные факторы неблагоприятного воздействия на организм человека излучений мониторов ПК.

ГЛАВА II

КЛИНИКО–ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ ПРИ СЛАБЫХ ИНФОРМАЦИОННЫХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ

1. Человек, среда, кровь.

Новые проблемы и способы их оценки.

Новые промышленные факторы (НПФ), которые ранее не существовали, а возникли в результате деятельности человеческого сообщества, даже при слабых интенсивностях создают новую нагрузку и все чаще наносят урон человеку, изменяют функционирование его систем, включая систему крови, а также генофонд (Муромцев В.А., 1998).

В настоящее время практически невозможно устранить вредные последствия влияния многочисленных слабых физических и химических факторов промышленного производства, и лишь частично можно минимизировать реальные опасности, сводя их до приемлемого уровня. Минимизация опасных влияний различных излучений, химикатов хотя и вполне реальная, но далеко не легкая задача, особенно в отношении системы крови и препаратов крови, заготавливаемых на хранение (Козинец Г.И., 1997).

Перед медициной возник ряд новых проблем. Повысилась чувствительность современных людей, особенно жителей мегаполисов, к стрессорным воздействиям. Возникли задачи оценки «слабого» влияния на здоровье и кровь человека природных биопатогенных зон (геомагнитных аномалий, геотермальных «флюидных» потоков, например, ртутных, радоновых и других, связанных с пространственной неоднородностью, борьба с психоинформационной агрессией манипуляциями жизненно-важной информацией.

Важной проблемой стала оценка сохранности препаратов крови и контроля за функциональным состоянием ее клеток в различных условиях хранения. Существует опасность повреждения клеток крови при хранении с помощью генераторов электромагнитных полей. Это обуславливает необходимость разра-

ботки методов индикации воздействия на человека, его кровь различных химических, физических, биологических и комбинированных факторов, способных оказывать повреждающее действие в отношении ультраструктур клеток, вызывать отравления, а также оказывать тератогенное, онкогенное, иммунодепрессивное или иммуностимулирующее действие. В некоторых районах важна оценка причин аллелопатии (депопуляции населения), выяснение роли слабых по интенсивности, но длительных воздействий на кровь различных экологически значимых факторов среды.

В настоящее время к неблагоприятным «слабым» воздействиям, существенно влияющим на состояние здоровья и систему крови человека можно отнести следующие:

– *климатические*: большая изменчивость метеорологических элементов из года в год и в течение суток. В Прибалтике атмосферное давление за сутки меняется на 5–25 мб. Избыточная (86–92 %) увлажненность длится месяцами, число сухих дней с влажностью 30 % около 10 в год. Число пасмурных дней – доходит до 200 в год, а ясных – до 25. Перепады весового содержания кислорода особенно в зимние и переходные месяцы могут доходить в течение суток до 30 г/м³ и более.

Около двух месяцев в год регистрируются туманы, все это вызывает существенное напряжение адаптационных механизмов различных систем, включая систему крови.

– *экотехногенные причины*: сотни источников газовых эмиссий в крупных городах ежегодно выбрасывают в атмосферу сотни тысяч тонн загрязняющих веществ. В приграничных районах около 30 % загрязняющих атмосферу примесей приносится с ветрами из соседних стран. В атмосферном воздухе, ведущими, превышающими ПДК в 6–10 раз примесями во многих районах являются диоксид серы, оксид углерода, оксиды азота, фенолы, формальдегид твердые частицы, – пыль. Считается, что концентрация диоксида углерода в атмосфере прибывает на 0,3 % в год, что сопровождается развитием «парникового эффекта». Расширяется спектр загрязняющих воздух веществ: аммоний, оксид азота, угарный газ, уксусная кислота, сероводород, серная кислота, скипидар, метанол, этанол, толуол, формальдегид,

этилацетат, оксид свинца, керосин, ксилол, уайт-спирт, фурфурол, метилмеркаптан, диметилдисульфид, бумажная пыль и др.

– *социальные факторы*: в некоторых регионах России курят до 50 % лиц обоих полов. При этом наблюдается снижение реальных доходов населения. Отрицательным знаком времени стало снижение в 1,5 и более раз потребления продуктов питания на душу населения по мясу, молоку, овощам и фруктам. Психотравмирующими становятся безработица, отсутствие личной безопасности, снижение уровня и качества жизни. В перестроечные годы в стране заметно повысилось количество самоубийств. Коэффициент смертности населения в России – самый высокий среди развитых стран (достигает 16–16,3 в расчете на 1000 человек). Пятая–шестая часть от всей популяции людей имеют признаки предболезни органов дыхания и признаки анемии. Усиливается вирусно–микробное носительство и повышение патогенности условно–патогенной флоры за счет ослабления клеточного иммунитета.

– *фармакомания*: наблюдается поголовный рост потребления фармпрепаратов. Самоназначением и самолечением без консультаций с врачами занимаются около 50 % населения, несмотря на то, что в России значительная часть лекарств фальсифицируется. Пищевая индустрия «снабжает» людей *ксенобиотиками* (пищевые красители, консерванты, кофеин, ванилин, амины, пестициды и полициклические гидрокарбонаты и др.), которые влияют на систему крови, могут взаимодействовать с лекарствами в процессе всасывания, распределения, метаболизма и экскреции и дополнительно изменять свои свойства при воздействии на организм электромагнитных волн.

– *волновые и другие техногенные факторы*: повышение электромагнитной облученности, пылегазовое загрязнение атмосферы. В некоторых районах повышен уровень радиации. Имеются территории, где гамма–фон превышает норму (7–10 микрорентген/час) в 1,5–3 раза. В отдельные сезоны из–за истончения озонового слоя увеличивается поток *ультрафиолетового излучения* (УФИ) – В диапазона (280–320 нм).

Новой проблемой стало влияние на биообъекты и систему крови человека *низкочастотного электромагнитного излучения*

(НЧ ЭМИ) с частотами до 1000 Гц. Это обусловлено рядом причин:

- в масштабах крупных регионов и целых стран наступила эпоха электрификации, произошло расширение сетей мощных ЛЭП *сверхвысокого напряжения* (СВН) – более 1 млн. Вольт;
- увеличилась частота воздействий на человека *сверхнизких частот* (СНЧ) – излучений искровых разрядов;
- возросло время воздействия СНЧ–излучений телекоммуникаций, в том числе подземных линий;
- произошла накладка промышленных излучений на естественный килогерцовый волновод ионосферы Земли и на диапазон низких частот (0,01–0,1 Гц) «солнечного ветра»;
- на крупных предприятиях, особенно в т.н. «безоконных и бесфонарных» зданиях, на подземных объектах имеет место экранировка человека от естественных ЭМ–фона земли;
- изменения электромагнитной «нагрузки на человека», например по типу феномена «уикенда», при отключении промышленных энергоемких комплексов по воскресениям и субботам, ставит функционирование обеспечивающих систем организма в иные условия, чем на протяжении рабочей недели;
- увеличилось электромагнитное загрязнение жилых помещений излучениями электробытовых приборов.

До 60–70 гг. XX века ЭМП промышленных частот 50–60 Гц считались безопасными. В настоящее время ученые озабочены возможными неблагоприятными последствиями облучения слабыми интенсивностями в этом диапазоне ЭМИ, поскольку обнаружены эффекты сенсорной индикации меняющихся с разными скоростями МП. *Переменные магнитные поля* (ПемП) с частотами до 1000 Гц могут вызывать чувство закладывания в носу, покалывания, жжения, обнаружены изменения миграции рыб, имеющих электрорецепторы под влиянием СНЧ–облучения (от 0,1 до 1 мкВ/см и выше), установлено, что гранулы магнетита в некоторых анатомических образованиях у птиц, рыб и людей позволяют организму чувствовать влияние слабых ЭМП, соизмеримых с естественными (единицы В/м).

Экспериментальные наблюдения позволили Эйдельману выдвинуть гипотезу «якорной модуляции», согласно которой, ЭМП могут вызывать перегруппирование на поверхности лим-

фоцитов в двойном липидном слое молекул бета-макроглобулина в результате присоединения антител к внешним концам гликопротеида, наподобие «внешних заплаток». Таким образом, изменяется функционирование зоны большой мембраны клеток, ответственной за хранение информации, рецепцию гормональных и передаточных веществ, ионов кальция. По данным Эйди, даже слабый электрический градиент во внеклеточной среде может увеличивать выброс из клеток кальция и ГАМК.

В.М. Аристархов в 1987 г. показал, что на уровне мембран СНЧ ЭМИ способны модифицировать функции различных ионных каналов, кинетику перекисного окисления липидов (даже при индукции порядка 20–40 мТ). По мнению С.Ф. Тиманиф (1987) индуцируемые переменной составляющей магнитного поля во внутренних средах организма ионные токи с плотностью около $10\text{--}8\text{ А/см}^2$ способны изменять концентрацию и активность «свободной» воды – водных молекул вблизи устьев ионных каналов. Некоторые резонансные частоты НЧЭМИ могут повышать проводимость ионных каналов мембран до максимальных значений. ПеМП с частотой 0,5 Гц ($\tau_{\text{имп}} = 1\text{ с}$, напряженность поля 36 А/м) могут на 30–40 % изменять скорость размножения бактерий за счет влияния на тонкие процессы регулирующие функции генома.

В работах Л.А. Пирузяна было отмечено, что постоянное МП может оказывать эффекты близкие к ПеМП, поскольку вследствие теплового движения субклеточных частиц (макромолекул в суспензии клеточного содержимого в клетках) действующее на них МП является переменным в системе координат этих частиц.

Комплекс слабых факторов среды при их длительном воздействии оказывает отрицательное влияние на состояние здоровья. Так у населения мегаполисов наблюдается комплекс симптомов, укладывающийся в картину энергетической недостаточности – *гипоэргоза*. Вероятные причины этого – в недостатке активности окислительных процессов в клетках крови и других тканей, в ослаблении активности ферментов, отвечающих за тонкие реакции обмена веществ. В организме внешне здоровых людей возникает несоответствие между потребностью органов, тканей и клеток в питательных веществах и энергии, а также тем

ограниченным количеством пластических и высокоэнергетических веществ, которое может быть в данный момент использовано для поддержания высокой функциональной активности ткани или органа (Муромцев В.А. и соавт., 1998).

Работа в условиях вышеперечисленных «слабых», но длительных воздействий наряду с ограничением двигательной активности, избыточным потреблением соли, табака, алкоголя, при витаминной недостаточности, включая недостаточность витамина В₁₂, становится причиной высокой изменчивости морфофункциональных свойств клеток крови.

Ранее гармонизация природной среды обитания во многом обуславливалось полной утилизацией отходов производства за счет природных процессов. В период промышленного бума естественные процессы утилизации отходов оказались маломощными, и сейчас происходит все ускоряющееся загрязнение ими естественной среды обитания человека. В результате уменьшились возможности естественного оздоровления людей. А это стало причиной того, что в России растет число людей с малозаметными нарушениями различных систем организма. Неблагоприятные факторы внешней среды способны искажать заданные природой биологические ритмы и наносить дополнительный вред здоровью, «подталкивая» клеточные пулы организма к преждевременному старению.

Внешняя «энергоинформационная нагрузка» предъявляет повышенные требования к гемоиммунной системе человеческого организма. Ввиду огромных ее адаптационных возможностей исследователи и врачи часто «проходят мимо» начальных неблагоприятных изменений в этой системе. Кроме того, дороговизна западных и ряда отечественных технологий гематологической и иммунологической диагностики значительно сужает число медицинских учреждений с возможностями своевременного обнаружения начальных дисфункций. Новые не дорогие, доступные технологии массового обследования людей, могут расширить диагностические возможности лечебных учреждений и дать новые факты по оценке «ответа» организма человека на «слабые» или информационные воздействия.

2. Значение слабых и энергоинформационных воздействий для состояния системы крови. Рабочие станции для их оценки.

Природа содержит в себе гораздо больше множеств, которые может себе представить обычный человек и даже научный деятель. Это не только то, что мы видим, ощущаем или можем измерить современной аппаратурой. Некоторые природные факторы пока не поддаются измерениям. Об их существовании мы судим по последствиям, которые следуют для организма после их воздействия.

Иллюстрируя пример одного из слабых воздействий, В.Р. Эйди (1980) так объяснял воздействия электромагнитных излучений чрезвычайно низких частот на трансмембранные потоки ионов кальция и других клеточных катионов: «За слабыми начальными событиями могут последовать резонансные квантовые взаимодействия, передаваемые через большие расстояния по мембране. Как модель этот процесс обладает многими характеристиками туннельного эффекта, хорошо известного в полупроводниковых диодах».

Другой пример: *инфракрасное* (ИК) и лазерное излучения, миллиметровые волны оказывают разнящиеся эффекты при воздействии на весь организм, обширные зоны его поверхности, либо на очень малые участки биологически активных точек (точек акупунктуры). Так же, как и упомянутые выше длинноволновые излучения, они, вероятно, поглощаются не микроскопическими анатомическими образованиями, а «эфемерными» структурами (нестабильные водные кластеры, жидкокристаллические субструктуры). Подобными процессами можно объяснить биоэффекты сверхмалых гомеопатических доз некоторых лекарств и микроэлементов. Поскольку различные «эфемерные» структуры не являются устойчивыми во времени, постольку списанная или считанная ими информация может быстро разрушаться.

К распространенным и всем известным примерам слабых воздействий можно отнести коррекцию состояния организма с помощью витаминов, аэроионов, ароматов, озона, санацию патологических процессов при помощи пассов рук, ряд реакций

составных частей крови. Слабые воздействия, на которые «откликается» организм, как правило, высоко информационны.

Считается, что любое природное тело, его часть и даже микроскопические элементы этой части проявляются через три сущности нашего мира – материю, энергию и информацию.

Информация – это сведения, которые хранятся в различных носителях: в радиосигналах, потоках других излучений, в рельефе ключа, позволяющего открыть «свой» замок, в сложных структурах биологических молекул, что позволяет живым клеткам вырабатывать специфические белки для определенных тканей или иммуноглобулины для уничтожения вредных микроорганизмов.

Информация обладает пятью основными свойствами: ее можно собирать, хранить или запоминать, передавать, обрабатывать или преобразовывать и использовать.

У человека существует пять основных физиологических систем, пользуясь информацией которых организм адаптируется к жизни в изменяющихся условиях среды. Живые приборы, которые передают или анализируют информацию извне – сетчатая оболочка глаз (способна различать около 100 градаций яркости), около 300 000 клеток–датчиков собирают информацию о температуре тела, волосковые клетки внутреннего уха, обонятельные и осязательные клетки обладают свойством вычленения и обработки особых потоков, обрушивающейся на нас извне лавины информации. Смысл и значимость информации могут быть субъективными категориями для конкретного человека. Часть информации принимается биообъектом независимо от состояния или наличия у него нервной системы и органов–анализаторов.

Обработка информации есть ее преобразование из одного вида в другой вид по строгим правилам. Воздействия различных факторов. Среды для организма могут быть безразличными, то есть по интенсивности и информативности – ниже порога возбуждения ткани (пример – теплый постоянный ветерок для отдыхающих на пляже). Но слабые воздействия могут быть и безразличными. Так реакция сетчатки глаза на единичные фотоны света после успешного лечения атрофических процессов в сетчатке может зародить у больного надежду на выздоровление.

Как технические, так и биологические **информационные системы характеризуются информативностью** – I (информационной удельной мощностью в бит/с·см³ или бит/с·г массы; *энергетичностью* – E или удельной мощностью в Вт/см³ или потоком мощности в Вт/см², *витальностью* или жизнеспособностью системы – I / T в бит/дж. Интересно, что развитие техники идет по пути от систем с высокой *энергетичностью*, но малой *информативностью* к системам с огромной *информативностью* и минимальной энергетичностью или к чисто информационным системам. По данным В.Н. Волченко (1996) *информативность* ЭВМ пятого поколения достигает 10^{28} бит, информационная емкость всей земли за 4,5 млрд. лет – 10^{93} . Человеческий организм в целом и его мозг, обладающий свойством сознания, является природной конструкцией наиболее гармонично устроенного оператора информации, успешно работающего с ней как с существенно энтропийным процессом. По А.Г. Хазену (1992) в памяти мозга, в отличие от искусственных ЭВМ, имеется фильтр (код) формирующий функцию распределения смыслов. Организм способен читать информацию, поставляемую извне посредством химических сигналов малой информационной емкости, генерации импульсов – потенциалов действия (как свертки информации), за счет жидкокристаллических конструкций, например генов – вещества хромосом, и возможно, за счет «биоСВЧ» – сверхвысоких электромагнитных излучений, генерируемых каждой биологической системой (Гаряев П.П., Леонова Е., 1996).

Считается, что регуляция процессов биологического синтеза у человека за счет микроэнергетической и микроэлементной «подкачки» сопряжена с нестабильным состоянием микроструктур и сред организма с быстро меняющимися параметрами. В случае «хаотического душа» – потоков биологически значимой информации – отдельные организмы реагируют по-разному, вследствие вероятностного характера изменений динамических структур биологической материи. Направленная, узко ограниченная когерентная информационная биоэнергетическая «струйка», наоборот, может привести к стабилизации и формированию микроструктур и сред конкретного организма. «Капля раскалывает камень» – говорили древние.

Если учесть, что при таком воздействии на биообъект не используются полученные по специальным технологиям фарм-препараты, антибиотики, гормоны и другие биологически активные вещества, то становится очевидным, что организм человека, его клеточные и элементы и биологические жидкости способны вычленивать из «хаотического душа» неспецифических сигналов нужную компоненту, которая запускает такую же цепь восстановительных и саногенетических реакций, как и специфическое, несущее химическую информацию вещество (лекарственный препарат, фермент и т.п.). Вместе с тем, слабые воздействия, в определенных условиях, способны вызвать и негативные реакции патогенной направленности, вплоть до состояния дистресса.

Кстати, искусственно созданные лекарственные вещества в процессе создания всегда проходят информационную обработку. Из сырья довольно грубыми и высокоэнергетичными методами «сдираются» целые слои неведомой изготовителю информации, а затем менее грубыми, более технологичными процессами материалу придаются новые узко направленные информационные качества. Любое лекарство несет в себе целые слои или оболочки нечитаемой изготовителем информации. Такая информация может оказаться прочитанной в организме лечащегося человека его клетками. Их ответные реакции в этом случае не поддаются прогнозу. По-видимому, подобными нарушениями внутренней информационной экологии во многом определяется индивидуальная переносимость фармакологических средств и вероятность развития осложнений при их лечебном применении.

В любом объекте природы, вплоть до клеток крови, других тканей – обычным носителем информации выступает энергия. Информация неотъемлемо сопровождает появление и проявление любой энергии. Современной науке известно не слишком многое о взаимосвязях материи, энергии и информации. Однако накапливаются данные о том, что между любыми объектами природы, и, конечно, между элементами крови существуют широкие возможности обмена информацией, ее передачи и освоения.

По данным Ю.А. Фомина (1994) геном половой клетки может содержать до 10^{10} бит информации, а для развития человека надо 10^{25} бит. Нам думается, что недостающие 10^{15} бит, это та

информация, которую мы еще не умеем читать. Частично, это информация, содержащаяся в голограммах биообъектов, связанная с формообразованием. Это своеобразный источник, из которого иногда нам удастся зачерпнуть лишь некоторую порцию информации. Вероятно, что все биофизические, физиологические, химические материальные процессы в организме проходят и развиваются в своеобразных «энергоинформационных ретортах» или в «ваннах», окружающих биообъект своими «слоями» или неосязаемыми оболочками по типу матрешки.

По мнению С.И. Репьева и В.И. Барулина (1998) эти окружающие организм или клетку «биологические поля» во многом обеспечивают функционирование материальных ультрамикроструктур – генов клетки. Это, по сути, программная функция *энергоинформационного голографического комплекса* (ЭИГК) биоструктуры. Считается, что этот комплекс обусловлен различными характеристиками физических параметров, определяющих Землю, как объект природы.

Почему же влияние этих «слабых» воздействий следует своевременно обнаруживать и контролировать их биоэффекты?

Ответ на этот вопрос можно найти в следующих примерах.

«Обычные» в масштабах организма информационно–энергетические процессы – микроциркуляция, изменение размеров и конфигурации различных элементов, клеточное дыхание, антигенная дифференцировка и т.п. – оказываются самыми первыми «ступеньками» адаптационного, патологически либо санологически направленного ответа на новый, особенно слабый раздражитель (Хадарцев А.А. и соавт., 2005).

В современных «техногенных» условиях жизни возникла новая для врачей проблема *неадекватно–сильного патологического реагирования организма человека на, казалось бы, слабые или сверхмалые раздражители*. Например, пульмонологи обратили внимание на тот факт, что в этиологии основных хронических заболеваний легких все большее значение начинают приобретать наряду с генетическими дефектами самые безобидные, обычные малоэнергоёмкие факторы. Так, у части практически здоровых людей (Федосеев Г.Б., 1997) нередко, без видимых причин, активируются альвеолярные макрофаги, которые начи-

нают выделять простагландины F₂, альфа-медиаторы воспаления и мощные стимуляторы протеиназ – сериновой протеиназы и коллагеназы. Включение этих процессов в организме производится «*незначительными факторами*» – привычной пылью, лекарствами, запахами цветов, компонентами пищи, колебаниями метеофакторов. Следствием этого является развитие воспаления в бронхолегочной системе, нарушение очистительной функции мерцательного эпителия на длительное время.

Всем известные, многочисленные тупики в решении медицинских проблем современного человечества свидетельствуют о существовании «обратной стороны медали» деятельности человека и развития официальной медицины. Кризис современной лечебной доктрины, в ряде случаев, заставляет людей решать проблемы здоровья и качества жизни с помощью малоисследованных методов нетрадиционных и народных методов, которые, тем не менее, дают положительные эмпирические эффекты. Таким образом, возникает как бы «ребро» между двумя сторонами медали «научно-медицинские проблемы»: сверхмалые (сенситивизирующие), «курковые» воздействия и сверхсильные био-эффекты. Для их объяснения необходим поиск способов прогнозирования и оценки их физиологической или патофизиологической направленности, применимости для стимуляции естественных саногенетических процессов. К слабым воздействиям на организм можно отнести малоинтенсивные влияния всех известных внешних факторов, к которым организм обычно хорошо адаптирован, либо приспосабливается при первых контактах без дизадаптационных расстройств и без инициации цепи ответных реакций, ведущих к возникновению заболеваний. С этих позиций нельзя считать слабым воздействием получение малых инфицирующих доз какого-либо вируса, размножение которого в организме через некоторое время приведет к развитию заболевания. Очевидно, что такое воздействие побуждает в организме неблагоприятные дезинформационные расстройства, в результате которых клетки организма «представляют» вирионам возможность использовать собственную питательную среду для размножения вирусов. В необычных условиях существования слабые воздействия обычно дозозависимы и могут приобретать двойственное значение для организма, либо для его состав-

ных частей. Даже сверхслабые стимулы в подобных условиях способны вызывать в организме формирование памяти на субклеточных, клеточных, тканевых и органных уровнях.

В природе существуют источники различных видов информации: электрической, молекулярно–химической, биологической, полевой. Новыми искусственными источниками информационного воздействия становятся энергоинформационные преобразователи, которые способны получать, запоминать и длительно сохранять информацию другим материальным природным объектам (Муромцев В.А., Кидалов В.Н., 1998).

Живые системы, и кровь в их числе, воспринимающие информацию, с помощью специальных паттернов извлекают ее из окружающей среды, распределяют и сохраняют в своих структурах в специальных субклеточных или в жидкостно–молекулярных образованиях, поскольку информационно значимыми могут быть сигналы с очень низкой энергией. О реакции информационного характера на стимул говорят тогда, когда система (живой организм) реагирует на него с затратой или выходом значительно большей энергии, чем привнес этот стимул.

Перенос и анализ информации может осуществляться в организме различными путями и структурами, часть из которых отражена в табл. 1.

Таблица 1

**Некоторые источники и анализаторы информации
в организме**

Уровни	Характеристики источников и анализаторов информации
1	Элементарные (электрические заряды, кластеры воды, химические связи, молекулы)
2	Среды, клетки и ткани организма и их голограммы («полевая» или волновая информация)
3	Физиологические тканевые (компоненты биологических жидкостей, функциональные системы клеток, клеточные ассоциаты и многоклеточные структуры, функциональные модули тканей)
4	Органы–анализаторы (зрения, слуха, вкуса, обоняния, осязания)
5	Комплексные (используют информацию и структурные образования 1 – 4 уровней)

Кровь, как и вообще любая живая система, обладает кардинальным свойством извлечения, запоминания и использования в процессах самоорганизации полезной информации от объектов, с которыми она контактирует. Для формирования памяти, как об адекватных, так и о сверхсильных и слабых воздействиях различных факторов среды она использует разноуровневые паттерны.

Под *паттерном* (от лат. *patronus* – модель, образец для подражания, шаблон, стиль, узор, выкройка) понимают систематически повторяющийся устойчивый элемент поведения системы, ее части или ее модуля. Существование паттернов обусловлено тем, что любое изменение неживой или живой системы оставляет след, являющийся памятью об этом изменении. Память физиологической системы запечатлевает и накапливает следы поступающей информации, позволяя молекулам и клеткам этой системы самоорганизоваться в виде особых форм паттернов высшего или низшего уровней организации живого.

Считается, что Природа может использовать паттерны вместо сложных анализаторов смыслообразования. Одним из свойств паттернов является свойство использовать коды, причем любая часть паттерна сама является кодом, способная немедленно запускать весь паттерн. При этом в живых системах природа использует оптимальную кодировку посредством знаков, которая не требует передачи огромного массива информации.

Упомянутый принцип позволяет живой системе мгновенно распознать ситуацию, своевременно реагировать на нее, приспосабливаясь к агрессивным изменениям среды. Организованные паттерны стремятся инкапсулироваться, то есть целиком завладеть информацией имевшей ранее отношение к другим паттернам. Это свойство, вероятно, наиболее легко реализуется при осуществлении паттерном поиска энергетической и функциональной оптимальности системы на основе *золотой пропорции* (Игнатьев В.В. и соавт., 1996). Важным свойством паттернов является их хронологичность – т.е. построение паттерна и самоорганизация системы по мере поступления информации и в порядке ее поступления. При построении паттерна информация самоорганизуется, находит в нем свое особое место. Ее встраивание («прилипание») происходит по принципу сходства. Паттерны ди-

намично изменяются, растут, объединяются с другими паттернами или поглощают их. Перечисленные свойства паттернов используются самоорганизующимися природным системами для оценки процесса самоорганизации, то есть для своеобразной естественной метрологии. Посредством паттернов осуществляется оценка реального состояния самой системы в каждый настоящий момент, проводится поиск степени ее оптимальности.

Широко распространенные в природе паттерны *золотого сечения* в организме оперируют числами Фибоначчи (Воробьев Н.Н., 1964), обеспечивая гармоничное функционирование всех ключевых систем жизнеобеспечения человека, в том числе лимфу и кровь. Температура тела, находящаяся в точке *золотого сечения* между 0 и 100° С позволяет создать в клетках крови, в частности, в эритроците, условия теплового комфорта с расходом минимума энергии на поддержание теплового баланса. При этом в клетке создаются наиболее благоприятные условия для протекания биологических процессов (Суббота А.Г., 2004).

В сосудистой системе и системе крови А.М. Жирковым и В.Д. Цветковым выявлены пропорции *золотого сечения* во временных промежутках систолы, диастолы и полного сердечного цикла, в геометрии кровеносной сосудистой системы, особенно в бифуркациях «сердечных тройников».

При оценке соотношения клеток кровяных ростков в методике исследования *гемоиммунной реакции клеточного типа* (ГИРКТ) здоровых и больных людей по *морфологическому показателю реактивности* (МПР) нами обнаружено следующее: отрицательная ГИРКТ (МПР в сумме 5–8 баллов) соответствует оптимальному уровню резистентности организма, граничной является ГИРКТ с МПР 9–13 баллов, а отрицательной (явно патологической) 14–21 балл и более.

Получаемую информацию живая система использует для поиска оптимума ее взаимоотношений или сосуществования с изменяющейся окружающей средой. В этом процессе также широко используются числа ряда Фибоначчи. То, что природа осуществляет собственный «метрологический» поиск, видно из хорошо известных примеров о приближении и удалении физиологических структур и функций к *золотой пропорции*. Подобные наблюдения свидетельствуют о том, что паттерны *золотого*

сечения определяют не стационарное состояние системы, а границы пульсаций любого живого процесса, при чем их регистрация может зафиксировать конкретную исследуемую точку не в точном локусе *золотого сечения*, а в восходящем и нисходящем колене конкретного цикла (процесса).

Таким образом, паттерны *золотого сечения* в узком временном интервале можно рассматривать как срез ситуации в настоящий момент, при чем она не обязана полностью отвечать в этот момент точному стандарту *золотой пропорции*, иначе мир был бы «однообразен и скучен, как геометрический чертеж». С другой стороны паттерн *золотых пропорций* существенно ограничивает разброс возможных комбинаций составных элементов или процессов в живой системе. Иначе слишком часто возникали бы комбинации угрожающие самому существованию паттерна и всей системы в целом.

Из работ Н.Н. Воробьева, В. В. Игнатьева, А.Г. Субботы и наших собственных наблюдений за функциями организма и системы крови вытекает, что паттерны являются естественным «инструментом» организма и его систем для осуществления поиска функционального и энергетического оптимума.

Основные принципы упомянутого поиска следующие:

1. Любая природная система пытается минимизировать свои затраты энергии, направленные на обеспечение своих функций, своего строения либо своих пропорций.

Нетрудно заметить, что все объекты живой природы – молекулы, субклеточные образования, клетки, органы, системы органов, многоклеточные организмы и их популяции – являются также дискретными объектами, представляющими собой с математических позиций счетные множества. В этом их единство с объектами неживой природы. Однако все неживые дискретные системы следует считать сформировавшимися (устойчивыми и находящимися в минимуме своей энергии).

2. В формировании живых систем (состоящих из дискретных элементов – молекулярных комплексов, клеток, органов, систем, даже групп и популяций людей) природа использует технологии фракталов и паттернов золотого сечения.

В живых системах наращивание структурных единиц осуществляется с использованием фибоначчиевых чисел на уровне

молекулярных комплексов. Но как только закончится построение клеточной функциональной системы, то организовываться начинает тканевая, органная, а затем и полиорганная функциональная система.

3. При организации системы количественные соотношения ее элементов постоянно уточняются.

В этом процессе те мерки (количественные соотношения), которые применялись при формировании системы на молекулярном уровне, уточняются при переходе на клеточный, тканевой, органный или системный уровень, хотя молекулярный уровень остается фундаментальным камнем для последующих уровней организации. Сформировавшись, биологическая система приближается к истинному минимуму затрат энергии, но не достигает абсолютного истинного минимума (не находит его). В этом суть и проблема живого. Если неживую систему можно считать находящейся в «истинном энергетическом минимуме», по определению, то живая система лишь в какой-то мере приближается к нему, находит нечто близкое, но, поскольку любая живая система не оптимальна, постольку после некоторого приближения к минимуму она переходит на новый уровень организации, на новый поиск экстремума.

Таким образом, принципиальным различием между неживыми и живыми системами является то, что неживые системы принципиально оптимальны, а природная живая система всегда стремится к оптимуму своего развития, но никогда не достигает экстремума (т.е. неоптимальна). Живая система (не зависимо от уровня ее организации), приближается к экстремуму (к оптимуму своего функционального и энергетического состояния) в экспоненциальном развитии, в бесконечном стремлении, в вечном и полностью недостижимом процессе.

4. Живые и неживые системы работают и формируются в дискретных множествах. В неживых системах не имеет существенного значения параметр времени («системы забыли о времени»).

Они достигли оптимума и находятся в нем «бесконечно долго». Живые системы, выделившись из неживой природы, принципиально существуют во времени и в определенный для

них временной интервал постоянно находятся в поиске своих минимумов энергии.

Живые системы работают за счет энергии Солнца, которая никуда не исчезает, а лишь перерабатывается, трансформируется, «переливается», переходя из одной формы и системы в другую (Самойлов В.О., 1984).

Объекты живой природы – нестационарны, т.е. имеют начало и конец и за время существования не могут полностью достичь оптимума, но вынуждены искать экстремум (максимум или минимум) некоторого функционала в дискретном множестве.

5. Квазистационарные системы или процессы живой природы, в отличие от стационарных процессов неживого мира, «разыскивают» минимум затрат свободной энергии применительно к своему настоящему эволюционному этапу.

Поиск этого минимума живыми объектами (так же, как и не живыми) определяется вторым началом термодинамики, но он протекает в системах, являющихся нестационарными, динамично развивающимися во времени и адаптирующимися к конкретным условиям своей «жизни». Поиск экстремума проводится путем подбора – комбинирования дискретных элементов, составляющих соответствующие множества.

Рассматриваемые неживые и живые системы либо достигают энергетического оптимума (экстремума), либо разыскивают его в дискретном множестве. Очевидно, что, хотя бы одно из состояний искомым этими системами должно иметь энергетический минимум.

6. Поиск оптимума в дискретном множестве может производиться с помощью некоторого алгоритма (плана).

Из теоремы Н.Н. Воробьева в отношении трансцендентных функций вытекает, что если система ищет некоторый экстремум затрат свободной энергии, она не может непрерывно вычислять, а вынуждена проводить вычисления пошагово, когда экстремум легко находится с помощью производных.

Эмпирически установлено, что многие процессы в Природе связанные с развитием и ростом, при нахождения оптимальных направлений роста связаны с численными характеристиками ряда чисел Фибоначчи, а их соотношения оказываются близкими к числу Фидия.

7. Природа, живой организм используют для поиска экстремумов Φ -ичную систему счисления, но не обязательно только арифметическую, возможно логарифмическую и другие зависимости от чисел золотого сечения.

Еще одним объяснением вопроса «Почему Природой используется обсуждаемая система счисления?» является то обстоятельство, что все неоптимальные (неэкономичные, неэнергетичные) варианты она отбраковывает.

Из вышесказанного вытекает, что если какая-либо биофизическая или физиологическая величина системы (включая биологическую) представляет собой последовательный набор монотонных функций от чисел Фибоначчи, либо сами эти числа, то существует, по крайней мере, один экстремум, а сама живая система, которой принадлежит эта величина, является гармоничной (или оптимальной).

Система крови и ее субсистемы, включая эритроциты, активно участвуют в приспособительных реакциях организма к изменениям среды в гармонизации его состояния, а, следовательно, осуществляют поиск экстремума.

В основе ведущих гармонизирующих функций периферической крови, реализуемых через кровообращение, работу нервной, дыхательной, пищеварительной и других систем, лежит феномен переноса масс.

Под этим феноменом понимают необходимые с физиологических позиций, с позиций изменения обменных, защитных и информационных функций, перемещения количества движения, зарядов, молекул и клеток. Вся сумма процессов переноса в пределах такой живой системы, как кровь обеспечивает непрерывное поступление в организм энергии из внешней среды и выделение избытка энергии во внешнюю среду.

Совместное функционирование системы кровообращения и системы крови гармонизирует во времени и пространстве основные функции всех составных частей организма. Это, по мнению Е.Н. Мешалкина, Ю.А. Власова и др. (1984) обеспечивает хорошую стабилизацию в необходимых пределах основных характеристик желудочно-кишечного тракта, в том числе, и в отношении организмов симбионтов, обеспечивать эффективное энергопотребление при помощи процессов пищеварения при

взаимодействии с микрофлорой. При анализе работ многочисленных современных авторов выявляется, что числа Фибоначчи в биологических системах встречаются чаще, чем следует из теории вероятностей. Объяснить факты необычайной частоты нахождения в структурах и функциях крови *золотой пропорции* можно следующим:

В ряду чисел Фибоначчи соседние числа при стремлении номера чисел к бесконечности становятся элементами деления целого интервала, отрезка, структуры и т.п. *в среднем и крайнем отношении*, равным *Phi*. Следовательно, чем большим временем для проведения поиска минимума затрат свободной энергии располагает живая адаптивная система, тем ближе она находится к золотым числам 0,618 и 0,382. Отсюда всю систему крови, в том числе и эритроциты, можно считать оптимальными, если измеряемые их параметры подчиняются фибоначчиеву типу поиска экстремума.

Такому типу поиска подчиняется распределение в крови эритроцитов разной конфигурации. Динамику этого поиска можно фиксировать по *компонентам количественной эритрограммы*. Обычная методика количественной эритрограммы предусматривает фиксацию формы клеток в условиях оптимальных для эритроцитов Ph и осмолярности и распределение эритроцитов по конфигурации на несколько групп:

1 – *дискоидные клетки* – Д (дискоциты и планоциты); 2 – *стоматоциты и гребневидные клетки* (Ст); 3 – *эхиноциты* (Эх); 4 – *пойкилоциты* – клетки самой разнообразной конфигурации, включая шизоциты – «клеточные осколки» (П); 5 – *гемолизирующиеся формы* (ГФ) – сфероциты и клеточные тени.

В гиперосмотической количественной эритрограмме вводится дополнительная осмотическая нагрузка на клетки, которая достигается заменой осмолярного буфера каодилятным буфером осмолярностью 380 мосм/кг. При этом, во время фиксации, часть менее устойчивых дискоцитов превращается в С, а дополнительная внешняя нагрузка полученная организмом до начала исследований (в виде травмы, ожога, воздействия вызывает сдвиги оставшегося «трансформационного потенциала», большей частью в сторону, необратимой трансформации клеток, либо усиливает превращение Д в *стоматоциты*–III или *эхиноциты*–III и –IV.

Современные технологии оценки изменений крови основываются на знаниях и достижениях современных теоретических дисциплин и достижениях различных отраслей промышленности. Переход технологий на нанометровый уровень ставит задачи использования в качестве инструмента исследователя крови создание *высокотехнологичных рабочих станций*, позволяющих получать необходимую информацию с помощью обычной (световой), люминесцентной, электронно–микроскопической техники, при информационном обеспечении, позволяющим проводить точнейшие ультраструктурные измерения, автоматически обрабатывать их по задающимся исследователем программам.

Создание таких станций в исследовательских лабораториях и в учреждениях практического здравоохранения существенно облегчает задачу контроля качества лечебно–диагностического процесса, а также расширяет горизонты исследования как клеточных элементов крови, так и ее жидкой компоненты.

В частности появляется возможность точных исследований нарушений в состоянии периферического звена эритрона в результате действия малоинтенсивных стресс–факторов. Последствия функционально значимого воздействия этих факторов удобно оценивать по стоматоцитограммам, эхиноцитограммам, а повреждающие воздействия – по пойкилоцитограммам.

В *стоматоцитограмме* подсчитывают 4 группы Ст, описанных в работах, посвященных количественной эритрограмме (Кидалов В.Н., Хадарцев А.А., 2005). Использование рабочей станции, предназначенной для телевизионной микроскопии, позволяет исследовать механизмы образования стоматоцитов.

К образованию Ст наиболее часто приводит избыточное поступление в клетки воды, нарушения калий–натриевого и водного обмена, увеличение содержания в мембранах этих клеток фосфатидилхолина. Подсчитывается общее число Ст и их процентное распределение по первой–четвертой подгруппам стоматоцитарной трансформации. При выраженных степенях нарушений водного обмена превалируют Ст третьей и четвертой подгрупп.

Актуальным и малозатратным становится подсчет эхиноцитограмм – распределений эритроцитов с шипами по четырем группам, также описанных в методике количественной эритрограммы. Увеличение после того или иного экстремально

го воздействия процентного числа *эхиноцитов* третьей и четвертой подгрупп может свидетельствовать о нарушениях энергетики клеток крови.

Пойкилоцитограмма рассчитывается аналогично стоматоцитограмме или эхиноцитограмме. Ее автоматическая оценка имеет прогностическое значение при наличии экзогенной интоксикации, либо при воздействии на организм интенсивных физических факторов электромагнитной природы. Подсчет распределений клеток крови по перечисленным группам и разновидностям клеток облегчается и упрощается при использовании рабочей станции с соответствующим программным обеспечением.

Использование люминесцентного канала упомянутых станций позволяет облегчить анализ определения числа *эритроцитов-флюоресцитов* в мазке крови. При снижении содержания в эритроцитах концентрации гемоглобина, что характерно при формировании анемий разной природы, наиболее дегемоглобинизированные клетки после их обработки флюорохромами приобретают способность к интенсивной люминесценции в ультрафиолетовом свете. Количество таких клеток (флюоресцитов), а также их морфологические характеристики могут быть быстро установлены по люминесцентной картине нескольких полей тонкого мазка крови.

Недавно установлено, что при малоинтенсивных стрессогенных воздействиях (электромагнитных полей, низкочастотного звука, пылевых (растительных) аллергенов, химических веществ (например, алкоголя), сжатого кислорода наиболее ранние изменения отмечаются в центральной зоне эритроцитов по границе внутреннего «ободка» их тора. Изменения отдельных участков в этих частях тора (по типу инвагинаций и выпячиваний) образуют различные *условно-полиморфными стомами* (УПС).

В УПС-грамме подсчет клеток проводится с учетом отношения их к одной из пяти выделенных групп по нарастанию степени деформации тора.

Развитие преморбидных состояний либо воздействие на организм малоинтенсивных внешних факторов (химических веществ, растительных аллергенов, пыли, низкочастотного звука, электромагнитных полей др.) сопровождается изменениями всего внутреннего края тора эритроцитов, в результате чего в центре

клеток формируются УПС различной конфигурации. Причинами их формирования являются слабые и умеренные изменения гликозилирования спектриноподобных белков клеток, дизэргоз, вследствие нарушенного газообмена и повышенного расхода эритроцитами макроэргов. Распределение эритроцитов с УПС по пяти морфологически различным группам позволяет получить количественную оценку начальных изменений системы эритрона и состояния здоровья. Отношение суммы эритроцитов третьей, четвертой и пятой подгрупп УПС к сумме эритроцитов с УПС первой и второй подгрупп, т.н. *индекс деформации тора* (ИДТ) повышается (до 0,40 и выше) у лиц, sensibilized растительными и другими антигенами, а также у людей с нарушением обмена углеводов и макроэргов.

Использование рабочей станции для телевизионной микроскопии позволяет методом цейтраферной съемки проводить динамический анализ *агрегационного процесса*. При этом ориентируются на задаваемые экспериментатором или врачом временные интервалы первичной агрегации эритроцитов.

Выше приведенные примеры лишь в малой части иллюстрируют возможности создаваемых рабочих станций для исследования крови. Рабочая исследовательская станция, как инструмент – полифункциональна и может широко использоваться для диагностики широкого перечня клеток, тканей и биосубстратов для диагностики соматических заболеваний, включая заболевания системы крови, а также для съема информации с биообъекта в процессе воздействия на него любого НПФ.

Различные виды информации: (электрической, молекулярно-химической, биологической, полевой и др.) используются и паттернами самоорганизующимися эритрон.

Использование рабочих станций не имеет альтернатив при оценке новых искусственных источниками информационного воздействия, например *энергоинформационных преобразователей*, которые способны получать, запоминать и длительно сохранять информацию другим материальным природным объектам (Муромцев В.А. и соавт., 1998).

Воздействие некоторых вирусов побуждает в организме неблагоприятные дезинформационные расстройства, в результате которых клетки организма «представляют» вирионам возмож-

ность использовать собственную питательную среду для размножения вирусов.

В необычных условиях существования слабые воздействия обычно дозозависимы и могут приобретать двойственное значение для организма, либо для его составных частей. Даже сверхслабые стимулы (информационные сигналы) в подобных условиях способны вызывать в организме формирование памяти на субклеточных, клеточных, тканевых и органных уровнях, различными способами (табл. 2, 3).

Таблица 2

Информационные (сигнальные) системы крови

Информационные системы, работающие по принципу обратных связей (cross-talking)	Локализация
– ферментные;	Плазма, различные части клеток, митохондрии.
– антигенного гомеостаза и синтеза анти-тел;	То же
– на основе работы «живых» жидких кристаллов с изменениями водно-электролитного состояния	Плазма крови, цитоплазма клетки, фосфолипидные и белковые слои мембран.
– стероидных и тиреоидных гормонов, способных в клеточном ядре изменять экспрессию белков и активировать рецепторы R_2 эта система обладает коэффициентом усиления сигнала до 10^3 , общее усиление сигнала в масштабах клетки может достигать 10^6-10^{12} .	Гормоны извне, через зоны цитоплазматических рецепторов мембран – R_2 проникают к ядру
– ГТФ-связывающих белков (Gr), участвует в передаче информации по мембранам при помощи белков-мишеней – (T_1^p);	Плазматическая мембрана с рецепторами нейромедиаторов и пептидных гормонов, потенциалоперируемые ионные каналы.
– вторичных посредников (М), модифицирующих активность цитоплазматических белков-мишеней T_2 .	Цитоплазма
– стереоспецифичных стимулов (химических, электрических, тепловых) рецепторов;	Плазма крови, клетки, внутриклеточные мембраны.
– ионных каналов цитоплазмы, разных по чувствительности к изменениям мембранного потенциала;	Цитоплазма.
– короткодистантных гормонов (простагландины, лейкотриены), связанных с активацией фосфолипазы A_2	Митохондрии

Пути и способы переноса информации в системе крови

Установленные пути и способы	Разрабатываемые способы переноса информации
Жидкостный (водный)	Посредством излучений клеток и белков в разных диапазонах ЭМИ (ИК, СНЧ, светового и др.), а также звука и инфразвука
Ионный (работа сигнальных систем клеток, ионных каналов)	Конформационными изменениями молекул (белковых, белковых и гликолипидных комплексов)
Посредством переноса молекул кислорода, углекислого газа, окиси углерода, окислов азота, анионов и др.	Последовательным запуском ферментных систем
Изменениями интенсивности и характера обмена веществ (например, фосфоинозитидов, углеводов и др.)	При помощи изменения активности процессов клеточного дыхания.
Изменениями транспорта гормонов, витаминов, других биологически активных веществ, различных метаболитов	Изменениями жидкокристаллического состояния внутриклеточных и внеклеточных биологических сред
Изменениями параметров микроциркуляции клеток крови и миграции клеток в ткани	Посредством «светового» межклеточного «общения»

Только использование рабочих станций с современными технологическими возможностями позволит снимать необходимую информацию и осуществлять необходимый метрологический контроль за производственным диагностическим или научным процессом.

3. Природная метрология системы крови

Накопленный за последние десятилетия материал, начиная с книги А.Г. Субботы (1994), позволяет говорить о широком разнообразии паттернов *золотых пропорций* в живых системах, на самых разных уровнях их организации, включая составные части системы крови.

Согласование работы крови, легких пищеварительного тракта и других органов идет с помощью множества биофизических механизмов, нервно-гуморальной регуляции, а также путем использования таких характеристик гармонии как *золотое сечение*, *серебряная пропорция*, *золотой вурф*, закономерностей фибоначчиева ряда чисел.

Будучи одной из ведущих функциональных систем организма – гемоиммунная – в процессе жизнедеятельности постоянно решает задачи поиска минимума затрат свободной энергии при осуществлении своих специализированных функций и в процессе морфогенеза. Говоря математическим языком, она решает свои поисковые (адаптационные) задачи при помощи паттернов *золотого сечения* в дискретно-числовых множествах. При этом минимизация свободной энергии системы с заданной генетическими программами точно происходит за некоторое ограниченное количество операций или тактов.

Паттерны системы крови, как и сама эта система – нестационарны, они имеют начало и конец и за время своего существования, развиваются, достигая лишь некоторого приближения к оптимуму (поскольку полный энергетический оптимум может быть только у неживых объектов и отражает состояние «термодинамической смерти»). Паттерны крови не могут длительно находиться в состоянии приближения к оптимуму, поэтому они нередко деградируют, уступая место новым паттернам.

В множестве чисел Фибоначчи, которыми оперирует система крови, существует план задачи, позволяющий за конечное число шагов (приближений) отыскать минимум свободной энергии биосистемы. Фибоначчиевый n -шаговый план (F_n – план) является единым оптимальным n -шаговым планом поиска локального минимума затрат свободной энергии системы крови за n шагов. Это положение доказано в диссертации В.В. Игнатьева для $(n+1)$ шагового плана, который можно считать оптимальным, так как его использование ведет к наименьшей ошибке поиска. Доказательства оказываются справедливыми не только для одиночного случая, но и тогда, когда аргумент определяемой функции сам может быть сложной монотонной функцией (сте-

пенной, показательной, логарифмической или сложной трансцендентной функцией).

Существование таких паттернов обеспечивает своеобразную природную метрологию протекающих в организме процессов. Прежде всего, следует упомянуть «золотой» ритм двигательной активности человека, проявление *золотых пропорций* в каскадных реакциях внешнего и клеточного дыхания, в строении клеток крови и субклеточных структур. Исходя из теории поиска экстремума, можно предположить, что в отношении клеток крови Природа проявляет своеобразный метрологический принцип в следующем:

а) в поддержании морфологической целостности, автономности клетки и ее взаимодействия с окружением;

б) в матричности системы и клеток крови, которая проявляется в организации в пространстве биомембран, биохимических и других реакций и в рецепторных взаимодействиях;

в) в регуляции проницаемости по отношению к воде, электролитам и газам,

г) в контроле и обеспечении трансмембранного переноса энергии и метаболитов;

д) в коммуникационности мембран клеток, проявляющейся в изменении поверхности клеток, функций ее компартментов, что обеспечивает координацию деятельности самых разных клеток, тканей, органов и систем.

В системе крови паттерны *золотого сечения* как внутренние «естественные метрологи» обеспечивают одновременно «преаналитический, аналитический и постаналитический этапы» необходимого использования веществ и информации, поступающих к живым элементам этой системы, а также контроль уровней согласованности, последовательности или одновременности перестроек и процессов самоорганизации. Их работа заканчивается выработкой сигнала (стимула), способного в свою очередь, запустить ту или иную цепь последовательных физиологических, саногенных и др. реакций.

Известны следующие распространенные паттерны системы крови, тесно связанные с движением (микроциркуляцией, дыханием, газообменом) и поддержания Ph.

Паттерн системы – «Сердечный сосуд с движущейся кровью» определяет оптимизацию «вхождения» архитектурных, гемодинамических, биохимических и температурных параметров (оптимальный диаметр, ламинарно–спиральный режим движения, симметричность кровотока, оптимальные вязкость и температура крови). Этот паттерн обеспечивает прохождение объемов крови через сердце с минимальными затратами энергии, чем в свою очередь обеспечивается минимальность затрат энергии на транспорт единичного объема кислорода в каждом сосуде.

Паттерн спиралевидного строения сосудов и потоков крови. Движение крови в мелких артериальных сосудах имеет ламинарно–спиральный характер. Закономерна спиралевидная ориентация мышечных волокон в стенках артерий. Спирализация биологических конструкций и процессов позволяет экономить энергию и материал, обеспечивает повышенную прочность и надежность сосудистой системы и кровотока. По данным Lowell, Adamson, (1980) пропульсация по спирали обеспечивает значительную экономию энергии на перемещение крови в сосуде при соответствующей ориентации эндотелиальных клеток протекающему кровотоку.

Паттерн оптимальной вязкости крови: в нем гармонизированы характеристики температуры, гематокрита, формы, упругости и вязкости эритроцитов, а также симметричный способ их движения. Низкая вязкость крови позволяет минимизировать потери механической энергии, в результате вязкой диссипации.

Вероятна возможность обнаружения паттернов *золотого сечения* в клетках крови на атомарно–молекулярном уровне. Так у атома кислорода на 5–ти орбитах его расположены 8 электронов (5 и 8 – числа ряда Фибоначчи). Оптимальность организации эритроцита определяется прежде всего его формой и внутренней структурой. Нормальный эритроцит человека и млекопитающих сразу после эксфузии крови принимает форму двояковогнутого диска. Расчеты показывают, что дискотороидальная форма эритроцита человека, обеспечивает максимальное отношение его поверхности S к объему V ($S/V=1,638$). В некоторых свойствах эритроцитов проявляется фибоначчиев тип поиска энергетического экстремума. Это проявляется в фибоначчиевых числах

размеров дискотороидальных эритроцитов (рис. 3а), в интенсивности их спектров аутофлуоресценции эритроцитов в ультрафиолетовых лучах (рис. 3б).

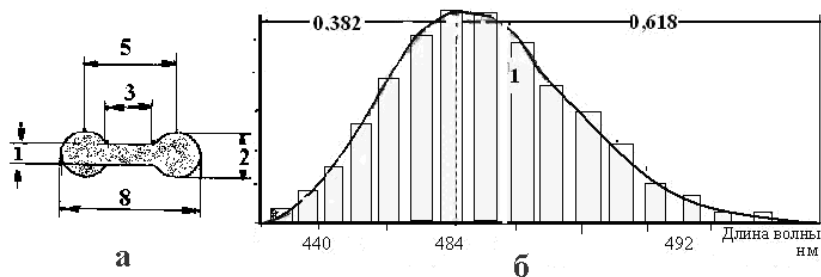


Рис. 3. Эритроцит морской свинки – проявление паттерна золотого сечения: а – размеры эритроцита в мкм (числа Фибоначчи); б – соотношение левой и правой сторон спектра свечения эритроцита близко к Φ .

Поскольку главная функция эритроцитов заключается в транспорте кислорода к месту его потребления с последующим газообменом между кровью и окружающими тканями, именно паттерны *золотой пропорции* обеспечивают минимальную энергетическую «цену» транспорта кислорода молекулами гемоглобина, которые на внутренней поверхности эритроцита располагаются между двумя молекулами воды.

Обсуждаемый ультраструктурный паттерн позволяет сохранять автономность каждой молекулы гемоглобина и обеспечивает эластичность формы клетки. Расположение гемоглобина в клетке позволяет транспортировать максимальное количество кислорода по отношению к единице объема. При этом доставка необходимого количества кислорода обеспечивается гармоничной формой клетки и размещением внутри нее максимального количества молекул гемоглобина; минимумом потерь энергии при движении в плазме крови, высокой склонностью к деформациям мембраны клетки, то есть свойствами, важными для паттерна более высокого уровня – микроциркуляционного.

Микроциркуляционный паттерн характеризуется величиной гематокрита (Ht) в артериолах и венолах и магистральных сосудах. Различия его невелики: в сосудах диаметром 100–200 мкм величина Ht, почти не отличается от гематокрита крови из магистральных сосудов. Установлено, что между эритроцитами и стенкой капилляра имеется слой плазмы, который благодаря трению о стенку сосуда движется со скоростью меньшей, чем у эритроцитов. По наблюдениям Klitzman, Duling (1979) при отношении скорости эритроцитов к скорости пристеночного слоя плазмы, равном приблизительно 1,6, соотношение объемов эритроцитов и плазмы, проходящих через микрососуды в единицу времени, практически не будет отличаться от гематокрита в транспортных сосудах, полученного путем центрифугирования крови. Отношение 1,6 практически соответствует золотому числу 1,618. Это означает, что гематокрит крови, движущейся через крупные, средние и мелкие артерии и микрососуды, постоянен и не зависит от их диаметра.

Объемный паттерн крови – это давно установленный паттерн регуляции отношения объема циркулирующей крови к плазматическому объему в организме. Оно равно 5:3, а отношение плазматического объема к глобулярному – 3:2 (числа Фибоначчи).

Обнаружены паттерны дифракционной картины эритроцитов, при прохождении луча гелио–неонового лазера через суспензию клеток.

В различных областях науки и техники оформился большой перечень современных методов, позволяющих исследовать биологические эффекты воздействия на организм малоинтенсивных факторов различной природы. Так, на уровне сигнальных систем клеток неинвазивными методами оценивают интенсивность ионного обмена мембраносвязанного кальция и других катионов. Процессы клеточного дыхания изучают путем регистрации интенсивности собственной люминесценции белково–ферментных компонентов дыхательной цепи митохондрий. Возможность оценить «прием» некой информации белками исследуется по выраженности их конформационных изменений, а на уровне клеток – по изменению конфигурации клетки или какой–либо ее части (Зайцева К.К. и соавт., 1989). Поскольку жид-

кость является колыбелью жизнедеятельности любой составной части организма, ведутся исследования информационных эффектов в жидких биосредах. В этом плане встает вопрос о рассмотрении их как жидких кристаллов. При использовании рабочих станций для телевизионной микроскопии и спектрофотометрии разрабатываются способы извлечения ценной в биологическом плане информации с учетом особенностей кристаллизации в биологических средах, воспринявших ту или иную информацию от мало интенсивных внешних факторов среды.

Рабочие станции применимы и к оценке влияния на организм и его кровь *комплекса полей биообъектов* (КПБ).

Р. Гербер рассматривал вопрос о «тонких энергетических полях». Этот автор приписывал им участие в вибрационных механизмах исцеления. При этом исходил из того, что вещество – это одна из форм энергии (второй такой формой может быть свет), а человек и его системы, с этих позиций больше, чем сумма химических соединений. Ему, его системам, в том числе клеткам крови, присущи свойства голографичности и биоэнергетичной матричности. Считается, что комплекс полей вокруг растущего биообъекта имеет форму взрослого объекта. При исследованиях клеток складывается впечатление, что микроскопические «пробы» вещества представляют собой «застывший свет». Подразумевается, что между клетками имеется тонко-энергетическое взаимодействие, похожее на взаимодействие электронных вибраций. Это взаимодействие можно изменить за счет информации, привносимой в систему с помощью «гомеопатических энергетических толчков».

Р. Гербер считал, что существуют и обратные потоки информации. Так, капля крови – это динамически меняющаяся голограмма, скорее «живой букет информации», нежели застывший моментальный снимок. Он предполагал, что капелька крови как бы способна оставаться в динамическом равновесии со своим источником, даже если ее отделяет от этого организма значительное расстояние.

Каждому организму свойственны свои частотные характеристики крови. Их индивидуальность может быть изменена посредством переливания крови. При этом видимо, могут быть нарушены тонкие «психоэнергетические» связи между целым

организмом–хозяином и отдельными объемами крови. Не этим ли объясняется факт повышения интуитивности (информированности) у людей перенесших тяжелые операции и катастрофы и переливания крови?

Некоторый свет на механизмы тонкого взаимодействия между элементами крови и макроорганизмом может, вероятно, пролить гипотеза «терминального отражения в организме» А.И. Гончаренко.

На практике установлено, что реакции эритрона даже на небольшие изменения условий внешней среды могут быть разнонаправленными. Так, увеличение уровня гемоглобина и количества эритроцитов в крови наблюдают в период адаптации человека к относительной гипоксии, в условиях Арктики, Антарктики или высокогорья. В тропиках же, даже период адаптации к высокой температуре кровь нередко характеризуется снижением содержания гемоглобина и числа эритроцитов. Если же из-за воздействия на организм НПФ развивается гипоксия, это отражается не только на газообмене, электролитном балансе, но и на функциях основных систем организма, включая нервную и мышечную.

У пострадавших от аварии на Чернобыльской АЭС даже при небольших индивидуальных средних эквивалентных дозах облучения от 0,05 до 3 бэр наблюдалось достоверное снижение содержания эритроцитов на 0,25 млн. клеток в 1 мл и гемоглобина на 0,11 г/л по сравнению с контрольной группой не облучавшихся людей. Одновременно, у этих же лиц, регистрировались снижение числа ретикулоцитов, пойкилоцитоз (с появлением в крови старых, с глубоко изрезанной мембраной клеток – ропалоцитов), активация адгезивных свойств эритроцитов, что могло свидетельствовать об усилении апоптоза среди элементов красного ростка крови (Алексанин С.С. и соавт., 1995). Причина таких изменений могла быть в неодинаковом загрязнении районов. Действительно, например, в правобережной части Санкт–Петербурга в почвах повышено содержание меди. В большинстве районов города в почве содержатся олово, свинец, вольфрам, цинк, никель, кобальт, серебро. Сотни гектаров земли заняты под свалки твердых, в некоторых местах радиоактивных, отходов, продолжается сброс отходов на недостроенные, неблагоустроенные территории, часть мусора сжигается или сбрасывается

в водоёмы. По сведениям НИИ промышленной и морской медицины в других городах Северо-Запада России также нередко обнаруживаются превышения предельно-допустимых уровней поколений представляют загрязнения воздуха, почвы и воды свалками токсикантов, относящихся к первому классу опасности (ртути и др.), к загрязнителям сточных вод от различных медицинских учреждений. Поскольку антропогенное загрязнение природной среды считается неизбежным, весьма актуальным является использование исследовательских рабочих станций для объективного определения ранних стадий отклонений в жизнедеятельности организма человека в условиях неблагоприятной экологической обстановки и повышения в воздухе концентраций летучих токсических веществ: диоксида азота, фенола, двуокиси азота, соединений серы и других элементов.

Проведенный анализ показывает, что, даже небольшие изменения экологических условий в различных районах сильно влияют на показатели общей и гематологической заболеваемости населения, а также на уровень смертности.

Можно говорить также о постепенном «глобальном загрязнении» атмосферы всей Земли углекислым газом. По данным В. Bolin, с начала века содержание углекислого газа в тропосфере возросло с 290 ppm до 321 ppm в 1970 г. и в начале 21 века приблизилось к 360–400 ppm. В связи с этим, следовательно, можно прогнозировать увеличение функциональной нагрузки на газотранспортную функцию эритроцитов каждого, живущего на Земле человека.

Развитие промышленных энергосистем приводит к усилению неблагоприятного воздействия в городах на организм человека и на его гемоиммунную систему такого «слабого» фактора, как электромагнитные излучения промышленных и бытовых установок.

«Набор» из современных, даже малозаметных факторов внешней среды делает существенным фактор нарушения витаминного баланса в организме. Большие контингенты людей «приобрели» помимо своей воли дисвитаминозы: С, U, B₁₂ и фолиевой кислоты. Наряду со слабостью, снижением работоспособности, повышением восприимчивости к заболеваниям таких лиц выявляются признаки гипоксемии (синюшность дёсен

и слизистых, повышенная кровоточивость, ломкость капилляров и локальные кровоизлияния, снижение числа эритроцитов в крови и концентрации внутриклеточного гемоглобина).

На практике установлено, что *реакции эритрона на изменения условий внешней среды могут быть разнонаправленными*. Выраженное снижение числа циркулирующих по сосудистой системе эритроцитов, хотя и вызывает включение компенсаторных реакций (транзиторное усиление пролиферации эритроцитов и гиперплазию красного костного мозга и др.), но, нередко, сопровождается нарушениями капиллярного кровотока, вплоть до спазмов и парезов артериол, полнокровия венул, расширения капилляров со сладжированием и стазированием кровотока в них. Подобные изменения захватывают, в первую очередь, жизненно важные органы.

Эритроциты – электрически активные клетки, оказываются чувствительными к воздействию электрического поля (Игнатьев В.В. и соавт., 1996). Установлено, что при сочетанном действии температурных, токсических и электромагнитных факторов отмечается более выраженное снижение функциональных показателей эритрона, нарушение микроциркуляции эритроцитов, изменение способности клеточных мембран релаксировать в изменившихся условиях внутренней среды. На этот процесс существенно влияет «внутренняя экология» эритроцитов, которые, как выяснено в последние годы, способны не только адсорбировать на поверхности токсические вещества, но и накапливать токсические коллоидные и другие вещества внутри самой клетки. Подобные изменения являются ранней ответной реакцией крови и всего организма, нередко предшествующей развитию у индивидуума клинически выраженной патологии.

Известно, что НПФ снижают текучие свойства эритроцитов, что может приводить к реологической «токсической закупорке» капилляров в тех или иных тканях, а разрушение эритроцитарных оболочек может вести к выбросу в кровоток липопротеидных структур, обладающих тромбопластиновой активностью.

Проведенный анализ показывает, что новые преформированные факторы могут оказывать влияние на систему крови и ее составную часть – эритрон на следующих уровнях:

а) на уровне социума – в отношении «красного роста» крови в настоящее время это проявляется в увеличении количества людей с анемиями;

б) на уровне индивидуума – могут возникать неблагоприятные процессы с участием эритронов – гипоксия и гипоксемия, расстройства микроциркуляции, дисфункции основных органов и тканей;

в) на уровне всей гемоиммунной системы – возможны нарушения межклеточного взаимодействия между эритроцитами, тромбоцитами и ядросодержащими клетками крови, эндотелием и другими тканями. Это приводит к изменению существенных характеристик клеточного и тканевого электрогенеза, иммуногенеза, транспорта гормонов, широкого спектра других биологически активных веществ и химических элементов;

г) на уровне гемоциркуляции – регистрируются региональные расстройства циркуляции эритроцитов, изменяется вязкость крови, нарушаются соотношения равновесия между свертывающей и антисвертывающей системой;

д) на уровне клеток – снижается пластичность клеточных мембран, изменяются размеры и конфигурация клеток, понижается коэффициент их полезного действия в газотранспортных процессах, в транспорте других веществ. Изменяется биохимическая активность внутриклеточных и тканевых процессов. Эритроциты становятся «чувствительными» к влияниям экстракорпоральных экстремальных факторов (различных излучений, токсикантов, бактериальной и вирусной агрессии). Частичное повреждение клеточных мембран эритроцитов приводит к ауто-сенсibilизации организма продуктами деструкции белков плазмолеммы, способствует повышению в сыворотке крови концентрации биологически активных молекул средней массы;

е) на уровне генетического аппарата – регистрируются изменения генома на уровне клеток-предшественников «красного роста» крови. Они могут приводить к появлению генетически обусловленных анемий, изменениям механизмов геномной реорганизации и экспрессии генов, а в более легких случаях – к появлению в циркулирующем сосудистом русле эритроцитов с измененным апоптозом – программой естественного функционирования и гибели этих клеток.

Наиболее полную информацию о неблагоприятных изменениях эритрона у лиц, подвергающихся воздействию экологически неблагоприятных факторов среды, можно получить лишь при использовании рабочих станций, оперирующих наиболее чувствительными современными методиками, позволяющими оценить состояние не только всего циркулирующего клеточного пула, групп клеток, но даже отдельных эритроцитов и их компартментов.

С учетом этого выбор методов для экспресс-оценки состояния системы крови, в частности эритрона, проводился путем практической апробации и анализа методик, описанных в специальных журналах и руководствах.

Кроме того, велась отработка некоторых новых методов в модельных исследованиях на специально разработанной приборной и аппаратурной базе.

В настоящей работе отобраны наиболее доступные и информативные методы исследования эритрона и лейкона для экспрессной оценки состояния организма. Они позволяют выявлять наиболее ранние нарушения гомеостазиса, обусловленные воздействием отдельных неблагоприятных факторов среды и комплексами факторов неблагоприятной экологической обстановки. Представленные ниже методы являются универсальными с позиции их пригодности для выявления начальных стадий стрессорных и экстремальных воздействий, для оценки динамики различных хронических заболеваний, в патогенезе которых играют роль процессы нарушения дыхания, энергообмена, ауто-сенсibilизации, иммунодисфункция, а также дестабилизация работы мембранного и генного аппарата клеток. Предпочтение отдано методикам, которые можно использовать в обычных исследовательских и клинико-диагностических лабораториях, в амбулаторных и экспедиционных условиях, на рабочих местах, особенно при массовых обследованиях, малотрудоемких и безвредных для обследуемых.

В настоящую работу не включены широко распространенные методики лабораторной диагностики, такие как определение гемоглобина, групп крови, системы HLA, выявление ферментов и некоторых других, хорошо представленных в совре-

менных руководствах по гематологии, в других учебниках и практических руководствах.

Наиболее полно в ней представлен наш собственный опыт экспериментальных и клинических исследований, проводимых в течение последних десятилетий.

4. Лабораторные технологии и рабочие станции для оценки изменений крови при слабых воздействиях и хранении препаратов крови

Разработка наиболее экономных и практически удобных методик исследования необходима практически во всех областях науки и техники: в медицине, биологии, геологии и металлургии, археологии, реставрационном деле и т.д. И везде одним из главных звеньев в их создании является приборная база, позволяющая человеку решать выдвигающиеся на первый план исследовательские задачи. Самой надежной и совершенной информационной системой и системой обработки изображения на сегодняшний день является человеческий мозг, и выведенная природой на периферию тела мозговая структура – глаз. Все реализованные к сегодняшнему дню технические решения не могут сравниться с глазом с точки зрения полноты анализа визуальной и абстрактной (графической, цифровой) информации. Технический помощник глаза – микроскоп, со времен Ливенгука подвергается постоянному совершенствованию. Создаются самые различные оптические системы и приборы для исследования во многих областях науки и техники. Разработанные хитроумные схемы визуальных приборов дали возможность человеческому глазу проникнуть в самый сложный и до сих пор не всегда понятный микромир. Доведены до теоретических пределов увеличение и разрешающая способность, частотно-контрастные характеристики микроскопов, значительные успехи достигнуты при разработке люминесцентных, лазерных и сканирующих микроскопов.

Однако такие недостатки микроскопа как привязка к определенному набору увеличений, к иммерсии, ограниченность вариантов подсветки, средств регистрации изображений затрудняют решение целого круга задач во многих исследованиях.

Сначала фотоаппараты, потом 16 мм кинокамеры и, наконец, ПЗС-камеры стали одним из этапов борьбы с этими недостатками и с субъективностью восприятия изображения исследователем. В последнее время, благодаря появлению мощных ПЗС-камер во всем мире стали создавать целые комплексы и рабочие станции анализа изображений с последующей компьютерной обработкой информации.

Возможности ПЗС-камер применительно к микроскопу огромны.

Это:

- цифровое кодирование выходного сигнала;
- встроение ПЗС-сенсора с охлаждением позволяет достигать превышение световой чувствительности глаза;
- возможность передачи информации на видеомонитор, видеомагнитофон и персональный компьютер;
- программная обработка малоконтрастных объектов;
- предварительная настройка ПЗС-камер по эталону белого цвета;
- «игрушечные» габариты и вес камер (до 150 г.);
- возможность обслуживания одной камерой с адаптерами любого количества микроскопов;
- создание новых исследовательских комплексов.

Главное назначение подобного комплекса, являющегося основой многих исследовательских и лабораторных рабочих станций – компьютерный анализ цветного изображения при видеомикроскопии на базе биологического исследовательского микроскопа и ПЗС-камеры. Подобные комплексы позволяют преобразовывать оптическое изображение объекта в микроскопе или ином оптическом приборе, предназначенном для непосредственного наблюдения при различных вариантах комплектации в цветное изображение на экране компьютера в телевизионном режиме с использованием дополнительных возможностей современной цифровой обработки, систематизации и каталогизации таких изображений. Комплексы позволяют также производить запись видеоинформации для докладов. Для создания видеодокументации предусмотрена также совместимость телевизионного микроскопического комплекса со стандартной и бытовой аппаратурой видеозаписи.

Таким образом, в одной рабочей станции на основе этого комплекса обеспечена возможность рационального совмещения средств исследования, регистрации результатов и создание собственной информационной базы данных в принятой в мировой практике эффективной форме.

Рабочая станция позволяет использовались различные методы микроскопии для оценки морфофункциональных характеристик живых и переживающих клеток крови с минимизацией их обработки для анализа.

Примерная комплектация рабочей станции для анализа изображений клеток крови и тканей и оценки их морфофункционального состояния.

Предназначение:

- оценка изменений формы безъядерных клеток (эритроцитов) и их компартментов, морфологии лейкоцитов при заготовке препаратов крови с использованием различных консервантов;
- оценка функциональной активности клеток крови и тканей (клеточного дыхания) при длительном хранении и использовании различных химических консервантов, антикоагулянтов и протекторов;
- оценка изменений морфофункционального состояния клеток крови и костного мозга при их низкотемпературном консервировании;
- морфологическая, цитохимическая и функциональная оценка (флуоресцентная спектрофотометрия) активности тромбоцитов в тромбоконcentратах, заготавливаемых различными способами;
- диагностика митохондриальной недостаточности клеток крови и тканей при длительном хранении препаратов донорской крови и тканей;
- поисковые исследования изменений клеток и тканей при воздействии физических факторов (низкие температуры, механическое воздействие), различных химических (лекарственных) веществ.

Основные узлы и оснащение станции:

- 1) Люминесцентный микроскоп с тринокулярной насадкой;
- 2) Спектрофотометрическая насадка;

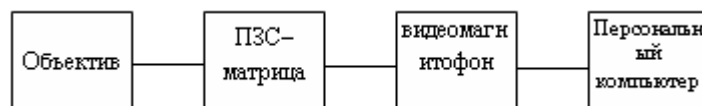
- 3) Компьютер с монитором высококачественного разрешения изображения и платой захвата видеоизображения.
- 4) Видеокамера (ПЗС);
- 5) Комплект эпииобъективов с увеличением от $\times 20$ до $\times 100$.
- 6) Комплект светофильтров для люминесцентной микроскопии.
- 7) Программа обработки видеоизображений, оценки спектра люминесценции и интенсивности свечения микрообъектов.

Некоторые важные особенности рабочей станции телевизионной микроскопии и спектрофотометрии:

1. *Дистанционное оптико–электронное устройство (ДОУ).*

По данным оптика–расчетчика В.Е. Куликова ДОУ предназначен для внешних исследований без прямого контакта с объектом. Устройство обладает увеличением до $10^{\times}$, полем зрения 10° и плавным изменением рабочего расстояния с фокусировкой от 0,5 м до «бесконечности».

Оптическая схема ДОУ:



2. *Устройство для поляризационной микроскопии (ПМ) с прибором зарядовой связи (ПЗС)–камерой:*

Расчетное увеличение устройства – $\Gamma_m = V_{об} \times \Gamma_{эл}$,

где $V_{об}$ – увеличение объектива, $\Gamma_{эл}$ – линейное увеличение электронной схемы, равное $D_{экр}/D_{пзс}$ ($D_{экр}/D_{пзс}$ – диагонали экрана и ПЗС–матрицы).

ПМ сконструирован таким образом, что в поле зрения нет поляризационной призмы. А ее функции выполняет измененный блок бинокулярной системы. Что повышает качество изображения. Как следствие этого появляется возможность использования больших, чем в имеющихся поляризационных микроскопах, увеличений и безиммерсионной оптики.

За счет замены увеличения окуляра на электронное увеличение системы, которая может быть значительно больше, достигается увеличение изображения в 5000 и более крат.

3. Устройство для люминесцентной микроскопии.

Изображение, вызванное вторичным свечением биообъекта через ПЗС-камеру увеличивается на экране телемонитора, видеомагнитофона или персонального компьютера и далее фильтруется в компьютере специальными фильтрами. При визуальном наблюдении в качестве таких фильтров могут использоваться специальные очки. Применяется ПЗС-камера с чувствительностью около 2 лк. Прекрасно регистрируются излучения даже очень низких энергетических уровней, например, при увеличении в 5–8 тыс раз.

Так как вторичное излучение, возбужденное *ультрафиолетовыми* (УФ) лучами имеет хаотическую поляризацию, то основные потери света происходят на линзах, просветляющих покрытиях, фильтрах и, особенно, на призмных блоках. Поэтому в действующих устройствах оптическая система упрощается до минимума, и общая схема устройства состоит из ртутной (галогеновой) лампы, УФ-фильтра, объективов темного поля, ПЗС-камеры.

Потери энергии, в данном случае, имеются только на кольцевом зеркале и параболическом отражателе объектива.

Камера настроена по эталону белого цвета, поэтому цветопередача гарантированно приближается к эталону цвета.

При исследовании люминесценции устройство работает как в отраженном, так и в проходящем свете.

4. Устройство для микроскопии биологических объектов широкого спектра.

Оно создано на основе биологического микроскопа с ПЗС-камерой. Достигается линейное увеличение при сохранении цветопередачи до $10000^{\times}$. Используются объективы типа «ОПАК-иллюминатора».

5. Устройство для микроскопии капилляров

Оптическая схема состоит из ПЗС-капилляра и системы регистрации анализа изображений.

Достигаемое увеличение $500^{\times}$ – $1000^{\times}$, наклон капилляра $\pm 45^{\circ}$.

На подобных принципах создана установка с волоконными световодами, позволяющая снимать спектры УФ-аутофлуоресценции с локальных участков кожи. В этих спектрах измеряют

интенсивности свечения на длинах волн 450–470 нм и 520–530 нм и по их соотношению косвенно судят об интенсивности процессов клеточного дыхания или биологического окисления.

Наработан опыт использования многоканальной светооптической микроспектрофотометрической рабочей станции.

Ее состав (рис. 4) – источники видимого света и ультрафиолетового излучения, тринокулярный микроскоп ЛЮМAM–P1 (1) с контактным эпиобъективом 10 х 0,30 ДТ 190 (ГОИ), освещаемым ртутной лампой ДРШ–250–3 и соответствующим блоком питания. Станция снабжена 2 телекамерами: ПЗС (ТК–1–черно–белая) и ТК–2– Panasonic NV–R 100 (цветная), видеомагнитофоном Panasonic P5, видеокамерами, и телевизионным монитором компьютером (4) фирмы IBM с видеоплатой (5).

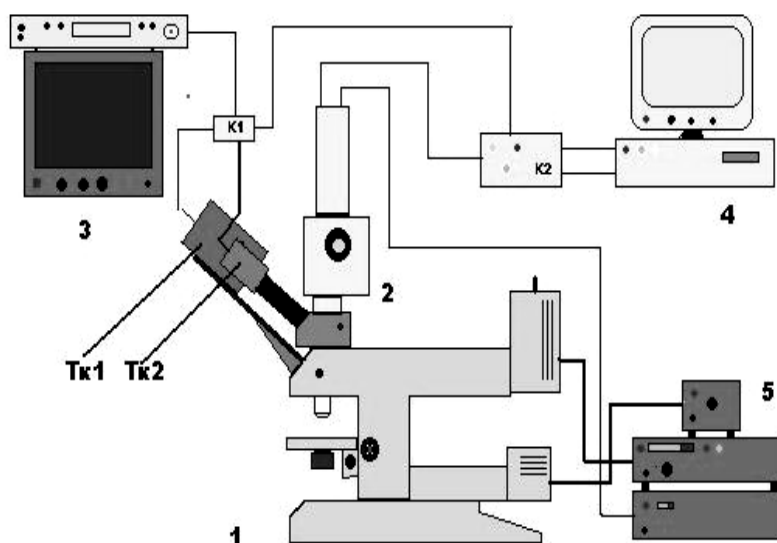


Рис. 4. Рабочая станция для телевизионной микроскопии и спектрофотометрии.

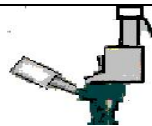
В оснащение станции, в зависимости от поставленных исследовательских задач, необходимо включать следующее:

- компьютер с монитором высококачественного разрешения изображения и платой захвата видеоизображения,
- комплект эпиобъективов с увеличением от 20х до 100х,
- спектрофотометрическая насадка и комплект светофильтров для люминесцентной микроскопии,
- программу обработки видеоизображений, оценки спектра люминесценции и интенсивности свечения микрообъектов.

Примерные требования к оборудованию и оснащению приведены в табл. 4.

Таблица 4

Требования к оборудованию и оснащению, имеющиеся отечественные прототипы

Наименование оборудования	Требования к оборудованию	Имеющиеся прототипы
Микроскоп Люминесцентный	тринокуляр, спектрофотометрическая насадка или счетчик фотонов, съемные профессиональные цифровые ПЗС-видеокамеры – цветная и черно-белая; источник излучения, возбуждающего флуоресценцию с диапазоном длин волн возбуждающего потока 250 –500 нм (лампа галогенная, лампа ртутная); лазерный источник излучения, возбуждающий флуоресценцию длинноволновой световой и коротковолновой ИК-области (прототип см. фирма «БИОСПЕК»).	 METAM  МСФУ-К Микроскоп-спектрофотометр ЛОМО
Насадка спектрофотометрическая	СФН-10, СФН-20 или др., с фотоэлектронным умножителем, позволяющие регистрировать и анализировать спектр в диапазоне длин волн 360 – 1000 нм. Монохроматор или спектрофотометр, состыкуемые и согласующиеся с люминесцентным микроскопом и компьютером.	 
Компьютер	Компьютер с оперативной памятью более 1000 Мб, частотой более 1,8 ГГц, CD-RW приводом с монитором высокого разрешения, платой видеозахвата.	«Pentium»

Продолжение табл. 4

Объективы	эпиобъективы с увеличением от 20х до 100х для работы в светлом и темном поле, в поляризованном свете и методом дифференциально-интерференционного контраста; объективы люминесцентные, длиннофокусные объективы с увеличением от 3х до 100х, длиннофокусные объективы ув. 3х, 5х, 20х, 40х, 70х для работы без иммерсии.	ОПА-11, ОЭ-25, ОЭ-16, ОЭ-25, ОЭ-16 и ОЭ-5
Окуляры	окуляр-микрометр, окуляры настроенные на бесконечность увеличением х 5, 6,3, 10, 15	Окуляры производства ЛОМО
Светофильтры	Набор запирающих, пропускающих в узком диапазоне длин волн светофильтров для люминесцентной микроскопии	Светофильтры производства ЛОМО
Программное обеспечение	Программа автоматического анализа изображений биологических препаратов, позволяющая производить измерения светопропускания, интенсивности флуоресценции клеток, записывать спектр флуоресценции, создавать ручную методики для решения стандартных пользовательских задач, связанных с измерениями изображения, классификацией объектов по плотности и другим заданным критериям, послойного измерения объектов, гранулометрии, архивирования и экспорта полученных рисунков, графиков и таблиц, видео и аудиоинформации, построения и анализа эритроцитарной, лейкоцитарной и тромбоцитарной гистограмм, измерения эритроцитов и их разделения на классы по размерам, для расчета среднего объема эритроцитов и тромбоцитов, их величины и сферичности.	<u>ВидеоТест-Морфология 4.0</u> (фирмы «Видеотест») позволяет автоматически проводить измерения эритроцитов в окрашенных мазках крови и получать ряд клеточных гистограмм, исследовать динамические характеристики микрообъектов, проводить статистическую обработку выбранных для контроля параметров.

Рабочая станция, использующая метод наблюдения биообъектов в УФ-лучах обладает увеличенной предельной разрешающей способностью микроскопии, т. е. лучшими характеристиками предельного разрешения микроскопа. Возможности микроскопических исследований расширяются за счёт того, что частицы многих веществ, прозрачные в видимом свете, сильно поглощают УФ-излучение определённых длин волн и, следова-

тельно, легко различимы в УФ изображениях. Использование ультрафиолетового источника дает возможность исследовать характерные спектры поглощения в УФ области ряда биологически активных веществ клеток (пиримидиновые и пуриновые основания, большинство витаминов, ферменты, аминокислоты, некоторые липиды, гормоны и др.) без использования химических красителей и маркеров.

Рабочая станция позволяет использовать *преимущества телевизионной микроскопии в исследовании длительно хранящихся препаратов крови и в оценке слабых и информационных воздействий на организм:*

- расширены возможности исследования целостных биообъектов и особенно нативных препаратов и живых клеток;
- возможно исследование биообъектов в динамике физиологических или иммуногематологических реакций при сочетании световой, поляризационной, лазерной и люминесцентной микроскопии;
- использование станции позволяет исследовать функциональное состояние объектов на нескольких светооптических каналах. Одновременно анализируется также форма биообъектов (клеток). В качестве динамических характеристик (маркеров), регистрируют скорость изменения собственных спектральных характеристик; изменения собственного спектра излучений во времени.
- облегчена оценка изменений оптических характеристик (поток проходящего света, поток отраженного света; поток света люминесценции; монохроматический поток проходящего света, монохроматический поток отраженного света, монохроматический поток люминесценции, спектрально–энергетические характеристики этих потоков), определяемые с помощью спектрофотометрической насадки с фотоэлектрическим умножителем;
- станция позволяет производить одновременную регистрацию изменений характеристик жидкокристаллической текстуры биообъекта, либо параметров кристаллизации биосубстратов, а также другие параметры, имеющие косвенную связь с функциональным состоянием;
- значительно упрощается решение проблемы экстраполяции гематологических данных с животных на человека;

Существенные количественные и качественные различия в показателях гемоиммунной системы различных видов животных и человека затрудняют сравнительную оценку реакций системы эритрона, лейкона а также тромбоцитарного ростка при воздействии на организм инфракрасного излучения, звуковой или неионизирующей радиации. В таких исследованиях при оценке воздействий электромагнитных факторов межвидовой перенос данных требует соблюдения равенства пропорций «размеры тела животного / длина волны излучения» и «размеры тела человека / длина волны излучения». Кроме того, должны учитываться глубины залегания (от поверхности тела) и массы органов кроветворения, иммунитета у представителей сравниваемых видов, что важно для оценки органо–тканевой удельной поглощенной мощности электромагнитного излучения и т.п.

Если сравнения касаются ожоговой, или какой либо другой травмы, то следует учитывать видовые различия в анатомии областей поражения, массу пораженных тканей и особенности иммуногематологических ответных реакций на поражение.

Выход из данных сложностей видится в оценке у сравниваемых видов не каких–либо отдельных клинико–лабораторных показателей, а в характеристике общего дисбаланса гемоиммунной системы. С этой целью при оценке стресс–реакций гемоиммунной системы по мембранотропным эффектам с помощью комплекса телевизионной микроскопии мы рекомендуем проводить количественную и качественную оценку распределения эритроцитов по группам дискоцитов, стоматоцитов, эхиноцитов, пойкило–шизоцитов и гемолизирующихся форм (квантитативная эритрограмма).

Параллельно может быть проведено ранжирование изменений, например, лейкоцитограммы по лейкоцитарному морфологическому показателю реактивности. Полученные данные микроскопии могут оцениваться в реальном масштабе времени с позиций гемоиммунной реакции клеточного типа и ее вывода стресс–фактором с отрицательного на граничный или положительный уровни.

В основу изложения предлагаемых в данном издании методов исследования отдельных функций и показателей реактивности организма положены недавно разработанные авторские и

традиционные лабораторные методики широкой практики. Использование микроскопии с использованием ПЗС-камер открывает новые возможности в изучении малоконтрастных препаратов, динамических микрообъектов и процессов в различных отраслях медицинской науки.

Ориентируясь на результаты использования предлагаемых в данной работе методов исследования медицинская служба, служба переливания крови, санитарно-гигиеническая, либо экологическая служба смогут своевременно провести поиск оптимальных маркеров изменения системы крови, отдельных ее показателей при заготовке и хранении препаратов донорской крови, а также способов восстановления пошатнувшегося, в результате «экологической агрессии» здоровья своих подопечных.

Для практического использования предлагаемых в книге методов необходимо определенное оснащение. *Минимизированный перечень* его предлагается ниже.

Необходимые реактивы и оборудование рабочего места для производства анализов:

а) *оснащение для нестационарного (передвижного) рабочего места:*

- стол, мойка, резиновые перчатки, дезраствор «Аналит» или его аналоги,

- укладка гематологическая для производства 10 или более анализов (скарификаторы, иглы или «копья» разового пользования для прокола пальца, спирт, вата, настойка йода, нашатырный спирт, штатив для 10 проб в микропробирках с 1–2 мл инкубационной или фиксирующей среды, микрочашки Петри однократного применения),

- 10 или более пипеток на 0,01 микролитра (объемом 1 сантиметр), стеклянные капилляры для постановки С-реактивного белка,

- инкубационные растворы – стерильные (изотонический раствор натрия хлорида), раствор альвезина, среда Хэнкса или 199, готовая к использованию, 5 % раствор уксусной кислоты, фильтровальная бумага, изоосмотический фосфатный или какодилатный буфер с Ph 7.25–7.35.

- силиконизированные пробирки, микропипетки с разовыми наконечниками, секундомер, лабораторные сигнальные часы;

– гемоцитометры типа стеклянных камер Гаряева – не менее 10 шт, предметные стекла для микроскопии – 100 шт., покровные стекла размером 18х18 мм или 22х22 мм, вазелин или вазелиновое масло, 25 % раствор глютарового альдегида – 1 мл, новокаин–порошок – 1 г. Необходимы также осветители, счетчик крови одиннадцати клавишный.

б) оснащение стационарного места:

то же, что и в пункте (а), с увеличением числа необходимых принадлежностей и объемов реактивов, в соответствии с предполагаемым объемом работ и планируемым к использованию методикам.

В стационарной лаборатории необходимо иметь спектрофотометрическую рабочую телевизионную станцию, позволяющую с помощью видеосистемы и компьютерного анализа проводить измерения линейных, угловых, яркостных и волновых величин биообъектов в интерактивном режиме.

При развертывании гематологической *стационарной лаборатории* необходимы акриловые прозрачные стандартные системы приготовления препаратов, типа системы для микроскопии мочи, например Фаст–Рид–10 (фирма БИОСИГМА–ЛАНТАН), микроцентрифуга, механические микродозаторы, электронные аналитические весы, ультразвуковая мойка лабораторной посуды, сухожаровой шкаф, например, фирмы ФИНБИО.

5. Основные регистрируемые с помощью рабочих станций характеристики эритрона и их значение в поддержании гомеостаза организма и состояния здоровья

Под *эритроном* понимают циркулирующий пул эритроцитов, с присущими ему количественными и качественными особенностями и характеристиками, а также эритроциты и их предшественники в костном мозге и других органах кроветворения. *Эритрон* функционально теснейшим образом связан с органами и процессами кроверазрушения, а также с системой гемоциркуляции, через которую он обеспечивает множество физиологических функций и адаптацию организма к условиям внешней среды. Собственно адаптивная функция «налагается» преимущественно на циркулирующий в сосудистом русле пул эритроцитов.

Основная составная часть *эритрона* – зрелые эритроциты. Эти клетки представляют собой двояковогнутые диски, у человека диаметром около 7 микрон. Они обладают высокой пластичностью и способны сильно деформироваться. Их цитолемма охватывает полужидкое содержимое, которое в нефиксированных эритроцитах выглядит гомогенным, с заметным движением темных и светлых участков, а в электронном микроскопе – мелкозернистым.

Поскольку клеточные органеллы теряются в процессе созревания, в зрелых эритроцитах они практически всегда отсутствуют. Химический состав эритроцитов, по сравнению с другими клетками, несложен. Они состоят на 60–62 % из воды, около 34 % по массе занимает гемоглобин и почти 6 % приходится на ряд ферментов, глюкозу и соли, преимущественно соли калия. Железосодержащий дыхательный пигмент гемоглобин, состоящий из 574 аминокислотных остатков – наиболее активный протеин в отношении связывания газов.

Каждая его молекула способна неустойчиво связать 4 молекулы кислорода или эквивалентное количество углекислого газа, а целый эритроцит при оптимальных условиях функционирования может принять более миллиарда молекул кислорода. Непрочное связывание газов и огромная поверхность эритроцитов (в совокупности – несколько тысяч квадратных метров) благоприятствуют быстрой диффузии газов в легких и тканях. Этому же способствует высокая пластичность клеток, облегчающая движение их в микроциркуляторном русле.

Упрощенный внутриклеточный метаболизм эритроцита состоит, по сути дела, из:

а) поддержания собственного существования (при помощи аденозинтрифосфата по механизму «натриевого насоса» мембрана клетки противодействует проникновению внутрь неё ионов натрия, а, следовательно, и угрозе лизиса);

б) поддержания заданного природой уровня функционирования гемоглобина (при помощи серии редуционных систем и глутатиона обеспечивается защита и регенерация гема и глобина).

Важна роль метгемоглобинредуктазы, поддерживающей гемоглобин в восстановленном состоянии. Энергетическое обеспечение всех этих процессов обеспечивается внутриклеточным

ферментативным расщеплением глюкозы. За 3–4 месяца депо этих ферментов исчерпывается и наступает старение эритроцитов. На 100–120 сутки негодные клетки элиминируются. Благодаря высокому уровню содержания в эритроцитах гемоглобина, они составляют одну из главных буферных систем крови.

Значительна роль эритроцитов в процессах радикального (перекисного) окисления ряда веществ в организме, в обмене не только глюкозы, но и других сахаров.

В капиллярном звене микроциркуляции эритроциты выполняют *специфическую информационную функцию*. Подсчитано, что при гематокрите = 50 % только канальная ёмкость передачи информации эритроцитами достигает 1250 бит/с. Здесь не учтена информация, которой оперируют эритроциты путем изменения величины своего отрицательного заряда.

К важнейшим функциям *эритрона* относится не только обеспечение всех клеток и тканей организма кислородом, но и освобождение организма от углекислого газа, окиси углерода и других газов, образующихся в процессе метаболизма. Внутри клеток различают несколько разновидностей гемоглобинов.

Связывание кислорода гемоглобином–А происходит согласно уравнению $Hb + O_2 = HbO_2$, описывающему обратимый процесс, обусловленный в основном парциальным давлением кислорода. В условиях нормобарии кровь поглощает в альвеолярном воздухе 18–21 об. % кислорода. Из этого количества часть кислорода отдается в капиллярах, поэтому в венозном кровотоке насыщение крови кислородом составляет 2/3–3/4. Отдача кислорода тканям регулируется напряжением в них углекислоты. Пониженное напряжение углекислоты ухудшает, а повышенное – улучшает отдачу кислорода. Гемоглобин с присоединившимся к нему кислородом (HbO_2) является почти в 70 раз более сильной кислотой, чем редуцированный гемоглобин. Поэтому другой важнейшей функцией эритроцитарной системы является функция регуляции кислотно–основного равновесия и выделения из организма углекислоты (Иванов К.П., 1972). В местах более высокого напряжения углекислоты последняя вытесняет более слабую кислоту – редуцированный гемоглобин – из его щелочных связей, а в лёгочных капиллярах оксигемоглобин вытесняет углекислоту из её связей с бикарбонатами.

Являясь носителями биологически чрезвычайно активных веществ, таких как катехоламины, ряда ферментов, например, пероксидазы, эритроциты обладают, кроме того, выраженными каталитическими свойствами.

По данным многих авторов приведенного ниже списка научных источников, постоянно находясь в циркуляторной системе, и обладая способностью к фиксации на своей поверхности и к всасыванию внутрь клетки различных веществ эритроциты выполняют транспортную роль в отношении различных групп биологически активных веществ:

а) биогенных аминов (гистамина, серотонина, метанефрина и норметанефрина, 5-гидроксииндолацетоновой кислоты);

б) цитокинов: интерлейкинов;

в) альфа-1-интерферона, гамма-интерферона, *факторов некроза опухоли* (TNF, TNF- β и их растворимых рецепторов);

г) онкомаркеров (раковоэмбрионального антигена, альфа-фетопротеина, антигенов СА-125, СА-15-3, СА-19-9, плацентарной щелочной фосфатазы, хромогранина и специфического антигена простаты);

д) ряда гормонов (*трийодтиронина*-Т-3, *тироксина*-Т-4, *тиреоидного гормона* TSH, *инсулина*, *С-пептида* и *проинсулина*, *хорионического гонадотропина* HCG, *лютеинизирующего гормона* (LH), *фолликулостимулирующего гормона* (FSH), прогестерона, 17-альфа-гидроксипрогестерона, эстрадиола и эстриола, пролактина, плацентарного лактогена, тестостерона, кортизола, адреналина и норадреналина, дегидроэпиандростерона, соматотропного гормона паратгормона, а также сексгормонсвязывающего глобулина, *инсулиноподобного фактора роста* (JGF-1) и протеина-1, *связывающего инсулиноподобный фактор роста* (IGFBP-1 JEMA);

е) антигенов (от аутоантигенов, до гетероантигенов бактерий, вирусов, простейших и гельминтов);

ж) антител к инсулину, антигенам островковых клеток, спермы, тиреоглобулину, двуспиральной ДНК и др.;

з) общего *иммуноглобулина* Е (Ig-E), специфических Ig-F, антител к антибиотикам, сульфониламидам, мышечным релаксантам, инсулинам, фармакологическим препаратам (ацетилсалициловой кислоте, парацетамолу, ипобруфену, пироксикаму, лидокаину и т.д.);

и) антител к антигенам клещей к аллергенам животных, эпителию кошки, собаки, перхоти лошади, коровы, эпителию морской свинки, мыши, крысы, хомяка, свиньи, овцы, кролика и др., перьям, к белкам и выделениям животных, в том числе специфических IgE к антигенам помета голубя, мочи крысы, помета канарейки, попугая неразлучника и др.;

к) антител к продуктам питания (к аллергенам яичного белка и яичному желтку, молоку, лактоальбуминам, казеину, сырам, к антигенам трески, окуня, сельди, лосося, форели, угря, краба, креветки, мидии, лобстера, к антигенам мяса свинины, говядины, гуся, утки, индейки, курицы, барана, к белкам злаков, фруктов, специй, пыльцы, профессиональных пылевых и многих домашних аллергенов).

При нарушениях иммунной системы, индуцированных воздействиями радиационных, токсических и других экологически вредных факторов, в том числе, при аутоиммунных расстройствах с активацией Т-клеток (например, в виде экспрессии HLA–DR антигена) нередко развиваются такие тяжелые состояния как апластическая анемия.

Информационно–обменная роль эритроцитов состоит также в том, что они постоянно и активно участвуют в масштабе организма в межрегиональном транспорте витаминов, гормонов, опиоидных пептидов – производных гемоглобина, ряда других биологически активных веществ. Значительна роль эритроцитов в широком спектре биохимических реакций с участием собственных ферментов (холинэстеразы, фосфатазы, нуклеозидфосфорилазы, аргиназы, пептидаз, угольной ангидразы, каталазы, цитохромоксидазы гликолитических и других ферментов).

Как известно, проблема изменения состояния здоровья и системы крови под влиянием малоинтенсивных, но длительно или постоянно действующих физических (новых преформированных) факторов приобретает государственный, характер.

По данным Санкт–Петербургского института мозга (1992) существующая радиационная нагрузка уменьшает энергообеспеченность тканей мозга в связи со снижением диффузного и локального кровотока, выражено уменьшает скорость метаболизма в головном мозгу, кровоснабжение коры головного мозга. По результатам определения биологического возраста Всероссийским центром экологической медицины сделан вывод, что воздействие

радиации в характерных для современной экологической обстановки малых дозах приводит к ускоренному старению организма. Так, при среднем возрасте ликвидаторов аварии на ЧАЭС в 1995 году равным $38,3 \pm 0,5$ года, их биологический возраст оказался больше на 17 лет, т.е. на 44 % (Алексанин С.С. и соавт., 2002).

Нарушения функционирования основных систем организма всегда сопровождаются различными изменениями в системе крови. У горожан, оказавшихся в новых бытовых условиях измененной экологии жилища они оказываются нередко близкими к таковым в профессиональных группах у людей, работающих в условиях вредных производств. Прежде всего, на новые условия существования отзывается *эритроцит*.

Эритроцит различными путями активно участвует в переносе информации ко всем участкам тела (табл. 5).

Таблица 5

Пути и способы переноса информации в системе крови

Установленные	Разрабатываемые
Жидкостный (водный)	Посредством излучений клеток и белков в разных диапазонах ЭМИ (ИК, СНЧ, светового и др), а также звука и инфразвука.
Ионный (работа сигнальных систем клеток, ионных каналов)	Конформационными изменениями молекул (белковых, белковых и гликолипидных комплексов).
Посредством переноса молекул кислорода, углекислого газа, окиси углерода, окислов азота, анионов и др.	Последовательным запуском ферментных систем
Изменениями интенсивности и характера обмена веществ (например, фосфоинозитидов, углеводов и др).	При помощи изменения активности процессов клеточного дыхания.
Изменениями транспорта гормонов, витаминов, других биологически активных веществ, различных метаболитов	Изменениями жидкокристаллического состояния внутриклеточных и внеклеточных биологических сред.
Изменениями параметров микроциркуляции клеток крови и миграции клеток в ткани	Посредством «светового» межклеточного «общения»

6. Использование рабочих станций для телевизионной микроскопии и спектрофотометрии для регистрации информационно значимых изменений эритрона при воздействии неблагоприятных факторов внешней среды

При действии на организм, введенных в практику человеком *новых преформированных факторов* (НПФ), отмечаются зарядовые, химические, ультраструктурные и морфологические изменения *эритрона*, сдвиги в функциях кроветворения и кроверазрушения, ведущие к неадекватному кроветворению.

Эритроцитам, как и другим клеткам организма присущ свой жизненный цикл. На последних его этапах клетка гибнет. Клеточная гибель имеет две основные разновидности в отношении эритроцитов: *эритродиерез* (лизис, некроз) и *апоптоз* – запрограммированная медленная гибель клетки в определенные этапы функционирования макроорганизма. При среднеинтенсивных, не губительных для организма воздействиях, можно наблюдать изменения качественных и скоростных характеристик *апоптоза* эритроцитов, обусловленных внеэритроцитарными «программами» – функцией органов кроветворения и кроверазрушения, физико-химическими особенностями жидкой среды в циркуляторном русле, изменениями функций нервной, эндокринной и других систем.

Программа жизни эритроцита рассчитана в обычных условиях примерно на четыре месяца. Однако в процессах адаптации организма к различным стресс-факторам, эта программа оказывается под влиянием множественных надсистемных – надэритроцитарных регулирующих факторов: нейромодуляторов, цитокинов и цитомединов, «белков стресса», эндонуклеаз различных клеток, содержания внутриклеточного кальция и других элементов, активности гормональных нейромедиаторных мессенджеров, процессов энергообмена.

На уровне клеток-предшественников эритроцитов, на геномном уровне в *апоптоз* могут вмешиваться эритропоэтин, протеинкиназа-С (влияющая на процессы транскрипции), а также обусловленные экологическими факторами изменения обмена ионов Ca^{2+} (Козинец Г.А., 1997).

Слабые НПФ могут оказывать положительное и отрицательное влияние как на указанные внеэритроцитарные процессы, так и на собственно эритроциты. Непосредственная модификация эритроцитов, как и изменение функций и количества перечисленных естественных модуляторов эритроапоптоза могут, в первую очередь, изменять ультраструктуру, конфигурацию и функциональные паттерны этих клеток.

К наиболее важным ранним проявлениям экологической модификации эритроапоптоза можно отнести:

- изменение текучести цитозоля, перераспределение гемоглобина в различных частях клетки, изменения спектриноподобных белков и появление локальных изменений клеточного тора, которые ведут к формированию условно–полиморфных стом;
- изменение всей клетки: превращение диско–тороидальной клетки в недискоидную, мембранная деструкция и частичный секторальный эритродиерез;
- изменение активности межклеточных взаимодействий, изменяющих состояние неспецифической резистентности организма.

К часто встречающимся феноменам изменения эритрона при неблагоприятных экологических воздействиях следует отнести:

- изменения основных функций эритроцитов и взаимосвязанных с ними гемореологических характеристик крови;
- изменение молекулярных и надмолекулярных процессов на мембранном уровне;
- ультраструктурные и морфологические изменения в процессах эритродиереза, неадекватного кроветворения;
- эритроцитзависимые нарушения транспорта веществ и межклеточных взаимодействий.

Возникновение перечисленных нарушений может приводить к возникновению малокровия (анемий).

Заболеваемость *анемиями* в последние годы приобрела тенденцию к росту. Обычно под анемиями понимаются состояния, характеризующиеся уменьшением количества эритроцитов и снижением содержания гемоглобина в единице объема крови. Однако на ранних стадиях формирования анемий, под влиянием воздействия многочисленных физических и химических факто-

ров, прежде всего, наблюдается изменение ультраструктуры, формы, величины и окраски той или иной части эритроцитов.

В периферической крови появляются ядерные предстадии эритроцитов (нормобласты, мегалобласты и др.), неполностью гемоглобинизированные и незрелые формы эритроцитов, клетки с различными включениями (сидероциты, азурофильно-пунктированные эритроциты), появляются люминесцирующие эритроциты – флюоресциты. Возникновение синдрома малокровия сопровождается нарушением окислительных процессов в масштабе всего организма, гипоксией с развитием целой серии неблагоприятных её последствий. Поступление в кровь недоокисленных продуктов обмена веществ ухудшает центральную регуляцию кровообращения, работу сердца, возникает спазм периферических сосудов, изменяется проницаемость капиллярных стенок для газов крови. Вначале заболевания активируется, а затем истощается активность железосодержащих энзимов – потенциальных триггеров кислородных реакций (цитохромоксидазы, каталазы), усиливается бескислородное дыхание в тканях с участием глутатиона. Изменяется эритропоэтическая функция костного мозга. В костномозговых пунктатах количественное соотношение эритро- и лейкобластических его элементов отклоняется от нормы, меняясь в пользу эритробластов с 1:3 до 1:1 и даже 3:1. Наблюдается также извращение нормального кроветворения с его переходом с нормобластического на мегалобластический тип.

При длительных интоксикациях и в тяжелых экологических условиях всё чаще регистрируются гипопластические, апластические и диспластические анемии. Нередки радиационные и химические (фенобарбиталовые и др.) V_{12} –(фолиево) дефицитные анемии, бензолные и радиационные гипопластические анемии, вторичные токсические анемии, обусловленные экзоэритроцитарными токсикантами, мышьяковисто-водородная, мышьяковисто-натриевая, фосфорная, фенил-гидразиновая, сапониновая, свинцовая и другие. Вторичные экологически обусловленные анемии могут возникать как следствие нарушения различными НПФ структуры и функции эритроцитарных мембран, вторичных эритроцитознзимопатий (с дефицитом глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, пируваткиназы и других ферментов), гемоглобинопатий. В тяжелых случаях не исключено возникновение миелотоксиче-

ских анемий, особенно при отравлении производными бензола, дифенина, фенилгидразина и т.д.

В патогенезе *вторичных анемий* все большее значение приобретают последствия неблагоприятного воздействия на организм разнообразных сочетаний физических и химических экофакторов, несбалансированного, некачественного и недостаточного питания. В таких случаях также нередко отмечается утрата организмом части эритроцитов, а также нарушения синтеза гемоглобинов, процесса и скорости образования новых эритроцитов, повышенная в течение некоторого времени деструкция различных участков клеток, снижение активности эритропоэза в костном мозге. Последний механизм характерен воздействиям нерадиационных НПФ в сочетании с облучением организма ионизирующей радиацией, даже в невысоких дозах.

Являясь подсистемой для гемоиммунной системы организма, *эритроцит* функционирует и как самостоятельная самоорганизующаяся система, состоящая из циркулирующих по сосудам эритроцитов, участков красного костного мозга – продуцентов эритроцитов, макро– и микрососудистого русла (места основного функционирования эритроцитов), различных отделов ретикулоэндотелиальной системы, занимающихся утилизацией эритроцитов. Между этими участками системы в норме имеют место гармоничные причинно–следственные отношения, которым I.W. Forrester дал название «петли обратных связей», поскольку в этих петлях, как замкнутых цепочках взаимодействия, могут развиваться явления не только находящиеся в связи с предшествующими событиями, но и не находящиеся в такой связи.

По нашему мнению, состояние *эритроцита* в организме при воздействии неблагоприятных экологических факторов, определяются функциональной активностью его вышеуказанных подсистем или звеньев цепи. Каждый из них может оказаться мишенью того или иного НПФ, способного влиять на самые разнообразные биофизические, биохимические, иммунологические и другие процессы в различных клетках, тканях и органах.

Если же из–за воздействия на организм НПФ развивается гипоксия, это отражается не только на газообмене, электролитном балансе, но и на функциях основных систем организма, включая нервную и мышечную. Выраженное снижение числа циркули-

рующих по сосудистой системе эритроцитов, хотя и вызывает включение компенсаторных реакций (транзиторное усиление пролиферации эритроцитов, гиперплазию красного костного мозга и др.), но, нередко, сопровождается нарушениями капиллярного кровотока, вплоть до спазмов и парезов артериол, полнокровия венул, расширения капилляров со сладжированием и стазированием кровотока в них. Подобные изменения захватывают, в первую очередь, жизненно важные органы, что хорошо изучено на примерах глобальных чрезвычайных ситуаций.

Под действием более «мягких» факторов – температуры, токсикантов и слабоинтенсивных электромагнитных волн отмечается снижение функциональных показателей эритрона, нарушение микроциркуляции эритроцитов, изменение способности клеточных мембран релаксировать в изменившихся условиях внутренней среды. Подобные изменения являются ранней ответной реакцией крови и всего организма, нередко предшествующей развитию у индивидуума клинически выраженной патологии.

Эритроциты, как клетки активно участвующие в электрических процессах в организме, оказываются чувствительными к воздействию электрического поля. Под действием положительно заряженных аналогов ремантадина эритроциты, даже *in vitro*, превращаются в *стоматоциты*, а под действием отрицательно заряженных аналогов – в *эхиноциты*.

Экстремальные НПФ, длительность хранения эритроцитов в консервирующих растворах снижают текучие свойства эритроцитов, что может приводить к реологической, «токсической закупорке» капилляров в тех или иных тканях, а разрушение эритроцитарных оболочек может вести к выбросу в кровоток липопротеидных структур, обладающих тромбопластиновой активностью (Черницкий Е.А, Воробей, А.В., 1981).

Научные исследования позволяют считать установленным, что экологически значимые НПФ могут оказывать влияние на составную часть крови – *эритрон* на следующих уровнях:

а) *на уровне социума* – в отношении «красного ростка» крови в настоящее время это проявляется в увеличении количества людей с анемиями;

б) *на уровне индивидуума* – могут возникать неблагоприятные процессы с участием *эритрона* – гипоксия и гипоксемия,

расстройства микроциркуляции, дисфункции основных органов и тканей;

в) *на уровне гемоиммунной системы* – возможны нарушения межклеточного взаимодействия между эритроцитами, тромбоцитами и ядросодержащими клетками крови, эндотелия и других тканей, что приводит к изменению существенных характеристик клеточного и тканевого электрогенеза, иммуногенеза, транспорта гормонов, широкого спектра других биологически активных веществ и химических элементов;

г) *на уровне гемоциркуляции* – регистрируются региональные расстройства циркуляции эритроцитов, изменяется вязкость крови, нарушаются соотношения равновесия между свертывающей и антисвертывающей системой;

д) *на уровне клеток* – снижается пластичность клеточных мембран, изменяются размеры и конфигурация клеток, снижается коэффициент их полезного действия в газотранспортных процессах, в транспорте других веществ, изменяется биохимическая активность внутриклеточных и тканевых процессов. Эритроциты становятся «чувствительными» к влияниям экстракорпоральных экстремальных факторов (различных излучений, токсикантов, бактериальной и вирусной агрессии). Частичное повреждение клеточных мембран эритроцитов приводит к аутосенсibilизации организма продуктами деструкции белков плазмолеммы, способствует повышению в сыворотке крови концентрации биологически активных молекул средней массы.

е) *на уровне генетического аппарата* – регистрируются изменения генома на уровне клеток–предшественников «красного ростка» крови. Они могут приводить к появлению генетически обусловленных анемий, изменениям механизмов геномной реорганизации и экспрессии генов, в более легких случаях – к появлению в циркулирующем сосудистом русле эритроцитов с измененным *апоптозом* – программой естественного функционирования и гибели этих клеток.

В последнее время возрастает *негативный вклад электромагнитных излучений в повышение уровня общей и гематологической заболеваемости*.

Экологическая роль электромагнитных излучений впервые была подчеркнута В.И. Вернадским (1926), который писал, что электромагнитные волны оптического диапазона «построили

биосферу» и сформировали земные экосистемы. В.И. Коробко (1988) было обращено внимание на гармонический состав оптической области солнечного спектра: диапазон волн от 300 нм до 800 нм делится зелёным светом (500 нм) в отношении близком к *«золотой пропорции»*. По формуле смещения Вина энергетический максимум фотосферы Солнца (температура 6000° К) расположен на длине волны около 500 нм (вернее, 481 нм). Выявляется полное совпадение указанной спектральной фибоначчевой асимметрии цвета со спектрами поглощения этих электромагнитных волн хлорофиллами. Прослеживается та же гармоническая картина в содержании основного продукта фотосинтеза в зелёном листе растений – кислорода атмосферного воздуха, а также в альвеолярном воздухе теплокровных животных, а далее – в артериальной и венозной крови. Следовательно, имеется естественный кислородный каскад, выдержанный в *«золотой пропорции»*, который прослеживается в организме вплоть до гемоглобина эритроцитов, его кислородосвязующих свойств и структуры. Такая гармония возможна лишь в нормальной экологической среде. Однако она может нарушаться даже в естественных условиях. Так, при появлении пятен на Солнце или при хромосферных вспышках, когда по данным А. Смита (1961) интенсивность радиоизлучения возрастает в 1000 раз, возможны самые серьёзные дисгармонические явления, в том числе увеличение заболеваемости, вплоть до пандемий (Чижевский А.Л., 1959).

В настоящее время искусственные радиоизлучения по мощности нередко намного превышают радиовсплески активного Солнца. Кроме того, они, как правило, модулированы по частоте или по амплитуде. Их источниками являются средства связи, телевидения, радиолокации, всевозможные промышленные энергетические установки. Всё большие популяции людей с детских лет подвергаются интенсивному облучению неионизирующими излучениями СНЧ (50 Гц), НЧ, ВЧ, УВЧ и СВЧ диапазонов.

Установлено активное биотропное влияние на человека электрических полей низкой частоты, в основе которых лежит появление в организме токов смещения и усиление колебаний различных ионов. Особенностью этого воздействия в настоящее время, в отличие от прежних лет, является реальность не однофакторного, а многофакторного неблагоприятного экологического воздействия на организм. НПФ способны вносить искажения в естественную адаптацию человека (летом – к жаре, зимой к холоду).

Экспериментальным путём (Суббота А.Г., 1996) доказано, что радиоволны даже малых (нетепловых уровней) интенсивностей способны срывать адаптацию организма к различным физическим и химическим факторам, а в случае компенсации нарушенных обычными заболеваниями функций – вызывать их декомпенсацию и обострение ранее перенесённых заболеваний. В этих случаях, наряду с изменениями нервно-рефлекторной деятельности, артериального давления, показателей электрокардиограммы, пневмограмм и др. выявляются дисгармонические изменения в составе эритроцитов различной конфигурации, циркулирующих в периферической крови, на что ранее не обращалось достаточного внимания. Установлено, что СВЧ-электромагнитное излучение, даже нетермогенных уровней, при пролонгированном (более десятков минут) воздействии вызывает частично обратимую модификацию эритроцитарных мембран и способствует сокращению срока циркуляции эритроцитов в сосудистом русле.

Хорошо известно, что химические вещества (особенно, токсиканты) при воздействии на организм совместно с электромагнитными излучениями значительно усиливают неблагоприятные изменения в системе красной крови и способствуют анемизации всё большего числа городских жителей.

Для индикации начальных сдвигов в состоянии организма целесообразно использовать следующие методы исследования *эритрона*, которые позволяют прямо или косвенно оценить работу различных информационных систем крови (табл. 6).

Кроме того, клеточные дисфункции отражаются на изменении газотранспортной активности эритроцитов, текучести цитозоля, перераспределении гемоглобина в различных участках клетки, изменении спектринового клеточного комплекса с появлением *локальных деформаций клеточного тора*, вплоть до образования *условно-полиморфных стом*. Могут наблюдаться различные виды трансформации клеток с частичной мембранной деструкцией, секторальным эритродиерезом. Начальные проявления этих процессов легко регистрируют методами современной видеотелевизионной микроскопии и микроденситометрии. Так в эритроцитах длительно хранящейся крови наблюдают за изменением плотности торообразующей части.

Информационные (сигнальные) системы крови

Информационные системы, работающие по принципу обратных связей (cross–talking)	Локализация
ферментные;	Плазма, различные части клеток, митохондрии.
антигенного гомеостаза и синтеза антител;	То же.
на основе работы «живых» жидких кристаллов, изменения водно–электролитного состояния	Плазма крови, цитоплазма клетки, фосфолипидные и белковые слои мембран.
стероидных и тиреоидных гормонов, способных в клеточном ядре изменять экспрессию белков и активировать рецепторы R_2 эта система обладает коэффициентом усиления сигнала до 10^3 , общее усиление сигнала в масштабах клетки может достигать $10^6–10^{12}$.	Проникают через мембрану к ядру, зоны цитоплазматических рецепторов R_2 .
ГТФ–связывающих белков (Gr), участвует в передаче информации по мембранам при помощи белков–мишеней – (G_i^p);	Плазматическая мембрана с рецепторами нейромедиаторов и пептидных гормонов, потенциалоперируемые ионные каналы.
вторичных посредников (M), модифицирующих активность цитоплазматических белков–мишеней T_2 .	Цитоплазма
Стереоспецифичных стимулов (химических, электрических, тепловых) рецепторов;	Плазма, клетки, внутриклеточные мембраны.
ионных каналов цитоплазмы, разных по чувствительности к изменениям мембранного потенциала;	Цитоплазма.
вторичных посредников (cAMP, cGMP); короткодистантных гормонов (простагландины, лейкотриены), связанных с активацией фосфолипазы A_2	Митохондрии

При повреждении наружного или внутреннего листов мембраны в торообразующей части клетки наблюдаются феномены слияния клеточных мембран двух и более эритроцитов, выпячивания локальных участков наружной торообразующей мембраны, потеря мембранного вещества по типу отшнуровки (феномен «шапки Полишенеля»), феномен «прерывистости тора» с потерей оптической плотности внутреннего или наружного листка мембраны эритроцита. Непосредственно после слабых и информационных воздействий легко регистрируются изменения конфигурации клеток, их цветовой насыщенности, флуоресценции, характера межклеточных взаимодействий, приводя-

ций к гибели или распаду части клеток (реакции АБОК и формирования клеточных теней), а позднее наблюдаются изменение эритропоэтической функции костного мозга, процессов созревания и антигенной дифференцировки.

У эритроцитов изменяется экспрессия антигенов CD36, CD35, CD44–кластеров дифференцировки и гликофорина А. Спектр возможных изменений в этом отношении клеток белого ряда и тромбоцитов предположительно более широк. Конкретная информация по этому вопросу может быть получена при использовании в научно–исследовательской и диагностической практике методик фенотипирования.

К востребованным практикой методам оценки *эритрона* относят экспресс–исследования физико–химических и ультраструктурных характеристик мембран эритроцитов и их составных частей, экспресс–оценку температурной, осмотической и механической устойчивости (прочности) эритроцитарных мембран, определение электрофоретических характеристик эритроцитов, их трансмембранного электрического или электрокинетического потенциала, косвенную оценку функций ионных каналов этих клеток, флюоресцентные методы тестирования различных функциональных и морфологических характеристик эритрона.

Широкую информацию по этим вопросам можно получить при использовании *телевизионной рабочей станции* для оценки флуоресценции. Возникла также возможность оценки свечения клеток крови и самоорганизации элементов крови в результате с открывающейся их способностью к «усвоению энергоинформационных стимулов» в зонах неустойчивости при фазовых переходах.

Считается, что любая система из взаимодействующих частиц является открытой по отношению к внешнему энергетическому воздействию. В крови с массой элементарных частиц половина энергии от электромагнитных волн (внешнего поля) может перейти в потенциальную энергию структуры системы частиц. Другая половина (вернее некоторая часть) энергии переходит в спектр излучения. В такой среде, как кровь внешние воздействия стимулируют возникновение флуктуационных областей с меньшей плотностью среды – «*дилатон*», либо с большей плотностью – «*компрессон*» по А.П. Смирнову. В зоне *дилатона* происходит накопление энергии, в *компрессоне* создаются усло-

вия для ее уменьшения и отражения. В жидкой части крови – плазме создаются условия для разрушения или роста кристаллитов, при этом, из гипотезы А.П. Смирнова вытекает возможность накопления энергии в уровнях, соответствующих кавитационным явлениям.

Предсказанные зоны *дилатона* и *компрессона* можно обнаружить в массе стекла и в препаратах крови для морфологических исследований.

При тщательной обработке стекол и их шлифовке приготовление мазков приводит к своеобразной «материализации» *дилатонов* и *компрессонов* в микроскопических участках плазмы крови. Следы ряда *дилатонов* и *компрессонов* – участки измененного вещества представляют собой линейные структуры («лучи», Л-структуры) в которых последовательно, друг за другом располагаются полулунные волновые гребни (вероятно, измененные следы участков, где имели место наиболее резкие перепады энергии). Эти гребни имеют полулунную форму значительной ширины. Расстояние между гребнями (зонами компрессона) обычно составляет от 1,5 до 3 мкм.

При расчете длины волны по формуле: $\lambda = \frac{C}{f}$,

расчетная частота чередований зон *компрессонов* оказалась в порядке 10^{14} Гц ($f = \lambda C = 3,10^8 \times 10^6 = 3,10^{14}$), то есть описываемое явление (рис. 5) находится в районе инфракрасных частот (теплового излучения).

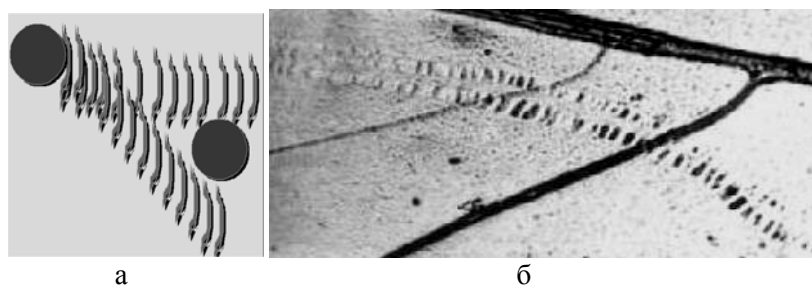


Рис. 5. Характерные Л-структуры в препаратах:
а – схема, б – световая микроскопия, ув. 90.

При рассмотрении возбужденной УФ-излучением люминесценции клеток может быть выявлена функциональная неравнозначность эритроцитов по этому признаку, либо различия в реакции на слабые воздействия отдельных клеток из всей популяции.

При оценке обычного мазка крови (рассматривается зона стабильности мазка) флуоресценция может позволить наблюдать следующие эффекты:

– в норме можно наблюдать асимметрию желто-зеленой и голубой естественной флуоресценции эритроцита (аутофлуоресценции), причем особенно ярко светится наружная часть тора, что позволяет сравнить это свечение с сиянием луны после новолуния (рис. 6).

Эритроциты недискоидной конфигурации, особенно эхиноциты, имели неравномерные по яркости участки свечения. Наиболее ярко люминесцировали зоны выпячиваний (выростов) и спикул клеток, находящихся в зоне светящегося «полулуния».

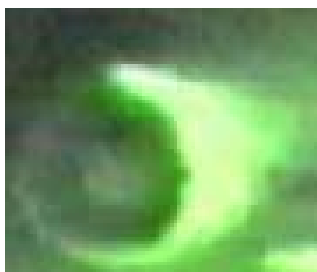


Рис. 6. Свечение дискоцитов наподобие «полулуния». Телевизионная микроскопия, ув. 600.

В конце 90-х годов на рабочей станции В.Е. Куликова мы наблюдали феномен направленной, наподобие «прожекторной» флуоресценции различных клеток крови. При этом, в отдельных клетках или в их группах (лимфоциты, полиморфно-ядерные лейкоциты и, особенно, эритроциты) вторичное излучение выходит одним, двумя или тремя расходящимися потоками. Длина

этих зон оказывалась сравнимой с размерами клеток и даже превышала их диаметры (рис. 7).

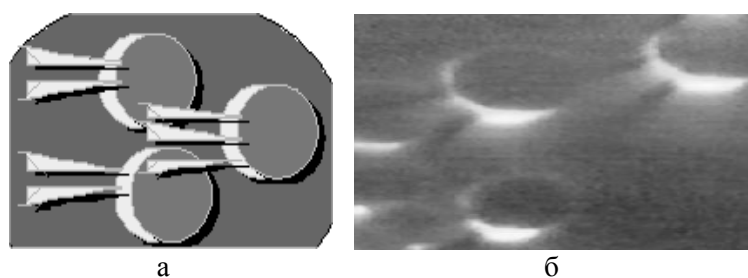


Рис. 7. Свечение эритроцитов по типу «пржекторной» флуоресценции: а – схема, б – световая флуоресцентная микроскопия, ув. 460

При оценке флуоресценции «переживающих» эритроцитов с помощью черно-белой ПЗС-камеры указанные «пржекторные» зоны представляются как бы разрывами в более светлой «короне» вокруг эритроцитов. Поскольку этот эффект наблюдался и в мельчайших взвесьях, приготовленных из куриного желтка (но не белка) можно предположить, что этот феномен связан с фосфолипидами. Используемая рабочая станция позволяет исследовать полиморфизма клеток в УФ-лучах и наблюдать в популяции эритроцитов различно светящиеся клетки. На рис. 8. представлены *дискоциты* с интенсивным свечением торообразующей зоны, а также практически не люминесцирующие клетки.

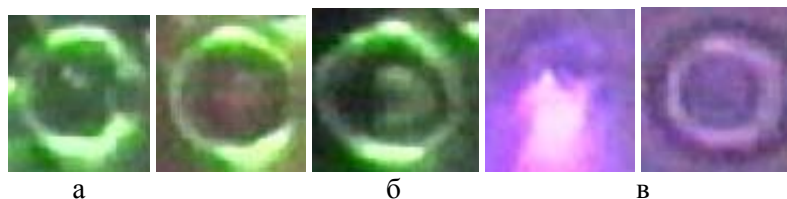


Рис. 8. Полиморфизм свечения эритроцитов: а – аутофлуоресценция дискоцитов; б – «выброс» флуоресцентного света эритроцитом в процессе обезвоживания, в – слабая флуоресценция дискоцита, ув. 500.

Несколько лет тому исследованы также особенности свечения эритроцитов, выстраивающих краевую линию в плоскостных препаратах. Установлено, что в препаратах крови практически здоровых людей эритроциты краевой линии разброс в характеристиках флуоресценции эритроцитов небольшой, несмотря на то, что у отдельных лиц в зоне КЛ преобладают вытянутые в форме параллелепипеда клетки, а у других – клетки в форме трапеции.

Различия в интенсивности аутофлуоресценции эритроцитов как в сторону ее увеличения, так и снижения легко наблюдать при исследовании крови больных. Свечение обычно усиливается у частично дегемоглобинизированных эритроцитов и у части *пойкилоцитов*, и, наоборот снижается у другой части *пойкилоцитов* и клеток вытолкнутых за пределы краевой линии.

ГЛАВА III

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ЭРИТРОНА

1. Клинико–экспериментальные методы исследования эритрона

В повседневных исследованиях должны использоваться распространенные (рутинные) показатели состояния красного ростка крови, к которым относят определение количества *эритроцитов* (RBC), *гемоглобина* (HGB), *среднего объема эритроцитов* (MCV), *среднего содержания гемоглобина в эритроцитах* (MCHC), *широты разброса эритроцитов по объему* (RDV).

Эти показатели могут определяться многочисленными способами, однако целесообразным является их одномоментное определение с помощью гематологических анализаторов, например, AL–816.

Для их определения часто применяется импедансный способ: в апертуре измерительной части прибора, по которой проходит взвесь клеток крови в изотонической среде, создается электрическое поле. Клетка, проходящая через апертуру, вызывает повышение сопротивления, прямо пропорциональное ее размеру.

Для определения параметров гематокрита, среднего объема эритроцитов и других производных индексов прибор измеряет величину каждого импульса, вызванного прохождением клеток через апертуру, и анализирует связь высоты импульса с размерными характеристиками клетки.

Концентрация гемоглобина измеряется интегральным способом, т.е. оцениваются все типы гемоглобина одновременно, методом колориметрии после лизиса эритроцитов. Измерение проводится по абсорбции света на длинах волн 505–575 нм и связывается с нулевым уровнем.

Гематокрит в современных приборах рассчитывают автоматически по формуле:

$$\text{HCT, \%} = \text{RBC (в пиколитре)} \times \text{MCV (в фемтолитре)} / 100.$$

Средний объем эритроцитов (MCV) подсчитывается автоматически по шкале для клеток с идеальной поверхностью и деформируемостью (следовательно, имеет место завышение параметра для клеток неправильной формы).

МСН определяется по формуле:

МСН (в пикограммах HGB (в г/децилитр)х100/RBC (в пиколитре).

Используется следующая формула для определения МСНС:

МСНС (в г/децилитр)=HGB (в г/децилитр)х100 НСТ (%)

Аппараты и реактивы: гематологический анализатор (типа AL-816 или др.), изотонический раствор натрия хлорида, набор для забора крови, пробирки (вакуумные контейнеры), обработанные ЭДТА для предотвращения быстрого свертывания крови.

Ход определения: венозная или капиллярная кровь забирается в пробирки с ЭДТА (из комплекта аппарата), разводится изотоническим раствором и анализируется при помощи аппарата-анализатора в соответствии с инструкцией.

Оценка: к нормоцитам относят эритроциты, объем которых составляет 85–95 куб. микрон. Возможные колебания от 30 (предельный объем тромбоцитов) до 120 куб. микрон (минимальный объем лейкоцитов). В иных случаях автоматический анализ неточен. Производные индексы оцениваются в соответствии с принятыми в практической гематологии нормами.

2. Определение Ph эритроцитов в капиллярной крови по Г.Х. Пятницкой и соавт.

Эритроциты капиллярной крови подвергаются центрифугированию для отделения от плазмы крови, лизируются замораживанием, рН определяется по обычной методике Аструпа для исследования кислотно-основного состояния крови.

Аппараты и реактивы: стеклянные капиллярные электроды (G-297), прибор АМЕ-1, аппарат НЕМ фирмы «Радиометр», герметизирующая замазка.

Ход определения: капиллярную кровь набирают в гепаринизированные стеклянные капилляры из пальца, после его прогревания в течение 5 мин. на водяной бане при 40–42° С. Капилля-

ры герметизируют замазкой или пластилином и центрифугируют при комнатной температуре 10 мин при 5700g (7900 об/мин). После этого участок капилляра с плазмой отпиливают на 1 мм ниже границы плазмы. Оставшиеся эритроциты гемолизируют трехкратным замораживанием и оттаиванием (например, с помощью аппарата НЕМ фирмы «Радиометр»).

Определение Ph эритроцитов производят стеклянным капиллярным электродом (G-297) на приборе АМЕ-1 или иных, при 37° С. Одновременно, по обычной методике может определяться кислотно-основное состояние цельной крови. Воспроизводимость метода – 0,6 %.

Оценка: величина Ph эритроцитов отражает изменение дыхательного и метаболического обменных компонентов эритроцитов крови.

3. Телевизионная микроскопия в оценке фракционной скорости оседания эритроцитов (ФСОЭ)

При появлении во внутренних средах организма и, особенно, крови конформированных белков, антител и антигенов экзо- и эндогенного происхождения, при изменении ультраструктуры и функций клеточных мембран под влиянием различных физических факторов и стрессорных агентов, при нарушении вязкости крови вследствие изменения водного обмена и других причин изменяется скорость оседания эритроцитов в капиллярах (или тонкостенных стеклянных капиллярах для определения СРБ и т.п.), регистрируемая через определённые промежутки времени.

Аппараты и реактивы: микроскоп, развернутый на 90 градусов, принадлежности для взятия крови из пальца, аппарат Панченкова, часы, 5 % раствор трехзамещенного натрия цитрата.

Ход определения: после прокола пальца смешивают полученную кровь с раствором цитрата натрия в пропорции 4:1. Цитратной кровью заполняют капилляр Панченкова и ставят его в штатив в вертикальном положении. Методом цейтраферной съемки или с помощью видеокамеры через каждые 15 мин регистрируют видеозапись характера оседания эритроцитов через световой канал микроскопа в течение двух часов.

Оценка: различают 4 типа изменения ФСОЭ:

– *реактивный*, свойственен нормальному состоянию организма, когда скорость оседания эритроцитов за каждые 15 мин. практически одинакова, а различия между измеряемыми временными интервалами не превышают 1–3 мм;

– *ареактивный*, если под влиянием неблагоприятных экологических воздействий СОЭ в течение всех 15 минутных промежутков равномерно замедлена;

– *гипореактивный*, если максимальная скорость оседания эритроцитов обнаруживается в последнюю четверть первого часа и в первую четверть второго часа (четвертый и пятый пятнадцатиминутные промежутки); это свидетельствует об умеренном снижении общей реактивности организма под влиянием исследуемого воздействия;

– *гиперреактивный*, обнаруживаемый при различной патологии с выраженным воспалительным компонентом и сопровождаемый максимальным оседанием клеток во второй и третьей четверти часа. При появлении в организме белков острой фазы, при развитии патологии с выраженным воспалительным компонентом максимальное оседание наблюдается в первую и во вторую четверть часа.

При необходимости исследования влияния на скорость оседания эритроцитов ЭМИ и других физических факторов ФСОЭ определяют дважды до и после исследуемого воздействия. Об изменении скорости оседания эритроцитов под влиянием исследуемого агента в этом случае говорят, если ускорение СОЭ более 3 мм/ч регистрируется не менее, чем в двух 15-минутных интервалах.

Возможности исследования ФСОЭ повышается при использовании рабочей станции для телевизионной микроскопии. При этом становится возможным изучение процессов циркуляции эритроцитов в капиллярах по механизму неустойчивости Бернара в динамике. В зависимости от задач исследования дополнительно может производиться видеозапись характера циркуляции эритроцитов различной конфигурации в капиллярах в течение заранее заданного промежутка времени. Оценка характера оседания эритроцитов различной конфигурации облегчается при автоматической регистрации результатов наблюдения по заданной компьютерной программе.

4. Экспресс–метод косвенной оценки метгемоглобинообразования в эритроцитах крови (модификация метода Л.В. Филёва и др.)

Усиление метгемоглобинообразования в организме приводит к повышению в крови числа шиповидных клеток – эхиноцитов и усилению интенсивности в спектре поглощения от 400 до 650 нм на длине волны 630 нм. Обе эти характеристики оцениваются микроцитометрическим методом.

Аппаратура и реактивы: рабочая станция цитофлуориметры, предметные стёкла, набор для забора крови из пальца. Рабочая станция для телевизионной микроскопии со спектрофотометрической насадкой (типа СФН–10) или спектрограф с монохроматором.

Ход определения: кровь в количестве 0,01 мкл забирается из пальца, на предметном стекле делается мазок, который высушивается на воздухе без фиксации и окраски.

На первом этапе методом световой микроскопии при увеличении до 900–1350 подсчитывается процент *эхиноцитов* (ведется подсчет 1000 эритроцитов расположенных отдельно, в один слой).

На втором этапе с помощью прибора МЦФУ–1, либо рабочей станции на основе люминесцентного микроскопа со спектрофотометрическими анализаторами спектра записывают спектры поглощения отдельно *дискоцитов*, *эхиноцитов* в диапазоне длин волн от 400 до 650 нм. Используют увеличение микроскопа 50х7х1,5 и клеточный зонд 0,5 мм.

В спектрах *эхиноцитов* ярко выражена длинноволновая полоса с максимумом 630 нм, типичная для метгемоглобина. В спектрах *дискоцитов* она слаба, либо её нет вообще.

Диагностическое значение: образование метгемоглобина в эритроцитах наблюдается при поступлении в организм химических окислителей, нитробензола, анилина, при воздействии феррицианида калия, некоторых физических факторов (ультразвук и др.), при нарушении азотистого обмена. Это ухудшает транспорт кислорода, поскольку часть гемоглобина выключается из дыхательного цикла. У здорового человека в сутки окисление общего гемоглобина в метгемоглобин составляет 0,5–3 %

от общего гемоглобина. Метгемоглобинообразование в эритроцитах контролируется системами глутатиона и супероксиддисмутазы, поэтому повышение в эритроцитах метгемоглобина и увеличение в крови числа эритроцитов, несущих метгемоглобин в повышенных концентрациях является сигналом истощения антиоксидантной системы и предшествует неиммунному эритролизу.

Нормальным считается содержание *эхиноцитов* в мазках крови при данной методике 3–5 %. При воздействии вышеуказанных факторов их число может увеличиваться до 15 % и более, что является косвенным свидетельством усиления метгемоглобинообразования в организме. Такое заключение, однако, можно считать оправданным, если средняя интенсивность (при замере 100 клеток) поглощения на длине волны 630 нм в *эхиноцитах* больше, чем аналогичный показатель для *дискоцитов* не менее, чем в 3 раза.

5. Определение содержания в эритроцитах негемоглобинового железа

При поступлении в организм извне избытка железа, оно в форме, несвязанной с гемоглобином накапливается в протоплазме нормобластов и зрелых эритроцитов (такие клетки называют, соответственно, сидеробластами и сидероцитами). Негемоглобиновое железо этих клеток даёт типичную реакцию с берлинской лазурью, которая выявляется микроскопически.

Аппаратура и реактивы: микроскоп, или рабочая телевизионная станция для микроскопии мазков, водяная баня, пробирки, пипетки, предметные стёкла, метанол, окрашивающий реактив (готовится смешением 1 части 1 % раствора железосинеродистого калия и 1 части 0,1 % раствора соляной кислоты), 0,1 % водный раствор сафранина.

Ход определения: прокалывают кожу пальца и готовят обычные мазки крови. После высыхания мазки фиксируют 20 мин в чистом метаноле, а затем погружают в кювету с окрашивающим реактивом. В свою очередь кювету с мазками погружают на 20 мин в водяную баню при температуре 56°С.

После этого мазки промывают и докрашивают 0,1 % раствором сафранина и микроскопируют. При использовании рабочей цитофотометрической станции используют программу учета процента клеток, давших положительную реакцию на берлинскую лазурь.

Диагностическое значение: в норме сидеробласты и сидерциты не выявляют, а их появление в крови свидетельствует об избыточном насыщении организма железом, что может привести к заболеванию – сидерозу.

6. Способ выявления базофильной зернистости эритроцитов при инкорпорации солей свинца

Накопление в эритроцитах солей свинца можно выявить окраской последних метиленовой синью, которая окрашивает свинец в виде фиолетово–синей зернистости.

Аппаратура и реактивы: микроскоп биологический исследовательский, либо рабочая станция для микроскопии, предметные стекла, 1 % вводный раствор метиленового голубого, метиловый спирт.

Ход определения: из крови, взятой из прокола пальца обычным путем делается мазок крови. Мазок фиксируется в течение 3 мин. метиловым спиртом, затем высушивается. Готовится окрашивающий раствор: 5 капель 1 % водного раствора метиленового голубого на 20 мл воды. Мазок заливают этой краской на 1 час, затем краску сливают, мазок высушивают и микроскопируют. Считают 10000 эритроцитов и отмечают число эритроцитов с характерной фиолетово–синей зернистостью.

Диагностическое значение: наличие характерной фиолетово–синей зернистости свидетельствует о накоплении в крови избыточного количества соединений свинца, что может приводить к дисфункции эритрона и развитию свинцовой токсической анемии. При наличии спектрофотометрической насадки в комплексе для телевизионной микроскопии проводят количественное определение площади и интенсивности накопления патологической зернистости в отдельных клетках.

7. Способ выявления телец Гейнц – Эрлиха, в эритроцитах по методу Дейси, а также телец Жолли и Кебота

Накопление в эритроцитах продуктов токсического воздействия на организм фенилгидрозина, нитробензола, анилина, бертолетовой соли, нитроглицерина, толуолдиамин, солей меди, хлоратов калия и натрия, резорцина, анилина, сульфониламидов и др. химических веществ можно выявить окраской мазка крови метиленовым фиолетовым, окрашивающим тельца Гейнц–Эрлиха в пурпурно–красный цвет.

Аппаратура и реактивы: микроскоп биологический исследовательский либо рабочая станция для телеаизионной микроскопии, предметные стекла, 0,5 % раствор метиленового фиолетового в физиологическом растворе хлорида натрия.

Ход определения: в пробирке смешивают одну часть крови и одну часть 0,5 % раствора метиленового фиолетового. Смесь оставляют на 10 минут. Из неё обычным путем делается мазок крови. Мазок фиксируется в течение 3 мин. метиловым спиртом, затем высушивается и микроскопируется. Считают 1000 эритроцитов и отмечают число эритроцитов с характерными округлыми глыбчатыми пурпурно–красными включениями – тельцами Гейнц–Эрлиха, нередко обнаруживающихся на поверхности эритроцитов. Денситометрически могут быть оценены плотность и общие площади телец.

Диагностическое значение: наличие характерных включений пурпурно–красного цвета свидетельствует об усиленном распаде эритроцитов и о локальной кристаллизации гемоглобина в условиях патологической регенерации красного ростка крови при воздействии на организм токсикантов.

Примечание: в случае возникновения токсической анемии этим же методом в эритроцитах могут быть выявлены фиолетово–красные образования диаметром 1–2 мкм – тельца Жолли – продукты неполного растворения оболочки клеточного ядра, а в более тяжелых случаях, когда в эритроцитах остаются остатки ядра – тельца Кебота (Кабо), которые имеют вид восьмерок, колец, овалов, двойных или тройных петель фиолетово–синего цвета. Автоматический анализ характерных включений в эрит-

роцитах прост и удобен при использовании телевизионной программы «Видеотест-4».

8. Определение фетального гемоглобина в эритроцитах мазка крови (по Е.Г. Исаевой и А.М. Королевой)

В норме у взрослого человека фетальный гемоглобин составляет 1–2 % всего гемоглобина. Если мазок крови обработать лимоннокислой буферной смесью с pH 3,26, то гемоглобин А извлекается из эритроцитов, тогда как фетальный гемоглобин остаётся в них.

Аппаратура и реактивы: микроскоп, термостат, предметные стекла, лимоннокислый фосфатный буфер (готовят смешением 24,7 частей 0,2 М раствора Na_2HPO_4 и 75,3 частей 0,1 М раствора лимонной кислоты), 80 % этиловый спирт, 1 % водный раствор метилового фиолетового, дистиллированная вода.

Ход определения: тонкий мазок капиллярной крови фиксируют в течение 5 мин в 80 % этиловом спирте, следы спирта смывают дистиллированной водой, мазок высушивают и элюируют в течение 5 мин в буферном растворе. Раствор предварительно нагревают в течение 30 мин. при 37° С для удаления газов, которые мешают элюированию гемоглобина-А из эритроцитов. Во время элюирования буферный раствор помешивают стеклянной палочкой для удаления пузырьков газа с поверхности мазка. Элюированный мазок ополаскивают дистиллированной водой и окрашивают 1 % водным раствором метилового фиолетового в течение 2 мин. После этого препарат ополаскивают, высушивают и микроскопируют.

Эритроциты, содержащие фетальный гемоглобин сохраняются окрашенными в ярко-лиловый цвет, эритроциты, содержащие гемоглобин взрослого видны в виде теней. Подсчитывают не менее 200 лизирующихся эритроцитов и вычисляют процентное соотношение эритроцитов с фетальным гемоглобином.

Диагностическое значение: фетальный гемоглобин содержит вместо двух α -полипептидных цепей гемоглобина А две β -полипептидные цепи (его формула – $\alpha\alpha\beta\beta$), что обуславливает более быстрое связывание кислорода эритроцитами и более мед-

ленную диссоциацию фетального оксигемоглобина по сравнению с гемоглобином взрослого. Увеличение числа эритроцитов с фетальным гемоглобином наблюдается в неблагоприятных экологических условиях в случаях нарастающей гипоксии а также при анемиях Кули, серповидно–клеточной, некоторых лейкозах. Вместе с тем, при метгемоглобинемиях повышенная продукция фетального гемоглобина может быть компенсаторной реакцией, направленной на улучшение газообмена в данных условиях.

9. Оценка состояния мембранного аппарата организма по тесту мочевиной проницаемости эритроцитарных мембран

Определение *проницаемости эритроцитарных мембран* (ПЭМ) успешно используется для оценки состояния мембранного аппарата организма в гепатологии. Однотипность изменений этой функции у разных клеток позволяет с помощью теста на ПЭМ характеризовать состояние мембранного аппарата организма в целом. Метод основан на способности мочевины быстро диффундировать через клеточную мембрану, создавать гиперосмолярную концентрацию внутри эритроцита, с последующим его набуханием и гемолизом. Степень гемолиза зависит от состояния мембранного аппарата и от концентрации мочевины в рабочих растворах.

Аппаратура и реактивы: фотометр или фотоэлектроколориметр с зеленым фильтром, центрифуга лабораторная, центрифужные пробирки, лабораторные пипетки, изотонический раствор мочевины (18 г/л) и натрия хлорида (8,5 г/л).

Ход определения: 0,3 мл эритроцитов из любой крови после образования сгустка разводят физиологическим раствором хлорида натрия в соотношении 1:2 и по 0,1 мл взвеси помещают в 7 центрифужных пробирок.

Затем в каждую пробирку добавляют по 5 мл рабочего раствора с возрастающей концентрацией мочевины. Их готовят из изотонических растворов мочевины и натрия хлорида в следующих объемных соотношениях: 40:60, 45:55, 50:50, 55:45, 60:40 и 65:35. В седьмую пробирку наливают 5 мл изотонического раствора мочевины и она служит эталоном полного (100 %) гемолиза для исследуемой пробы эритроцитов. Через 3 мин.

пробы перемешивают, центрифугируют и определяют оптическую плотность надосадочной жидкости каждой пробы путём фотометрии с зелёным фильтром против воды.

Степень гемолиза выражают отношением оптической плотности каждой пробы к оптической плотности эталона, (7 пробирка), принятой за 100 %.

Диагностическое значение: в норме начало гемолиза наблюдается при соотношении 40:60, конец при – 65:35. При повышенной проницаемости эритроцитарных мембран показатель оптической плотности приближается к эталону в 4 или 5 пробирках или превышает его (легкое повышение ПЭМ). Если это относится к 3 пробирке – повышение ПЭМ умеренное, а если – к 2 или 1 пробирке – выраженное, явно патологическое.

Возможен и другой тип наблюдаемой реакции, когда проницаемость мембран клеток снижена. При этом показатель оптической плотности даже в 5 и 6 пробирках значительно ниже показателя эталона. Это может наблюдаться при поражении организма, например альдегидами.

10. Оценка количества эритроцитов активно сорбирующих коллоидные компоненты плазмы крови по В.В. Игнатьеву

Эритроциты крови млекопитающих (человека), перемещаясь в магистральных сосудах, неспецифически сорбируют коллоидные компоненты плазмы. Свойство неспецифической сорбции в той или иной мере присуще всем эритроцитам. Однако в зависимости от их массы, размеров и скорости вращения, все множество циркулирующих эритроцитов можно разделить на 2 класса слабо сорбирующих и активно сорбирующих эритроцитов. Совокупность первого и второго классов составляет полную популяцию, поэтому в практических целях достаточно охарактеризовать только один из них.

Признаки активно сорбирующих эритроцитов:

1) если эритроцит имеет форму ротатора или дискотороида, размер которого на 10–15 % больше среднестатистического размера эритроцита в пробе крови, то его относят к активно сорбирующим;

2) если эритроцит имеет низкую скорость релаксации в изоосмотической среде, то есть в течение 15–30 мин он не превращается в эхиноцит конечного типа, то его также относят к активно сорбирующим клеткам.

Все неподходящие под перечисленные признаки клетки красной крови относят к слабо сорбирующим.

Метод основан на подсчете эритроцитов, активно сорбирующих коллоидные компоненты плазмы крови при их инкубации в изоосмотической среде.

Определяется процент активно сорбирующих эритроцитов учитывая два вышеуказанных признака.

Реактивы и аппаратура: термостат, телевизионный микроскоп с увеличением на мониторе до $\times 2300$, черно-белая видеокамера, видеомэгнитофон, компьютер типа «Пентиум» с вмонтированной видеоплатой – framegrabber, парафиновая на стекле камера, покровные стекла, набор инструментов для взятия микропроб крови из пальца, ампулы с 0,9 % раствором натрия хлорида, 70 % этиловый спирт.

Ход определения: у обследуемого асептически производится забор 10 мкл крови из пальца руки. Взятая проба разводится в подогретом до 37°C изотоническом растворе натрия хлорида в соотношении 1:1000. Часть (0,02 мл) клеточной взвеси помещают в парафиновую камеру на подогретом до $37,5^{\circ}\text{C}$ стекле и устанавливают в поле зрения телевизионного микроскопа.

Делают запись 20 полей зрения: первые 10 полей сразу после установки препарата и последующие 10 полей через 15–20 мин. Полученные видеоматериалы обрабатывают следующим образом:

1) по первым 10 полям зрения определяют среднестатистический диаметр (d) эритроцитов. Далее визуально в режиме кадрового просмотра видеозаписей, либо с помощью компьютера определяют d_1 – количество эритроцитов с диаметром выше среднего на 10–15 % ($d > 8 \text{ нм}$). Определяют частоту (P) появления в поле зрения эритроцитов, диаметр, которых на 10–15 % больше среднестатистического у данного испытуемого: $P = d_1/d$;

2) по вторым 10 полям зрения наблюдают общее количество наблюдаемых эритроцитов (N), далее подсчитывают число неотрелаксировавших эритроцитов (N_1). По полученным дан-

ным определяют частоту появления в полях зрения неотрелаксировавших эритроцитов (P_1). Она равна: $P_1 = N_1 / N$;

Так как P и P_1 соответствуют первому и второму признакам активно сорбирующих эритроцитов, то затем определяют частоту наблюдения в исследуемой пробе крови активно сорбирующих эритроцитов (P_{ac}): $P_{ac} = P + P_1 - P \times P_1$;

Диагностическое значение: эритроцитам свойственна сорбция коллоидных частиц. Активная сорбция этих частиц ведет к увеличению размеров клеток. Кроме того, плазмолемма этих клеток может стать более жесткой, чем обычно. Эти свойства активно сорбирующих эритроцитов приводит к тому, что при попадании их в капилляры, меньшие либо равные их размерам требуется дополнительная затрата организмом энергии на их деформацию по сравнению со слабо сорбирующими эритроцитами. В активном тканевом обмене, в основном, участвует последняя разновидность красных клеток. Следовательно, оценка их доли во всем множестве циркулирующих эритроцитов может служить характеристикой выраженности коллоидной сорбционной нагрузки на эритроциты и в целом на организм при увеличении нагрузки на него эндогенных либо экзогенных источников коллоидных частиц.

Высокая доля активно сорбирующих эритроцитов в пробе крови человека указывает на угнетение транспортной функции эритроцитов с вытекающими функциональными следствиями.

Совершенствование методики может осуществляться по пути полной автоматизации выполняемых операций, дополнения вышеописанной методики оценкой соотношений между оксигемоглобином и дезоксигемоглобином в крови, одновременного мониторинга в плазме крови концентрации молочной кислоты.

11. Методы оценки изменений конфигурации и ультраструктуры, определение числа эхиноцитов в периферической крови по В.Н. Кидалову и В.Ф. Лысаку

Среди основной массы диско-тороидальных эритроцитов периферической крови, сразу после её эксфузии, в норме у здорового человека определяется до 3 % клеток, имеющих волно-

образную плазмолемму или клеточную оболочку с шиповидными выпячиваниями. Это *эхиноциты* – I.

Стресс–воздействия, вызывающие энергетический и иммунологический дисбаланс в организме приводят к увеличению в микроциркуляционном русле числа таких клеток, а также типичных *эхиноцитов* II–IV подгрупп эхиноцитограммы. Число *эхиноцитов* подсчитывается в счетных камерах под микроскопом сразу или в течение 10–15 минут после забора крови и разведения ее в изотоническом буферном растворе.

Реактивы и аппаратура: изотонический фосфатный или кокадиллатный буферный раствор с pH 7,20–7,35, микроскоп биологический исследовательский или рабочая станция с системой микровидеомониторирования, счетная камера Гаряева, 11-клавишный счетчик для подсчета форменных элементов крови. При наличии видеокомплекса включается соответствующая программа автоматического анализа числа клеток и их конфигурации.

Ход определения: кровь в количестве 0,01 мкл, взятую из прокола пальца помещают в пробирку с 2 мл изотонического буферного раствора, перемешивают. Клеточную взвесь помещают в счетную камеру. Подсчитывают 100–300 эритроцитов и, используя 11-клавишный счетчик для подсчета лейкоформулы, определяют процент эхиноцитов.

Диагностическое значение и применимость на практике: число эхиноцитов в пределах до 3 % считается нормальным, 3–5 % пограничный уровень, 8–13 % – уровень предболезни или начальных изменений иммунологических и энергообеспечивающих процессов в организме под влиянием неблагоприятного внешнего фактора (экологического и т.п.), более 13 % – явно патологический уровень.

Примечание: не рекомендуется использовать забуференный раствор натрия хлорида, если нет возможности надежной регистрации его Rh, осмотических характеристик, так как возможно получение эффектов моментального эхиноцитного кренирования до 98 % всех клеток.

Исследование с помощью видеокомплекса позволяет оценивать автоматически процент эхиноцитов во взвеси, определять особенности эхиноцитной трансформации клеток по «абри-су», с использованием флуоресценции в зеленом свете.

Возможные пути совершенствования: перспективна разработка автоматического анализа проб крови для определения числа эритроцитов и эритроцитограммы методом лазерной цитоспектрофотометрии.

12. Оценка релаксации эритроцитов (ОРЭ)

по В.Н. Кидалову и В.В. Игнатьеву

В процессе циркуляции эритроцитов по сосудистому руслу эритроциты сорбируют коллоидные компоненты крови, что изменяет их механические характеристики. Увеличивается масса клеток, может изменяться скорость их вращения в сосудах, а изменение жесткости мембран приводит к изменению геометрических характеристик клеток. При извлечении эритроцитов из кровотока и помещении их в изотоническую инкубационную среду они выводятся из поля действия ротационных сил, в котором находились в сосудах. В отсутствии этих сил и под действием только сил поверхностного натяжения плазмолемма эритроцита стремится уменьшить свою поверхность (первичная релаксация клетки – эритроцит начинает сферулироваться). Однако поверхность нормоцита (с $d=7,0$ мкм), а тем более макроцита (с d более 7,5 мкм) может вместить, нередко, больший объем, чем имеет сама клетка. Поэтому в процессе сферуляции часть «лишней» плазмолеммы может образовать выпуклости и складки. Например, под действием сил электрического отталкивания внутренняя «ионная атмосфера» эритроцита растягивает «мягкие» участки его плазмолеммы с образованием шиповидных выступов. Эритроцит как бы вторично релаксирует, то есть трансформируется в *эхиноцит*.

По форме и количеству шипов принято разделять *эхиноциты* на 4 группы, но возможно их разделение на 2 типа: А – с большим количеством (более 10–20) малых выпячиваний плазмолеммы и Б – с малым (менее 10) их количеством. У таких *эхиноцитов* выпячивания имеют больший радиус кривизны.

Известно, что плазмолемма эритроцитов имеет некоторую мозаичность физических свойств. Так в ней участки с «относительно мягкой мембраной» чередуются с участками «мягкой» мембраны наподобие «шахматной доски». Мембраны крупно-

шиповых эритроцитов более жесткие, поэтому клетки релаксируют медленнее. По сравнению с мелкошиповыми формами. Таким образом, неоднозначность процесса перехода *дискоцитов* в *эхиноциты* характеризует локальные жесткостные свойства их плазмолеммы.

Эти свойства изменяются под воздействием различных факторов внешней и внутренней среды организма и могут быть качественно и количественно оценены с помощью микроскопической или видеомикроскопической техники. Для этого составляются зависимости скоростей образования клеток соответствующего типа.

Реактивы и аппаратура: телевизионный микроскоп с увеличением на мониторе не менее $\times 2300$, черно-белая или цветная видеокамера, видеомагнитофон, компьютер типа Pentium с вмонтированной видеоплатой – framegrabber, набор инструментов для взятия микропроб крови из пальца, ампулы с 0,9 % раствором натрия хлорида, 70 % этиловый спирт.

Ход определения: у испытуемого по обычной методике берется проба крови в объеме 10 мкл. Кровь помещают в 10 мл раствора натрия хлорида и перемешивается. 0,02 мкл крови помещают под микроскоп и делают шесть серий видеозаписей по 10 сюжетов в каждой:

- через 1–3 минуты после взятия крови,
- через 15 мин,
- через 30 мин,
- через 1 час,
- через 2 часа,
- через 3 часа.

Полученный материал подвергается статистической компьютерной обработке с вычислением частоты появления в видеосюжетах клеток типов А и Б. Строятся также зависимости скоростей изменения клеток по указанным типам.

Диагностическое значение: производится сравнение результатов релаксации эритроцитов в контрольных и опытных группах либо в фоновых и следующих после воздействия экстремального фактора заборах крови. При нарушении адаптации организма к действующим факторам, а также при развитии заболеваний отмечается повышенное содержание в пробах крови

эхиноцитов типа Б. Изменение скорости релаксации эритроцитов более чем на 10–15 % на любом из этапов исследования по сравнению с контролем свидетельствует либо об увеличении, либо об уменьшении «жесткости» клеточных эритроцитарных мембран.

13. Определение типа краевой линии и оценка ригидности эритроцитов, выстраивающих краевую линию препарата

В процессе формирования препарата мазка или «капли Бокленга» часть эритроцитов с высокой адгезивностью к стеклу образуют краевую линию.

В зависимости от состояния здоровья человека или состояния крови выделяют пять типов *краевой линии* (КЛ). В период дегидратации препарата по его краю возникают значительные по отношению к клеткам центроостремительные силы. Результатом их воздействия становится изменение формы клеток *выстраивающих краевую линию* (ВКЛ). По степени ригидности мембраны можно выделить группы клеток:

1. Клетки с особо высокой ригидностью клеточной оболочки. Они сохраняют свою округлую (дискоидную или стоматоцитную) форму.

2. Эритроциты с обычной ригидностью мембраны по отношению к растягивающему действию центроостремительной силы. Они принимают форму полуовала, трапеции или правильного четырехугольника.

3. Клетки с пониженной ригидностью мембран принимают форму остроугольного треугольника или каплевидную.

Распределение эритроцитов ВКЛ по указанным трем группам, либо по отдельным формам клеток подсчитывается лаборантом (500–1000 клеток) или автоматически при наличии рабочей станции телевизионной микроскопии и соответствующего программного обеспечения.

Адгезивные свойства клеток и их ригидность может снижаться при частичной потере клетками гемоглобина, при нарушении обменных процессов в организме и клетках, при воздействии на организм или кровь различных химических или физи-

ческих факторов, при частичной дегемоглобинизации эритроцитов при длительном хранении крови и эритромаксы.

Реактивы и аппаратура: рабочая станция для телевизионной микроскопии, с видеокамерой, набор инструментов для взятия микропроб крови из пальца, пипетки для взятия проб крови из пробирки, обезжиренные предметные стекла, шлиф–стекло для приготовления мазков, карандаш (чернила) по стеклу, Кюветы с формалином или 96 % этиловым спиртом.

Ход определения: у испытуемого по обычной методике берется проба крови из пальца в объеме до 0,02 мкл либо берется проба крови из пробирки.

Кровь помещается на стекло и из нее с помощью шлиф–стекла готовят тонкий мазок, либо готовится округлый препарат по типу капли Болена.

Для дальнейшего хранения препарат может быть зафиксирован помещением в закрытую кювету с формалином, дихлорэтаном или 96 % этиловым спиртом на срок не менее 2 часов. Препарат должен располагаться на подставке выше уровня спирта, формалина или др., так как фиксация производится в парах летучего вещества.

Приготовленный препарат помещают на предметный столик установки для телевизионной микроскопии и проводят визуальный или автоматический подсчет клеток 1–3 типа. Полученный материал подвергается статистической компьютерной обработке с вычерчиванием гистограммы распределения эритроцитов по ригидности их мембран. частоты появления в видео–сюжетах клеток типов А и Б.

Диагностическое значение: при различных заболеваниях ригидность клеточных мембран эритроцитов может повышаться или понижаться. В норме до 80 % клеток в зоне ВКЛ составляют клетки 2 типа, клетки с высокой ригидностью не превышают 5–8 %, а с низкой ригидностью – 12–13 %.

В эксперименте увеличение клеток 1 или 3 типа по сравнению с контролем свидетельствует либо об увеличении, либо об уменьшении ригидности клеточных эритроцитарных мембран. Для наглядности может быть рассчитан индекс ригидности эритроцитов краевой линии ($ИР_{экл}$).

$$IP_{\text{экл}} = (1 \text{ тип клеток, \%} + 3 \text{ тип клеток, \%}) / 2 \text{ тип клеток (\%)}$$

В норме $IP_{\text{экл}}$ изменяется в границах 0,21–0,34.

14. Определение числа клеток за пределами краевой линии

В процессе формирования препарата клетки с резко повышенной адгезивностью к стеклу остаются снаружи за краевой линией. Такие клетки при их исследовании оказываются частично дегемоглобинизированными, с пористой клеточной оболочкой и другими признаками локального диереза. Подсчет их числа, особенностей структуры и флуоресценции может быть использовано для оценки внешних воздействий физических факторов, а также для оценки адекватности инкубационных сред для хранения эритроцитарной массы.

Аппараты и реактивы: те же, что и при определении типа краевой линии и оценки ригидности эритроцитов, выстраивающих краевую линию.

Ход определения: первые этапы аналогичны исследованию типов ВКЛ.

При подсчете 1000 клеток краевой зоны учитывают число клеток (%) частично или полностью вытолкнутых за пределы краевой линии.

При использовании рабочей станции для телевизионной микроскопии и спектрофотометрии дополнительно регистрируют форму вытолкнутых клеток и особенности их спектра флуоресценции.

Оценка результатов: в норме при приготовлении препарата–мазка число клеток, вытолкнутых за пределы КЛ не превышает 0,5–1,0 %. Превышение этого показателя свидетельствует об усилении эритродиереза и об увеличении вязкости и адгезивности к стеклу мембран эритроцитов.

15. Оценка степени дефрагментации тора эритроцитов

В процессе хранения крови или воздействия на нее физических и химических факторов отмечается локальная перестройка и ретракция внутреннего листка клеточной мембраны. При про-

смотре препарата в микроскоп сверху отмечается феномен прерывистости и скручивания, и изгиба части внутреннего слоя клеточной оболочки.

Аппараты и реактивы: те же, что и в предыдущем исследовании.

Ход определения: первые этапы аналогичны исследованию типов ВКЛ в мазке.

Ведут подсчет процента клеток с дефрагментацией клеточной оболочки в торообразующей области клетки при подсчете 1000 эритроцитов.

При подсчете прерывистости мембран в торообразующей области ориентируются на окружность клетки.

Перерывы в торообразующей области относят:

- к слабовыраженным (рис. 9а), если они носят точечный характер или имеют протяженность до 21 % окружности клетки,
- к выраженным (рис. 9б), если перерыв занимает до 22–34 % процента от всей окружности тора,
- к сильно выраженным (рис. 9в), если зона перерыва тора от 35 % до 55 %.
- величина от 56 % до 89 % (рис. 9г) свидетельство субтотальной деструкции слоев клеточной оболочки эритроцита.

Оценка результатов: в норме при приготовлении препарата–мазка число клеток со слабовыраженной дефрагментацией клеточной оболочки в торообразующей области клетки не превышает 1–3 %. Превышение этого показателя и появление клеток с выраженной, сильно выраженной и субтотальной деструкцией мембраны торообразующей области является свидетельством выраженных нарушений внутриклеточных обменных и энергообразующих процессов.

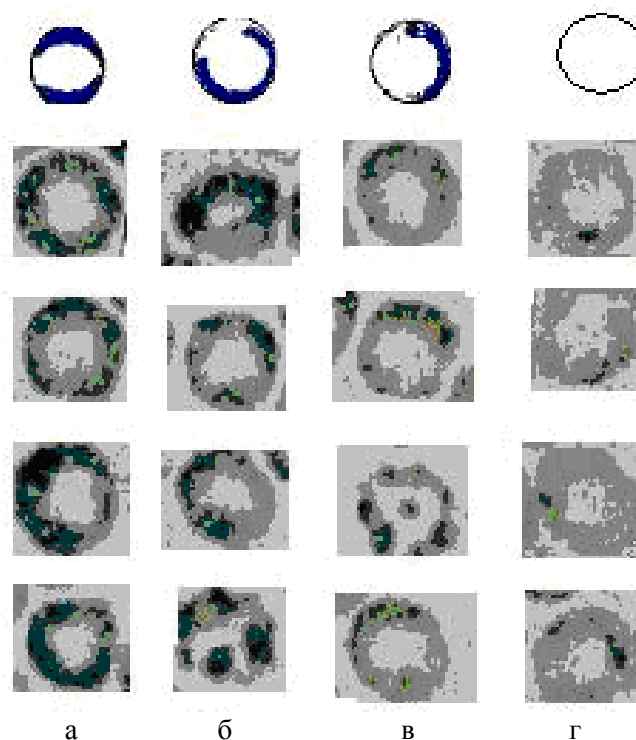


Рис. 9. Схема деструкции листков клеточной оболочки торообразующей области эритроцитов (объяснение в тексте). Верхняя строка – схема изменения тора, остальные строки – фото (ув. х 500).

16. Оценка распределения эритроцитов по конфигурации в рамках количественной эритрограммы

Преобладающие в крови эритроциты дискотороидальной формы могут изменять свою конфигурацию обратимо и необратимо. В первом случае дискоциты превращаются в *стоматоциты* (4 подгруппы) или *эхиноциты* (также четыре подгруппы). К необратимым формам относят пойкилоциты и гемолизирующиеся формы (сфероциты и клетки других конфигураций, поте-

равшие большую часть гемоглобина и превращающиеся в клеточные «тени».

Следует помнить, что классификации форм эритроцитов, фиксированных спиртами в мазках не применимы для метода альдегидной фиксации эритроцитов во взвеси, так как в случае применения спиртов из-за ретракции и высыхания клеток практически не определяются стоматоциты, а эхиноциты и пойкилоциты, кроме того, изменяют свою первоначальную конфигурацию. Это приводит к тому, что одни и те же названия и определения форм нередко применяют к совершенно разным формам эритроцитов.

В этой связи целесообразно использовать следующую группировку основных форм эритроцитов при их фиксации глutarовым альдегидом: *дискоциты, стоматоциты, эхиноциты, пойкило- и шизоциты, гемолизирующиеся формы* (табл. 7).

Таблица 7

**Морфологическая характеристика клеточных элементов
квантитативной эритрограммы**

Клеточные элементы	Морфологические признаки
Дискоциты: нормоцит(1) паноцит (II) Стоматоциты: I	Круглый, вогнутый в середине диск, Плоскопараллельная (в форме «монеты») клетка
II	Клетка с куполообразным вдавливанием глубиной менее 1/3 радиуса клетки
III	Клетка в форме шляпки гриба
IV	Клетка в форме полуспущенного мяча
	Условное название клеток «гребневидные», «книзоциты», напоминают смятую оболочку спущенного мяча
Эхиноциты: I	Диск волнистой поверхности
II	Диск с редкозубчатой поверхностью или с единичным (не более 5) шипами
III	Клетка с поверхностью, покрытой шиловидными отростками
IV	Эллипсо- или шарообразная клетка с поверхностью, покрытой очень мелкими спикулами

Клеточные элементы	Морфологические признаки
Пойкило- и шизоциты: пойкилоциты (I)	Диск с выпячиванием в центре «мишеневидная клетка», «тороцит» Диск с выпячиванием в центре и валиком вокруг него, «бигергентная клетка» Клетка полулунной формы, «дрепаноцит» Клетка овальной формы, овалоцит, «элиптоцит» Уплощенный, резко увеличенный эритроцит округлой либо овальной формы, «макроплато(овало)цит» Кольцевидный эритроцит с резко увеличенным центральным просветом, как бы простреленный, «анулоцит» Клетка в форме сифона, «воронкообразная» Эритроцит с заметным кратерообразным углублением, «пит-клетка»
Клетки с сочетанными деформациями (II)	Биполярно вытянутая клетка с одним («ланцетовидная») или двумя заостренными полюсами, «плазмодитоподобные»
Причудливо деформированные эритроциты и формы с признаками дегенерации и разрывами цитолеммы (III)	Эритроцит серповидной формы с везикулярным вдавлением, «стомалрепаноцит» Эхиноцит полулунной формы либо напоминающий трепанга, «эхинодрепаноцит» Гребневидные или стоматоцитоподобные клетки с шпильковидными выпячиваниями, «эхинокнизоциты», «эхиностоматоциты» и др.
Шизоциты (IV)	Клетки звездчатой формы либо с несколькими длинными выпячиваниями в виде неправильных ложноножек, «акантоциты»
Гемолизирующиеся формы: сфероцит (I) эритроцитные теин (II) Осколочно-ахромоциты (III)	Клетки в форме подковы, «кератоциты» Эритроциты триангулярной (с признаками ретракции), ковшеобразной, гантелевидной формы, клетки, напоминающие «обрубки корневищ», «бабочек», «свернувшийся лист», «корзину», «шапку Полишинелля»
	Перечисленные и прочие формы с разрывами клеточной оболочки Полиморфные клеточные «осколки», в том числе микроэхино-сфероцитные, содержащие гемоглобин Клетка шарообразной формы (сфероцит) (5.....7 мкм) Лишившиеся гемоглобина нормоциты и другие формы, кроме Шизоцитов Клеточные «обломки», полиморфные «осколки», лишенные гемоглобина

Аппараты и реактивы: рабочая станция для телевизионной микроскопии, электронный просвечивающий микроскоп, набор для забора крови из пальца или вены, фиксирующий раствор (0,25 % раствор глутарового альдегида в изотоническом фосфатном буферном растворе с pH 7,2 до 7,3). При оценке изменений формы клеток в гипертоническом растворе – гипертоническая количественная эритрограмма – глутаровый альдегид вносят в 3 % раствор хлорида натрия или каодилятный буферный раствор с аналогичной осмотичностью).

Ход определения:

Исследование на световом микроскопе. Капиллярную кровь (0,5 мл) набирают из пальца в пробирку с 2 мл охлажденного до 4° С 0,15 М фосфатного буфера с pH 7,2. Эритроциты отмывают центрифугированием при 720 g в указанном буферном растворе (данный этап необязателен и может быть опущен без ущерба для результатов анализа). В пробирку с эритроцитами добавляют 2 мл 0,25 % раствора охлажденного глутарового альдегида на том же буфере. Далее пробу помещают в холодильник (4° С) на 30 мин для фиксации формы клеток, после чего содержимое пробирки осторожно перемешивают и 0,02 мл клеточной взвеси помещают на предметное стекло. Сверху каплю покрывают покровным стеклом размером 24x24 мм, края которого с внутренней стороны по периметру смазаны иммерсионным (кедровым) маслом. Препарат помещают на столик микроскопа. На предельно высоко поднятый конденсор также наносят 0,05 мл кедрового масла, с тем, чтобы между конденсором и предметным стеклом образовалась иммерсионная прослойка. Такой же слой из кедрового масла создается между покровным стеклом и объективом микроскопа. При этих условиях значительно снижается рассеивание светового пучка осветителя при микроскопии и достигается четкое и объемное изображение эритроцитов при их увеличении до 900 раз. В каждом препарате анализируется не менее 500 клеток и вычисляют процентное отношение отдельных эритроцитов с измененной формой.

Вычисляют *индекс трансформации* (ИТ), представляющий собой отношение суммы всех трансформированных эритроцитов к дискоцитам.

Поскольку стомато- и эхиноцитная трансформация клеток может быть обратимой, имеющей компенсаторно-приспособительное значение, а пойкило- и сфероцитоз, как правило, сопровождаются выраженными ультраструктурными изменениями дегенеративного или гемолитического характера вычисляют *показатель компенсаторной трансформации (ПКТ) эритроцитов* – отношение абсолютного количества стомато- и эхиноцитов к пойкило-шизоцитам и гемолизирующимся клеткам (сфероциты и эритроцитарные тени). Использование этих двух индексов повышает наглядность количественной характеристики процессов трансформации

17. Гиперосмотическая квантитативная эритрограмма

Гиперосмотическая квантитативная эритрограмма (ГКЭ) представляет собой оценку квантитативной эритрограммы в условиях дополнительной осмотической нагрузки на клетки, которая достигается заменой форфатного изоосмотического буфера какодиллатным буфером осмолярностью 380 мОсм/кг, либо 3 % раствором изотонического раствора натрия хлорида.

При этом во время фиксации формы часть менее устойчивых дискоцитов превращается в стоматоциты, а всякая другая «внешняя нагрузка», например травма, вызывает сдвиги оставшегося «трансформационного потенциала» – большей частью уже в сторону необратимой трансформации клеток либо усиливает превращение дискоцитов в *стоматоциты* –III и –IV.

Оценка результатов: изменение конфигурации эритроцитов – один из интегральных показателей изменения состояния организма. Трансформация эритроцитов – превращение *дискоцитов* в недискоидные формы может зависеть от изменений кислотно-основного равновесия, особенностей электролитного обмена макроэргов. Образование *стоматоцитов* и *эхиноцитов* 1–2 подгрупп может быть следствием начинающегося энергетического дисбаланса. Изменение Ph на десятые доли единицы и осмотических характеристик плазмы крови на единицы миллиосмолей могут вызывать ультраструктурную перестройку в клетках крови, что может вести к изменению внутри популяции этих клеток числа недискоидных форм. В случае моментальной

фиксации формы клеток сразу после эксфузии крови в условиях изоосмии при рН 7,1–7,3 среди циркулирующих в крови эритроцитов у мужчин и женщин в среднем определяется около 60–62 % *дискоцитов*, 18–22 % *стоматоцитов*, 3–6 % гребневидных форм или клеток с 2–3 стомами, 2–3 % *эхиноцитов*, около 8 % *пойкило-шизоцитов* и 1 % *гемолизирующихся форм*.

В здоровом организме большинство клеток составляют *дискоциты* вместе с обратимыми формами *стомато-* и *эхиноцитов*. Диапазон «трансформационного запаса» последних клеток довольно велик, и при малейших изменениях гомеостаза могут наблюдаться взаимные переходы этих клеток друг в друга. Трансформация эритроцитов – превращение *дискоцитов* в не-дискоидные формы может зависеть от изменений кислотно-основного равновесия, особенностей электролитного обмена макроэргов, стойкости клеток к осмотическим нагрузкам. Изменения этих показателей наблюдается при соматических заболеваниях и травмах.

В тяжелых случаях, например при раке желудка или желчно-каменной болезни, среди эритроцитов начинают преобладать уже не *дискоциты*, а трансформированные клетки. При этом среди *стоматоцитов* и *эхиноцитов* превалируют подгруппы эритроцитов с максимальными степенями изменений конфигурации, т.е. *стоматоциты* и *эхиноциты* III и IV. Подобные изменения квантитативной эритрограммы могут быть обусловлены развитием гипоксии, интоксикации и сенсибилизации организма. Прекращение действия *стоматоцитогенных* или *эхиноцитогенных* факторов приводит к быстрой обратной трансформации соответствующих клеток в *дискоциты*.

Пойкилоцитоз, *шизоцитоз* и *сфероцитоз* очень часто сопровождаются глубинными изменениями в составе липопротеидов, жирных кислот, фосфолипидов в цитолемме, нарушениями белково-гемоглобиновых комплексов и цитоскелета. Увеличение числа таких форм свидетельствует об усилении практически невосстанавливаемых дезинтегративных клеточных процессов.

Примечание: при исследовании функциональных изменений в системе крови весьма чувствительным оказывается подсчет *стоматоцитограммы*.

Стоматоцитограмма подсчитывается по тому же принципу, что и количественная эритрограмма.

К образованию *стоматоцитов* наиболее часто приводит избыточное поступление в клетки воды, нарушения калий–натриевого и водного обмена, увеличение содержания в мембранах этих клеток фосфатидилхолина. Подсчитывается общее число стоматоцитов и процентное распределение Ст по первой–четвертой подгруппам стоматоцитарной трансформации. При выраженных нарушениях водного обмена преобладают Ст третьей и четвертой подгрупп.

Эхиноцитограмма – распределение эритроцитов с шипами по четырем группам, представлена в методике количественной эритрограммы. Увеличение после того или иного экстремального воздействия процентного числа эхиноцитов третьей и четвертой подгрупп свидетельствует о нарушениях энергетики клеток крови.

Пойкилоцитограмма рассчитывается аналогично стоматоцитограмме или эхиноцитограмме. Увеличение числа пойкилоцитов третьей и четвертой подгрупп может иметь прогностическое значение при наличии экзогенной интоксикации, а также при воздействии на организм либо непосредственно на кровь интенсивных физических факторов электромагнитной природы.

18. Определение числа эритроцитов–флюоресцитов в мазке крови

При снижении содержания в эритроцитах концентрации гемоглобина, что характерно при формировании анемий разной природы, наиболее дегемоглобинизированные клетки после их обработки флюорохромами приобретают способность к интенсивной люминесценции в ультрафиолетовом свете. Количество таких клеток (флюоресцитов) может быть быстро установлено с помощью люминесцентной телевизионной микроскопии.

Аппаратура и реактивы: люминесцентный микроскоп (со спектрофотометрической насадкой) или рабочая станция для люминесцентной микроскопии и спектрофотометрии, пипетки, пробирки, покровные и предметные стекла, раствор для флюорохромирования (карболовый аурамин: готовят смешением в темной посуде 0,1 г аурамина 00 со 100 мл изотонического рас-

твора натрия хлорида и 0,5 мл 5 % раствора карболовой кислоты. Вместо этого раствора может, с несколько худшими результатами) использоваться флюорохром акридиновый оранжевый, который растворяют в соотношении 1:100 с изотоническим раствором натрия хлорида.

Ход определения: 0,02 мл крови из пальца в условиях затемнения смешивают с 1 мл раствора для флюорохромирования. Взвесь перемешивают и помешают на предметное стекло, накрывают покровным стеклом (готовится препарат типа «раздавленная капля»). Препарат помещается на предметный столик люминесцентного микроскопа и в нем подсчитывается процент эритроцитов с интенсивным изумрудно-зеленым свечением из общего числа эритроцитов.

Диагностическое значение: появление флюоресцитов в препаратах крови людей, находящихся под воздействием неблагоприятных в экологическом отношении факторов, свидетельствует о снижении гемоглобинообразования в эритроцитах, либо связано с повышенной потерей гемоглобина клетками красной крови.

Примечание: при помощи сочетанного возбуждения свечения клеток крови широкополосным ультрафиолетом и светом галогеновой лампы с помощью телевизионной микроскопии оцениваются эффекты свечения тора эритроцитов, оценивается выраженность «прожекторного» свечения в виде расходящихся пучков лучей различных клеток крови. При использовании спектрофотометрических насадок проводится оценка спектра и интенсивности свечения отдельных участков клетки, например «шипов» или спикул эхиноцитов. Спектрофотометрические данные могут наглядно отражать и состояние и реакцию эритроцитов, выстраивающих краевые линии у больных в процессе их лечения, например, энерго-информационными приборами В.А. Муромцева или с помощью аппаратов для КВЧ-терапии.

19. Определение числа эритроцитов с условно-полиморфными стомами

(В.Н. Кидалов, Н.Б. Суховецкая, Н.И. Сясин, 1998)

При оценке конфигурации эритроцитов при малоинтенсивных стрессогенных воздействиях (электромагнитных полей,

низкочастотного звука, пылевых (растительных) аллергенов, химических веществ (например, алкоголя), сжатого кислорода наиболее ранние изменения отмечаются в центральной зоне эритроцитов по границе внутреннего «ободка» их тора. При наблюдении сверху за изменениями отдельных участков в этих частях тора отмечают различные замкнутые фигуры в центральной части клетки, названные нами *условно–полиморфными стомами* (УПС).

Реактивы и аппаратура: те же, что и при оценке количественной эритрограммы.

Ход определения: из 0,01 мл крови, взятой из прокола пальца, готовят клеточную взвесь при 500–1000 кратном разведении эритроцитов. В качестве разводящей среды, кроме изотонических буферных растворов, могут использоваться изотонические растворы глюкозы либо других сахаров.

Визуально, либо автоматически, в соответствии с программой обработки видеоизображений рабочей станции анализируют не менее 200 дискоидных клеток и распределяют их по 5 группам:

- *дискоциты* с нормальной округлой, прогибающейся внутрь центральной зоной клетки недеформированным тором (1 группа);
- эритроциты с начальной деформацией внутренней зоны тора – с УПС овальной, каплевидной, напоминающей «восьмерку» конфигурацией (2 группа);
- клетки с умеренной деформацией внутренней части клетки, с УПС треугольной, квадратной, многоугольной конфигурации (3 группа),
- клетки с выраженной деформацией внутренней части тора с УПС звездчатой, щелевидной, отростчатой конфигурации, а также с различными УПС, в центре которых наблюдается мелкопузырчатая деформация клеточной оболочки по типу «лимонной корочки» (4 группа),
- клетки с трудно описываемой конфигурацией УПС и эритроциты, в которых УПС сочетаются с изменениями внешней части клеточного тора (5 группа).

Схематично разделение клеток по группам УПС представлено на рис. 10.

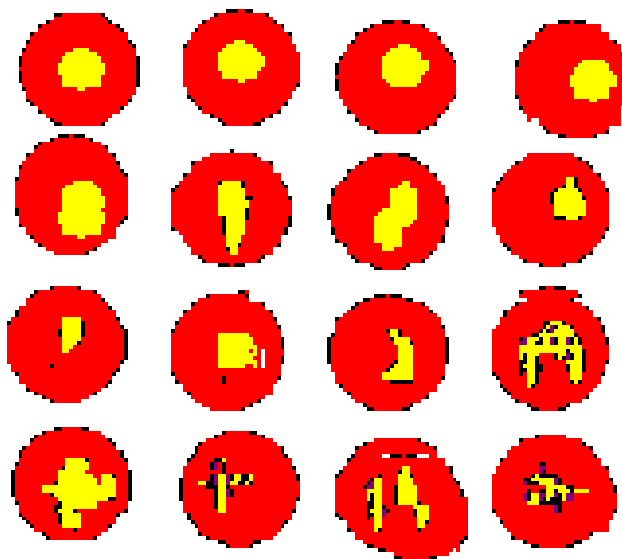


Рис. 10. Основные представители пяти групп эритроцитов с УПС (схематично). Строчки (сверху вниз): 1 – УПС не сформированы; 2 – начальная стадия деформирования тора; 3 – эритроциты с умеренной деформацией тора; 4 – эритроциты с выраженной деформацией тора; 5 – эритроциты с сильной деформацией тора и центральной части по типу «лимонной корочки».

В УПС–грамме подсчет клеток проводится с учетом отношения их к одной из пяти выделенных групп по нарастанию степени деформации тора.

При использовании рабочей станции для видеомикроскопии появляется дополнительная возможность оценки «послойной» флуоресценции клеточных участков, ответственных за формирование УПС («флуоресцентная томография клетки»), оценки изменений «индуцированного УФО» светового излучения в деформированных и подвергшихся деструктивным изменениям участках тора.

Диагностическое значение и применимость на практике: причинами формирования УПС в препаратах крови являются слабые химические и физические раздражители. Кроме того, УПС возникают в крови при воздействии на организм экстремальных факторов внешней среды, при нарушениях обмена веществ, например, при умеренных изменениях гликозилирования спектриноподобных белков клеток, при дизэргазах вследствие нарушенного газообмена и повышенного расходования эритроцитами макроэргов.

Определение в крови людей УПС–граммы (распределение эритроцитов с УПС по пяти морфологически различным группам) позволяет получить количественную оценку начальных изменений состояния здоровья. Отношение суммы эритроцитов третьей, четвертой и пятой подгрупп УПС к сумме эритроцитов с УПС первой и второй подгрупп, т.н. *индекс деформации тора* (ИДТ) повышается (до 0,40 и выше) у лиц, сенсibilизированных растительными и другими антигенами, а также у людей с выраженными нарушениями углеводного обмена.

В крови людей с различными соматическими заболеваниями обнаруживают до 50 различных конфигураций УПС.

При хранении крови на частоту появления УПС и степень деформации тора могут влиять осмотичность и онкотическое давление инкубационной среды, наличие в ней натрия хлорида, глюкозы, маннита, сахарозы, некоторых растворов с наборами L–аминокислот и др.

Для здорового организма в эритроцитах характерно наличие УПС 1–2 групп. Тяжелые заболевания приводят к возникновению УПС 4–5–ой групп цитограммы (УПС–граммы).

УПС отражают начальную стадию релаксации клеток, а степень деформации тора изменяется в зависимости от времени инкубации клеток в жидкой среде. Поэтому для оценки УПС–феномена предпочтительно использовать автоматизированную рабочую станцию, позволяющая оценивать просматриваемые поля зрения препарата в режиме цейтрафера.

Формирование УПС в клетках нередко предшествует трансформации дискоцитов в недискоидные формы, что регистрируется при анализе изменения здоровья различных профессиональных групп.

ИДТ в норме, в здоровом организме колеблется в пределах 0,10 до 0,20. Сохраняющийся при повторных исследованиях уровень этого показателя от 0,21 до 0,40 характерен для предболезненных состояний организма и может быть связан с неадекватным углеводным обменом в эритроцитах.

20. Оценка эритрофагоцитоза и тромбоцитофагоцитоза (поглощительная активность микрофагоцитов).

Фагоцитоз собственных эритроцитов сегментоядерными лейкоцитами крови в организме человека в норме не происходит, так как аутоэритроциты не определяются микрофагоцитами как чужеродные частицы. Вместе с тем, аллогенные или гетерогенные клетки красной крови активно фагоцитируются как при попадании их в сосудистую систему, так и в экспериментах в пробирке. Определение фагоцитарного индекса с использованием бактериальных взвесей – обременительно, а в случае использования в качестве объекта фагоцитоза мелких микроорганизмов, кроме того, и ненадежно. В этом случае также трудно исследовать различные фазы фагоцитарного процесса, особенно фаз аттракции и начала поглощения микроорганизмов.

Всех этих недостатков можно избежать при использовании в качестве объекта фагоцитоза нормированной взвеси фиксированных *эхиноцитов* животных, у которых размеры эритроцитов значительно меньше, чем размеры эритроцитов человека (эритроциты кабарги имеют средний диаметр около 2 мкм, эритроциты барана – около 4 мкм). Фиксация эритроцитарной взвеси глутаровым альдегидом вызывает ретракцию клеток и уменьшение их диаметра еще на 15–20 %. Применение таких эритроцитов *эхиноцитной* формы в качестве объекта фагоцитоза позволяет в деталях исследовать процесс их поглощения лейкоцитами. При этом зрелая полиморфноядерная клетка – микрофагоцит способна проглотить 3–5 *эхиноцитов*, которые после завершения поглощения могут с помощью светового микроскопа без особых усилий визуализироваться в фагоците.

В качестве объекта фагоцитоза могут использоваться также нормированные взвеси фиксированных глутаровым альдегидом тромбоцитов (взвесь готовится на изотоническом физиологиче-

ском растворе хлорида хлорида). При этом могут использоваться не только аллогенные, но и аутологичные тромбоциты. Однако, поскольку тромбоциты значительно меньше эритроцитов, а после их фиксации они могут иметь разные размеры и форму, методика эритрофагоцитоза имеет ряд преимуществ (стандартизация эхиноцитов, меньшая трудоемкость и стоимость).

Реактивы и оборудование: рабочая станция для телевизионной микроскопии с увеличением не менее 500–1000 раз; счетная камера (гемоцитометр Горяева или др.); стерильные набор для взятия крови, пробирки, пипетки; термостат, сигнальные часы, лабораторная центрифуга; взвесь эритроцитов барана либо другого животного в физиологическом растворе хлорида натрия; стерильные 1–2 % раствор глутарового альдегида в 0,85 % хлорида натрия; 0,85 % и 3 % растворы хлорида натрия; пробирка с несквертывающейся кровью испытуемого (взятой с трехзамещенным цитратом натрия или с ЭДТА), содержащая лейкоциты.

Ход определения: 0,5 мл крови животного помещают в пробирку с 5 мл 3 % раствора хлорида натрия на 30–60 мин., затем пробирку центрифугируют при 720 g в течение 10 мин, надосадо́к сливают, в пробирку до метки наливают стерильный 1–2 % раствор глутарового альдегида в 0,85 % хлорида натрия.

Взвесь перемешивают, вновь центрифугируют 10 мин, а затем эритроциты, принявшие эхиноцитную форму) однократно отмывают стерильным физиологическим раствором хлорида натрия.

Подсчитывают в гемоцитометре содержание *эхиноцитов* в 1 мл взвеси и при необходимости разводят ее физиологическим раствором так, чтобы в 1 мл объекта фагоцитоза (взвеси) содержалось не более 5 тысяч *эхиноцитов* в 1 мл.

Смешивают в пробирке 1 мл испытуемой крови с 0,5 мл объекта фагоцитоза, пробирку закрывают и инкубируют в термостате при 37° С 30 мин. Затем пробирку вынимают, пипеткой удаляют надосадо́к и из осадка готовят обычные мазки на стекле, которые фиксируются спиртами или парами формальдегида, окрашиваются обычным способом по Романовскому–Гимза или по Май–Грюнвальду и после отмывания пот краски и высушивания – микроскопируются.

При микроскопии в динамике фиксируют моменты сближения ПМЯ–клеток с эхиноцитами, образования фагоцитарной вакуоли (заглатывания клетки), либо сразу подсчитывается число эхиноцитов полностью поглощенных микрофагоцитом. Отмечают число ПМЯ–клеток участвующих и не участвующих в фагоцитозе, а также подсчитывают среднее количество эхиноцитов поглощенных одним фагоцитом.

Диагностическое значение: метод может быть использован для оценки функциональной активности фагоцитирующих лейкоцитов в процессе длительного хранения консервированной крови либо лейкоцитарных взвесей.

В эксперименте и клинике он может быть использован для оценки изменений клеточного иммунитета у людей, подвергающихся действию неблагоприятных факторов внешней среды, либо страдающих какой–либо патологией.

ГЛАВА IV

БИОФИЗИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ЭРИТРОНА И ДРУГИХ КЛЕТОК КРОВИ ПРИ МЕЖКЛЕТОЧНОМ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ

Наномедицина это: «слежение, исправление, конструирование и контроль над биологическими системами человека на молекулярном уровне, используя разработанные наноустройства и наноструктуры»

Р. Фрейтас

1. Экспресс–метод оценки механической резистентности эритроцитов (по методу Бианки)

С помощью дозированного механического воздействия эритроциты подвергаются травматизации до частичного разрушения – фрагментации.

Аппаратура и реактивы: градуированные пипетки, центрифужные пробирки, центрифуга, микроскоп, стекла для приготовления мазков, 2,8 % раствор цитрата натрия, 0,5 % раствор желатины, раствор Локка (в 1 л дистиллированной воды 9 г натрия хлорида, 0,42 г калия хлорида, 0,24 г кальция хлорида и 0,20 г натрия бикарбоната).

Ход определения: смешивают по 2 мл растворов цитрата, желатины и раствора Локка. В эту смесь помещают 1 мл капиллярной крови из пальца. Затем кровь центрифугируют ровно 5 минут при 500 оборотах в минуту. Верхний светлый слой (плазмы с всплывшими обломками эритроцитов и небольшой частью эритроцитов) сливают в другую пробирку, вновь центрифугируют 5 минут при 500 оборотах в минуту и из осадка с осевшими фрагментами готовят мазки.

Среди массы сохранившихся эритроцитов при микроскопии находят фрагменты различной величины и формы – шизоциты, в том числе учитывают предстадии фрагментации – частицы

оставшиеся ещё соединёнными с распадающимися эритроцитами. Подсчёт количества фрагментов проводят по отношению к тысяче эритроцитов. В норме количество фрагментов не превышает 3/1000 (3 промилле). Удобен и более точен автоматический анализ числа фрагментов клеток с помощью видеомикроскопического комплекса.

Диагностическое значение: механическая резистентность эритроцитов понижается при воздействии различных экологических факторов усиливающих гемолиз эритроцитов, снижающих гемоглобинообразование. При этом число фрагментов возрастает в 1,5 и более раз.

2. Экспресс–метод одновременной оценки тепловой резистентности эритроцитов и их количества

В крови, помещенной на четыре часа в термостат при температуре, более высокой, чем 37,5° С часть эритроцитов лизируется. Число таких эритроцитов тем больше, чем ниже их температурная резистентность.

Реактивы и аппаратура: гепаринизированные пробирки для взятия крови, микропипетки на 0,01 мл, термостат, гемоцитометры или камеры Гаряева.

Ход определения: 0,5 мл крови из пальца набирают в сухую ранее гепаринизированную пробирку. 0,01 – 0,02 мл крови из пробирки забирают для подсчета числа эритроцитов в гемоцитометре. Оставшуюся пробу крови ставят в термостат при 42°С на 4 часа. По окончании периода инкубации кровь перемешивают, вновь забирают 0,01 – 0,02 мл крови и подсчитывают число эритроцитов в гемоцитометрах тем же способом, что и в первый раз.

Тепловая резистентность эритроцитов тем выше, чем меньше разница между 1 и 2 определениями числа эритроцитов. Количество ее определяют по *гемолитическому индексу (ИГ)*:

$$ИГ = \frac{(\mathcal{E}_1 - \mathcal{E}_2)100}{\mathcal{E}_1}$$

где $\mathcal{E}_1$ – число эритроцитов при первом определении, $\mathcal{E}_2$ – число эритроцитов при втором определении.

ИГ – есть процент лизировавшихся эритроцитов при 42° С за данное время.

Диагностическое значение: нарушения липидного и микро-элементного обменов при воздействии радиационных и химических экологических факторов снижают тепловую резистентность эритроцитов и могут вести к усилению их распада под влиянием высоких внешних температур и формированию анемии.

3. Оценка осмотической резистентности эритроцитов в условиях осмотического эквilibра (В.Н. Кидалов, 1994)

Осмотический гемолиз в гипотонической среде – растворах хлорида натрия невысоких концентраций завершается в течение 2–5 мин. Границы концентраций этой соли, при которых определяется начальный и конечный гемолиз эритроцитов имеют значительные индивидуальные колебания, особенно в диапазоне 0,4–0,6 % концентраций раствора этой соли. Умеренное повышение концентрации хлорида натрия в инкубационных растворах для эритроцитов вызывает экстракцию во внеклеточную среду части поверхностных клеточных белков, деформацию спектринового комплекса клетки и как бы подготавливает клетку к лизису. Кратковременное помещение эритроцитов в умеренно гипертонический раствор хлорида натрия и последующая инкубация в течение 5 мин в умеренно гипотоническом растворе (осмотический эквilibр) вызывает лизис наиболее старых, энергетически истощенных клеток. Количество последних увеличивается при нахождении организма в неблагоприятной экологической обстановке, характеризующейся воздействием ряда физических и химических факторов.

Аппаратура и реактивы: микроскоп, или комплекс для телевизионной микроскопии, гемоцитометр, пробирки, мерные пипетки, умеренно гипертоничный раствор хлорида натрия (1,44 %), умеренно гипотоничный раствор этой же соли (0,55 %), 1 % раствор глютарового альдегида.

Ход определения: 0,2 мл крови из пальца помещают в первую пробирку с 1 мл 1,44 % раствором хлорида натрия. Перемешивают встряхиванием и через 1 минуту (по секундомеру) 0,1 мл клеточной взвеси помещают на 4 мин во вторую пробирку с

8,9 мл 0,55 % раствора хлорида натрия. По истечении указанного времени в эту пробирку добавляют 1 мл 2 % раствора глютарового альдегида для прекращения дальнейшего лизиса клеток.

В первую пробирку, по истечении 4 мин добавляют 7,9 мл нелизирующего 1,44 % раствора и 1 мл 2 % раствора глютарового альдегида.

Далее приступают к подсчёту числа эритроцитов в первой ($\mathcal{E}p_1$) и во второй ($\mathcal{E}p_2$) пробирках вручную с использованием гемоцитометра и с учётом 500 кратного разведения крови, либо используют программу записи выбранного количества полей зрения с помощью канала для телевизионной микроскопии рабочей станции.

Осмотическая резистентность эритроцитов (ОРЭ) в условиях осмотического эквilibра подсчитывают в процентах по формуле:

$$OPЭ(\%) = \frac{\mathcal{E}p_2 \cdot 100}{\mathcal{E}p_1}$$

Диагностическое значение: ОРЭ здорового человека, невысок, в предельных случаях нормы колеблется от 15 до 25 %.

При неблагоприятном воздействии на организм умеренно интенсивных внешних факторов и при длительном хранении крови этот показатель может повышаться до 50 %. В случае развития профессиональной патологии, особенно при отравлении органическими соединениями или солями тяжелых металлов, при облучении неионизирующей радиацией ОРЭ может превышать 50 %, что свидетельствует о снижении устойчивости эритроцитарных мембран и о склонности к усиленному эритродиерезу эритроцитов периферической крови обследуемого.

4. Методы оценки изменений характеристик крови, обусловленных электрическими процессами. Определение суспензионной стабильности крови (по И.И. Мищуку)

В норме эритроциты собираются в агрегаты при низких скоростях сдвига – ниже 50 с^{-1} . При эндогенных и экзогенных интоксикациях агрегаты эритроцитов образуются при ско-

ростях сдвига на порядок больше ($500\text{--}600\text{ с}^{-1}$ и более), т.е. даже в сосудах с самой высокой скоростью кровотока. В таких случаях повышенная агрегируемость клеток приводит к изменению скорости оседания эритроцитов (СОЭ) и отражается на гематокритной величине (Ht).

Аппаратура и реактивы: микрогематокритная центрифуга, прибор Панченкова для определения СОЭ, гепаринизированные капилляры или капилляры обработанные ЭДТА, 3 % раствор трехзамещенного цитрата натрия.

Ход определения: общепринятым способом из прокола пальца забирается кровь для постановки СОЭ. Одновременно заполняются капилляры и определяется гематокрит (Ht). По процентному отношению гематокрита и СОЭ находят агрегационный коэффициент эритроцитов (АКЭ):

$$AKЭ = \frac{100 \cdot Ht, \%}{COЭ, \%}$$

В данном уравнении СОЭ выражается в процентах, а не в мм /ч. Например, $COЭ=10\text{ мм/ч}$, т.е. отношение участка капилляра с эритроцитами ко всему столбику крови = 90 %. При гематокритном числе = 45 % $AKЭ = (100 \% \times 45 \%):90 \% = 50 \%$.

Диагностическое значение: повышение АКЭ коррелирует со степенью нарушения кровотока в венозных отрезках капилляров и в венулах в связи с уменьшением агрегационной стабильности крови, увеличением количества агрегатов в крови, а также, с уменьшением текучести и дзета–потенциала форменных элементов.

У здоровых людей АКЭ колеблется в пределах 45–55 %. При эндогенных интоксикациях, а также при экзогенных интоксикациях может иметь место, как повышение, так и понижение АКЭ.

5. Метод ускоренной (косвенной) оценки электрического заряда эритроцитов крови по скорости электрооседания эритроцитов (по А.А. Крылову)

Скорость оседания эритроцитов (СОЭ) зависит от соотношения сил, нарушающих стабильность эритроцитарной взвеси и сил, стабилизирующих её, в том числе от величины элек-

трического потенциала эритроцитов. Если отрицательный электрический заряд эритроцитов высок, то они взаимно отталкиваются с большей силой, а, следовательно, менее подвержены действию факторов, ускоряющих оседание. Электрический заряд эритроцитов обеспечивает сложную стереометрию клеточных структурных ассоциаций в движущейся и оседающей крови. Отрицательный заряд эритроцита выполняет функцию «электрораспора» красных кровяных телец, что, в свою очередь, имеет связь с ритмом сердца и Ph крови. Электрический потенциал эритроцитов подвержен изменению под влиянием экзогенных (количества отрицательных ионов во вдыхаемом воздухе) и эндогенных факторов (заболеваний).

Аппаратура и реактивы: капилляры и аппарат Панченкова с отверстиями для введения в капилляры сверху и снизу микроэлектродов от сети с постоянным электрическим током 4,5 В, 5 % раствор цитрата натрия трёхзамещённого, набор для взятия проб крови из пальца.

Ход определения: цитратную кровь (в разведении цитрат натрия – кровь = 1:1) набирают в 3 капилляра Панченкова и устанавливают в вертикальный штатив.

Первый капилляр контрольный (в нём определяют СОЭ), второй и третий – опытные, в них сверху и снизу на глубину 0,5 см вводятся тонкие проволочные (платиновые) электроды, подключенные к источнику постоянного тока.

Во 2-м капилляре (в нём определяют ускорение СОЭ – скорость электрооседания эритроцитов – СЭОЭ↓) ток пропускается в нисходящем направлении.

В 3-м – в восходящем направлении (здесь определяют замедление оседания СЭОЭ↑).

Нисходящий ток ускоряет оседание эритроцитов, а восходящий замедляет.

Ток в течение часа пропускают по схеме свободного электрофореза в указанных капиллярных камерах – капиллярах с электродами, после чего регистрируют результаты.

Диагностическое значение: рассчитывают коэффициенты электроускорения (КЭУ) и электрозамедления (КЭЗ):

$$КЭУ = СЭОЭ↓ / СОЭ,$$

$$КЭЗ = COЭ/СЭОЭ↑$$

Оба коэффициента прямо пропорциональны величине электрического заряда эритроцитов и колеблются в норме от 1,2 до 3,1.

При воздействиях на организм неблагоприятных факторов среды величины этих коэффициентов выходят за указанные пределы.

Метод может быть полезен для оценки влияния на организм человека неионизирующих излучений. При использовании рабочей станции для телевизионной микроскопии с горизонтальным расположением оси оптического канала наблюдения возможно видеомониторирование изменений циркуляции эритроцитов в капилляре и их конфигурации в период пропускания электрического тока.

6. Оценка электрофоретической подвижности эритроцитов (по В.В. Игнатьеву)

Форетическая подвижность эритроцитов характеризует величину «ионных атмосфер», окружающих плазмолемму красной клетки крови изнутри и снаружи. Этот параметр, с одной стороны, косвенно отражает интенсивность метаболических процессов, протекающих в клетке, а с другой стороны, характеризует величину сил электростатического отталкивания, существующих между клетками крови при их движении по сосудам (Чижевский А.Л., 1962).

Метод основан на прямом измерении скоростей перемещения эритроцитов в квазипостоянном электрическом поле, в зависимости от времени их инкубации в изоосмотической среде (раствор Рингера, 0,9 % раствор хлорида натрия) и последующей оценке их электрофоретической подвижности в различные временные интервалы.

Реактивы и оборудование: телевизионный микроскоп с увеличением монитора не менее 2000–3000 раз, видеоманитфон для документирования видеоизображений, комплектный высокостабильный источник электрического тока (РППТН и ГЗ–107), измерители величины тока и напряжения (микроам-

перметр и микровольтметр, класс точности 0,02), секундомер, устройство ввода видеоматериалов в компьютер, компьютер, платиновая или серебряная проволока для электродов, предметные и покровные стекла, пробирки и мерная лабораторная посуда, стерильные салфетки, вата, термостат, аналитические весы, стерильные иглы для разовых шприцев, скальпели, пипетки, термометр, ампулы по 10 мл 0,9 % раствора NaCl.

Ход определения: исследования проводят при температуре препарата 25 – 37° С. Взятая проба крови (10 мкл) разводится в пропорции 1:1000 в 0,9 % растворе хлорида натрия.

Капля приготовленной взвеси эритроцитов помещается в электрофоретическую парафиновую камеру на предметном стекле. Оставшаяся взвесь инкубируется при температуре 37° С в термостате.

Электрофоретическую камеру устанавливают под объектив TV-микроскопа и записывают перемещение эритроцитов при постоянных значениях напряжения – U и тока – I ($0,1 \text{ В} < U < 0,3 \text{ В}$; $10 \text{ мА} < I < 100 \text{ мА}$).

Перемещение эритроцитов документируется в форме видеоряда. По материалам видеозаписи определяются скорости перемещения эритроцитов. Измерение скоростей производится для 6-ти времен инкубации в 0,9 % растворе NaCl, а именно:

T_0 – 1 – 3 минуты после взятия крови,

T_1 – 15 минут после взятия крови,

T_2 – 30 минут после взятия крови,

T_3 – 45 минут после взятия крови,

T_4 – 60 минут после взятия крови,

T_5 – 90 минут после взятия крови

По анализу видеоматериалов строятся зависимости $\mu(T_{ин})$ подвижности эритроцитов от времени инкубации в изоосмотической среде.

Диагностическое значение: величина $\mu(T_{ин})$ при $T_{ин} \rightarrow 0$ характеризует плотность «ионных атмосфер» эритроцитов. Кроме того, из графика $\mu(T_{ин})$ можно найти время полупотери электрофоретической подвижности эритроцита, которое косвенно, но значимо, связано с ионной проницаемостью его плазмолеммы. Кроме времени полупотери подвижности эритроци-

тов можно пользоваться и другой высокочувствительной характеристикой – скоростью изменения во времени подвижности эритроцитов – $\gamma(T_{ин})$, то есть:

$$\gamma(T_{ин}) = \frac{\Delta\mu(T_{ин})}{\Delta(T_{ин})},$$

где, $\Delta\mu(T_{ин})$ – изменение подвижности клеток на интервале $\Delta(T_{ин})$ инкубации.

С целью увеличения точности нахождения параметра $\gamma(T_{ин})$ измерения $\Delta\mu(T_{ин})$ следует делать более часто, регистрируя до 30–100 точек.

Измерения $\gamma(T_{ин})$ и $\mu(T_{ин})$ позволяют косвенно оценить изменения параметров ионного транспорта через плазмолемму эритроцитов в условиях воздействия на организм токсических и других экологических факторов.

7. Примерная оценка величины дзэта (ϵ)–потенциала эритроцитов по их электрофоретической подвижности

Электрокинетический потенциал или ϵ –потенциал является потенциалом поля электрического заряда клетки, возникающем на границе скольжения между эритроцитом и плазмой, он появляется потому, что эритроцит окружен двойным слоем противоионов, уравнивающих потенциал, определяющий заряд эритроцита. На внешней поверхности эритроцит имеет отрицательный электрический заряд. В результате действия электростатических сил к нему притягиваются положительно заряженные ионы, образующие наружный адсорбционный слой. Часть положительных ионов в результате взаимного отталкивания и теплового движения располагаются на некотором расстоянии от поверхности эритроцита в плазме, т.е. образуют второй диффузионный слой, который удерживается у поверхности эритроцита электростатическими силами. Разность потенциалов (ϵ –потенциал) появляется при смещении эритроцитов или плазмы между их поверхностями в тех случаях, когда толщина адсорбционного слоя ионов этих клеток меньше толщины диффузионного.

Дзэта–потенциал рассчитывается по формуле:

$$\varepsilon = \underline{U_0} \cdot \eta,$$

где, U_0 – электрофоретическая подвижность эритроцита (ЭФП); η – коэффициент вязкости крови; E_0 – электрическая постоянная; E – диэлектрическая проницаемость крови (плазмы).

ЭФП есть величина, измеряемая скоростью движения эритроцитов под действием электрического поля единичной напряженности, отражающая характеристику электрического заряда клеток крови.

Метод основан на определении с помощью обычной или телевизионной микроскопии скорости передвижения отдельных эритроцитов в электрическом поле. По скорости их перемещения определяется U_0 , а по вышеприведенному уравнению рассчитывается дзета-потенциал.

Аппаратура и реактивы: электрическая микрокамера на основе камеры Горяева с вмонтированными микроэлектродами, световой микроскоп рабочей станции для телевизионной микроскопии, микроцентрифуга, микропробирки.

Ход определения: с помощью микроцентрифуги и капилляров для определения гематокрита устанавливают значение гематокрита капиллярной крови. Разрезают капилляр над столбиком эритроцитов. 1 часть плотной взвеси эритроцитов помещают в 100 раз больший объем плазмы крови. Эту сильно разведенную взвесь эритроцитов помещают в камеру с электродами. После подачи напряжения (не более 60 В) с помощью окуляра-микрометра, либо по сетке камеры Горяева на экране монитора определяют расстояние, проходимое эритроцитом за 2–3 с. Повторяют измерения ещё для заданного числа эритроцитов (не менее 10).

Далее, для расчетов используют среднюю величину пути, пройденного эритроцитами в секунду, выражая её в м/с (*скорость перемещения эритроцитов – U*). *Напряженность электрического поля E* в В/м принимают (в соответствии с данными И.И. Мишука) равной 96 (на 20,4 мГц), η – 1,7 мПа.с. При этом U_0 имеет размерность м²/В.с. U_0 равно в норме (1,0–1,3) · 10^{–8} м²/В.с.

Диагностическое значение: при η около $-1,7$ мПа.с ϵ – потенциал в норме равен $(18-25) \cdot 10^{-3}$ В. Сильные экзогенные интоксикации могут приводить к снижению этого показателя в 2–3 раза, умеренная интоксикация под влиянием экофакторов может сопровождаться как некоторым понижением, так и повышением (в пределах 30 %).

Примечания:

1. ϵ – потенциал (ДП) у доноров = $19,2 \pm 0,92$ мВ, у больных – $18,4 \pm 0,10$ мВ.

2. Электрические характеристики мембран эритроцитов: электрическая емкость мембран – $0,81$ мкф/см², толщина липидного слоя – $3,3$ нм, величина поверхностного натяжения – $0,1$ дин/см, толщина трехслойной плазматической мембраны – 10 нм.

3. Причины снижения ϵ : действие токсических факторов; адсорбция эритроцитами заряженных групп ионов на поверхности при длительном хранении крови.

8. Экспресс–метод оценки сохранности эритроцитарных взвесей при их хранении и воздействии неблагоприятных факторов среды

При хранении клеток в случае нарушения их мембранного аппарата происходит агрегация и слияние части клеток (рис. 11).

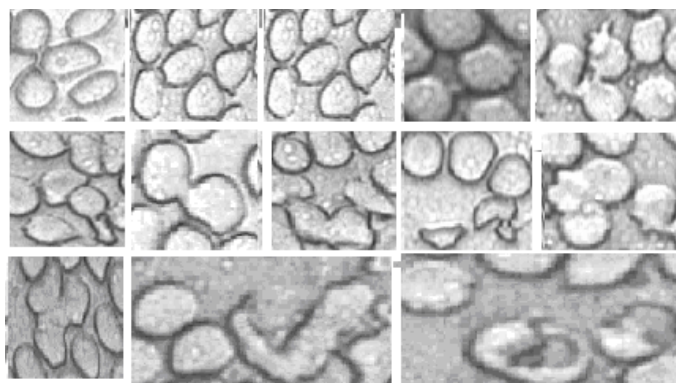


Рис. 11. Наблюдаемые варианты слияния эритроцитов при хранении крови.

На различных временных интервалах наблюдения за кровью определяется характер слияния (границы, площадь и др.) рядом расположенных эритроцитов, определяется также число агрегатов по 2 и более эритроцитов.

Аппаратура и реактивы: световой микроскоп рабочей станции для телевизионной микроскопии, пробы исследуемой крови или клеточные взвеси, микропипетки, предметные стекла и шлиф-стекла для изготовления тонких мазков, Камера с формальдегидом или 96 % спиртом для фиксации мазков крови в парах этих веществ.

Ход определения: в заданные временные интервалы при динамическом наблюдении из проб крови забирается 0,01 мкл крови и делаются тонкие мазки на предметных стеклах. Мазки могут фиксироваться в камерах парами этилового спирта, дихлорэтана или формальдегида. Затем они помещаются на предметный столик рабочей станции и изображения нескольких полей зрения тонкой части мазка регистрируются в виде видеоряда изображений. Вручную или с помощью программы рабочей станции подсчитывают Процент эритроцитов склеившихся в агломераты по 2, 3 и более клеток.

В зависимости от целей исследования одновременно учитывают характер слияния клеток (табл. 8):

Таблица 8

Типы слияния клеток

Характер слияния клеток в форме:	
Плотного контакта клеток 	Обмена содержимым торообразующих зон двух эритроцитов 
Полного слияния клеток с образованием одной общей внешней мембраны 	Слияния двух и более клеток с частичной фрагментацией внутреннего содержимого 
Перемычки 	

Диагностическое значение: с помощью данного метода можно оценивать активность неблагоприятного воздействия на кровь химических и физических факторов, оценивать степень сохранности эритроцитарной массы или цельной крови при их хранении в разных условиях и в разных химических средах.

9. Спектрофотометрическая оценка аутофлуоресценции (энергетичности) фагоцитирующих лейкоцитов крови

В процессе фагоцитоза *эхиноцитов* или других объектов фагоцитоза в результате работы клеточных ферментных конвейеров внутриклеточные запасы энергоемких веществ могут изменяться. Снижение их уровня сопровождается снижением аутофлуоресцентного отклика с поверхности фагоцитирующих клеток при их облучении ультрафиолетовым излучением, что может быть зарегистрировано с помощью телевизионного спектрофотометра рабочей станции для телемикроскопии и спектрофотометрии.

Реактивы и оборудование: рабочая станция для телевизионной микроскопии и спектрофотометрии (люминесцентный инвертированный микроскоп со спектрофотометрической насадкой) с увеличением не менее 500–1000 раз; предметные тонки стекла, счетная камера (гемоцитометр Горяева или др.), кварцевые покровные стекла; стерильные набор для взятия крови, пробирки, пипетки; термостат, сигнальные часы, лабораторная центрифуга; объект фагоцитоза эхиноциты либо стандартизированная микробная взвесь.

Ход определения: смешивают в пробирке 1 мл испытуемой крови с 0,5 мл объекта фагоцитоза, пробирку закрывают и инкубируют в термостате при 37° С 30 мин. Затем пробирку вынимают аккуратно перемешивают содержимое, не допуская бактериальной контаминации.

Микропипеткой из пробирки берут не более 0,02 мкл взвеси (кровь+объект фагоцитоза) и заполняют гемоцитометр (например, камеру Горяева) с притертым сверху кварцевым покровным стеклом. Препарат помещают на рабочий столик инвертированного люминесцентного микроскопа (рис. 12а) и наблюдают различные фазы поглощения фагоцитом эритроцитов (рис. 12б).

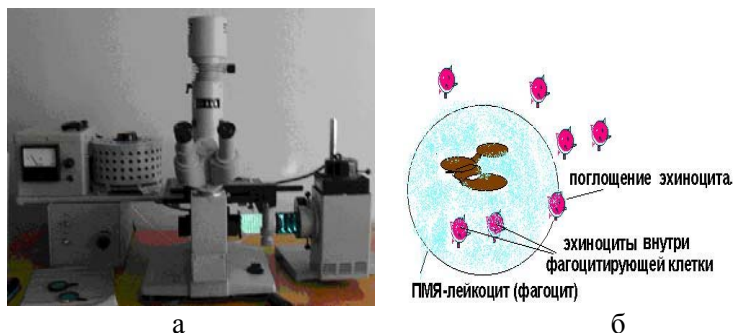


Рис. 12. Инвертированный люминесцентный микроскоп и схема эритрофагоцитоза.

Начинают облучение камеры возбуждающим ультрафиолетовым излучением и одновременно с помощью спектрофотометрической насадки регистрируют спектр свечения фагоцитирующего лейкоцита, предварительно подобрав соответствующее этой клетке отверстие зонда спектрофотометрической насадки.

Диагностическое значение: метод может быть использован для оценки функциональной активности фагоцитирующих лейкоцитов в процессе длительного хранения консервированной крови либо лейкоцитарных взвесей.

В эксперименте и клинике он может быть успешно использован для оценки изменений клеточного иммунитета у людей, подвергающихся действию неблагоприятных факторов внешней среды, либо страдающих какой-либо патологией.

10. Исследование методом электрофереза в полиакриламидном геле с додецилсульфатом натрия поверхностного слоя белков мембраны эритроцитов (по А.Н. Белоусову)

Коллоидные частицы магнетита проявляют сорбционную активность относительно поверхностных белков мембран. С помощью *магнитоуправляемого сорбента* (МУС-Б) можно существенно уменьшить явления клеточного апоптоза. Клетке для жизнедеятельности необходима энергия. Она получает ее из

окислительных процессов. Это сложная цепочка ферментативных превращений, в результате которых атмосферный кислород претерпевает четырехэлектронное восстановление и образуется вода. Но если восстановление кислорода проходит не полностью, то в клетке образуются ядовитые активные радикалы. Один из них – $\text{OH}\cdot$ может разрушить любую молекулу в наших клетках. Чтобы предотвратить апоптоз необходимо:

- повлиять на процессы свободнорадикального перекисного окисления липидов и тем самым предупредить возможные поломки в клетке;

- блокировать рецепторы мембран интактных клеток к идущим «губительным сигналам» от апоптирующих клеток используют нагрузку клеточных мембран магнитоуправляемым сорбентом.

В 1998 г. на Украине запатентованы препараты медицинской нанотехнологии, среди которых интракорпоральный биокорректор «ИКББ», *магнитоуправляемый сорбент* (МУС–Б) и «Микромаг–Б». Основу препаратов составляют коллоидные частицы магнетита (Fe_3O_4) размером от 6 до 12 нм. Наличие адсорбционного слоя обеспечивает коллоидным частицам магнетита высокую сорбционную активность. Суммарная площадь их сорбционной поверхности составляет от 800 до 1200 $\text{м}^2/\text{г}$, а напряженность магнитного поля, которое индуцируется каждой частицей – 300–400 кА/м. Намагниченность насыщения $I_s=2,15$ кА/м; объемная концентрация $q=0,00448$; вязкость $\eta=1,0112$ сСт.

С использованием этих частиц добиваются уменьшения проявлений клеточного апоптоза и распада клеток, действуя на поверхностный слой белков мембран клеток.

МУС–Б частично сорбирует поверхностный слой белков мембран эритроцитов, однако при этом толерантность мембран не только не уменьшается, а возрастает, что в целом проявляется уменьшением гемолиза.

Создатели препарата объясняют это ингибированием процессов *свободнорадикального перекисного окисления липидов* (СПОЛ), активацией антирадикальных ферментов, влиянием на трансмембранный обмен.

Вышеперечисленными механизмами обусловлены снижение активности клеточного и органного апоптоза, что препятствует развитию танатогенеза.

Реактивы и оборудование: пробирки с кровью; центрифуга; аппарат для электрофеза в полиакриламидном геле с додецилсульфатом; физиологический раствор хлорида натрия; раствор лимоннокислого натрия; коллоидные частицы магнитоуправляемого сорбента (МУС–Б); магнит с постоянным магнитным полем напряженностью 200 кА/м;

Объект исследования: эритроциты венозной крови человека.

Ход определения: все исследования проводят *in vitro*. Они включают 3 этапа: I этап – исходное состояние эритроцитов; II – после обработки МУС–Б; III – эритроциты на 14 сутки наблюдения.

Из периферической вены обследуемого в 2 пробирки с мелким порошком лимоннокислого натрия на стенках осуществляют забор венозной крови объемом 3 мл. В первую пробирку вводят МУС–Б в количестве 1,5 мл с последующим выделением последнего с помощью постоянного магнитного поля напряженностью 200 кА/м.

Свободная от МУС–Б венозная кровь вместе с контрольной пробиркой крови центрифугируется. После удаления плазмы в 1 мл клеточной взвеси добавляют по 3 мл физиологического раствора хлорида натрия.

Разделение белков мембран эритроцитов проводят методом электрофеза в полиакриламидном геле с додецилсульфатом натрия.

Мембраны отделяют центрифугированием, промывают физиологическим раствором, затем осуществляют солюбилизацию мембран 1 % раствором додецилсульфата натрия. Состав поверхностных белков мембран эритроцитов и выражают в %.

Взвесь клеток крови после выполнения биохимического этапа исследования хранят в холодильной камере при температуре +1С.

На 1–14 сутки визуально регистрируют признаки гемолиза (отмечают величину слоя свободного гемоглобина и величину слоя клеток).

Диагностическое значение: поскольку коллоидные частицы МУС–Б проявляют сорбционную активность относительно поверхностных белков мембран эритроцитов – спектрина и анкирина метод может быть использован для уменьшения проявлений клеточного апоптоза путем влияния на поверхностные белки мембран клеток, изменения трансмембранного обмена, ингибирования реакций СПОЛ, активации антирадикальных ферментов.

Коллоидные частицы магнетита (МУС–Б) могут получить использование в технологиях для повышения сроков хранения некоторых препаратов крови.

11. Метод Симпсона для определения активности антителообразующих клеток (АОК)

Антиэритроцитарные антитела, синтезируемые аутоантителообразующими клетками способны гемолизировать эритроциты барана в присутствии комплемента (сыворотки морской свинки).

Реактивы и оборудование: среда 199; физиологический раствор; 0,02 М трис–HCl–буфер; 0,14 М NaCl; комплемент морской свинки, эритроциты барана; пластиковые плато или пробирки; термостат; холодовая центрифуга; фотометр.

Ход определения: клетки селезенки выделяют обычным способом на холоду в среде 199, отмывают трижды физиологическим раствором и смешивают 1 мл содержащий 10000000 клеток/мл с равным объемом 0,2 % суспензии эритроцитов барана (ЭБ).

Предварительно истощенный против ЭБ комплемент морской свинки разводят в 0,02 М трис–HCl–буфере с 0,14 М NaCl (Ph 7,4) и добавляют (1 мл) к взвеси клеток. Через 1,5 часа инкубации при 37° С клетки осаждают центрифугированием. Супернатант переносят и измеряют на спектрофотометре СФ–46 поглощение при 414 нм.

Диагностическое значение: степень гемолиза эритроцитов отражает интенсивность антителообразования и, следовательно, «напряженность» иммуногенеза.

12. Определение числа бляшкообразующих клеток в стекловазелиновой камере (собственная модификация метода Н.Н. Клемпарской)

Аутоантителообразующие клетки крови и полиморфноядерные лейкоциты при их длительном контакте с эритроцитами крови в жидкой среде, в которой блокированы факторы свертывания выделяют субстанции способные лизировать расположенные в непосредственной близости к клетке эритроциты.

При повышении активности лейкоцитов либо при уменьшении стабильности клеточной мембраны эритроцитов либо при комбинации этих двух условий активность гемолиза контактирующих с лейкоцитами эритроцитов заметно повышается. При наблюдении за такой клеточной взвесью, помещенной в стекловазелиновую камеру регистрируется резкое усиление феномена локального гемолиза и в препарате вокруг большого количества клеток белого ряда визуализируются зоны локального гемолиза, т.н. «бляшки» (рис. 13).



Рис. 13. Зоны локального гемолиза:

а – начало образования «бляшки», б – выраженный локальный гемолиз – «бляшки сформированы». Световая микроскопия, ув . 250 –350.

Реактивы и оборудование: кровь испытуемого стабилизированная трехзамещенным цитратом натрия или ЭДТА; стерильный изотонический раствор хлорида натрия, 3 % стерильный раствор уксусной кислоты; стерильный вазелин в стерильном шприце; стерильные камера Горяева, микропипетки, пробирки; световой микроскоп либо рабочая камера для телевизи-

онной микроскопии и спектрофотометрии.

Ход определения: в первой пробирке 0,2 мл испытуемой цитратной крови смешивают с 2 мл физиологического раствора хлорида натрия. Взвесь аккуратно перемешивают.

Во второй пробирке смешивают аналогичный объем крови с 2 мл уксусной кислоты.

Готовят 2 препарата: в пипетку набирают 0,02 мл взвеси из первой, а затем из второй пробирок и заполняют камеры Горяева, в пазы которых под покровным стеклом зашприцуют стерильный вазелин. Препараты оставляют до 1 суток при комнатной температуре, либо при температуре +С в холодильнике.

По истечении времени, отпущенного исследователем на формирование бляшек, препараты помещают на предметный столик микроскопа и микроскопируют при средних увеличениях.

В первом препарате подсчитывают число бляшек, а во втором – число лейкоцитов. Проводят подсчет k_1 – числа ядродержащих клеток, вокруг которых образовались зоны гемолиза это число бляшек в первом препарате и k_2 – общее число лейкоцитов во втором препарате.

Вычисляют процент бляшкообразующих клеток от общего числа ядродержащих клеток по формуле:

$$\text{БОК (\%)} = (k_1 / k_2) 100$$

Диагностическое значение: общее число БОК в норме в крови здоровых людей не превышает 0,5–3 %.

Процессы приводящие к повышению в крови уровня антиэритроцитарных антител либо к снижению стойкости мембран эритроцитов к лизирующему действию ферментов лизосом фагоцитов могут вызывать резкое усиление бляшкообразования.

13. Активизация бляшкообразования в гиперосмотической среде (реакция стимулированного эритродиереза – СЭД) бляшкообразующих клеток в стекловазелиновой камере (авторская методика)

Усиление и ускорение реакции бляшкообразования достигают путем стандартной осмотической нагрузки как на лейкоциты, так и на эритроциты. В гиперосмотических условиях усиливается лабилизация эритроцитарных мембран. Степень этого

усиления будет зависеть также и от неблагоприятного воздействия на кровь химических факторов и внешних физических факторов. В препаратах СЭД легко визуализируются формы ядер бляшкообразующих клеток (рис. 14).

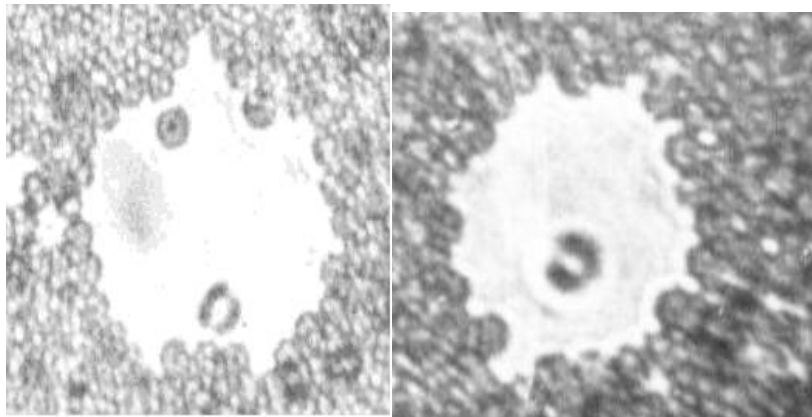


Рис. 14. Различные ядродержащие (бляшкообразующие) клетки в зонах локального гемолиза.

Реактивы и оборудование: те же, что и в методике «Определение числа бляшкообразующих клеток в стекловазелиновой камере», за исключением того, что стерильный физиологический раствор хлорида натрия заменен на гипертонический раствор с известной осмолярностью, например на 3 % раствор натрия хлорида.

Ход определения: аналогичен определению числа БОК, с учетом замены изотонического раствора натрия хлорида на гипертонический раствор и необходимости меньшего времени инкубации препаратов для получения надежного результата (6–12 часов).

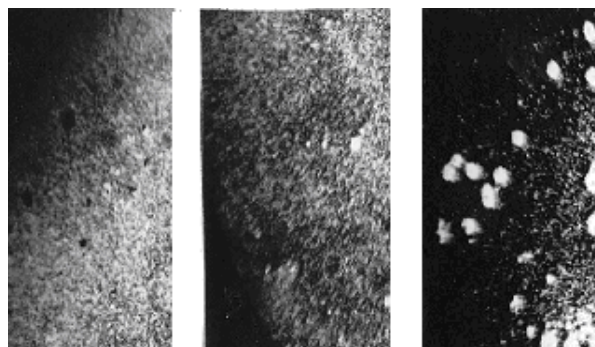


Рис. 15. Реакция осмотически стимулированного эритродиереза (СЭД) во времени (первый снимок – через 1 час, средний – через 6 часов, последний – через 12 часов)

Диагностическое значение: в норме число клеток, образовавших бляшки в гипертонической среде (показатель СЭД) через 6 часов не превышает 3–5 %.

При лабильности мембран эритроцитов исследуемой крови (при воздействии химических или физических агентов), а также при инфекционных заболеваниях процесс образования зон локального гемолиза может быть настолько бурным, что уже через сутки после изготовления препаратов будет отмечаться увеличение числа и площади бляшек, вплоть до образования полей гемолиза в препарате.

Примечание: при наличии рабочей станции для спектрофотометрии в качестве дополнительно контролируемого показателя можно использовать показатель интенсивности аутофлуоресценции ядросодержащих клеток, как включившихся в процесс бляшкообразования, так и «молчащих» или включающихся позже.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение биофизических основ слабых информационных воздействий – задача мультидисциплинарная.

За последние 5 лет в медицинском институте Тульского государственного университета (ТулГУ) осуществлен ряд фундаментальных и значимых прикладных исследований в области медицины и биологии. Они проводились в рамках Федеральной целевой программы (ФЦП) «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технического комплекса России на 2007-2012 годы», ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России на 2009-2013 годы», а также в инициативном порядке. Проведены работы по тематическому плану НИР ТулГУ «Разработка теоретических основ интегральной оценки жизнедеятельности биомедицинских систем» № 1.5.06, «Создание теоретических основ гармонизации живых систем» № 1.7.08., «Создание теории взаимодействия биологических активных веществ с функциональными механизмами управления живыми системами» № 1.3.09. Осуществлены исследования по Государственному контракту № 02.512.11.2137 на выполнение НИР «Управление дифференциацией стволовых клеток (эмбриональных и гемопоэтических) электромагнитным излучением крайневых высокочастотного диапазона», «Разработка способов культивирования и направленной кардиомиоцитарной дифференцировки эндометриальных стволовых клеток с целью их применения в заместительной терапии».

Были решены фундаментальные научные проблемы:

- разработана теория единого информационного поля ноосферы;
- создана теория взаимодействия высокочастотных электромагнитных полей с живым веществом;
- установлены основы теории внешнего управления деятельностью функциональных систем организма;
- открыто явление изменения параметров стационарных режимов функционирования биологических динамических систем;

– открыто явление стимуляции синтоксических и кататоксических механизмов адаптации, находящихся в гипоталамусе человека и животных.

– открыта закономерность развития коагулопатии при депрессии антиплазминовых механизмов крови;

– открыта закономерность структуры изменений в биологически активных жидкостях человека и животных под воздействием факторов окружающей среды;

Были осуществлены значимые прикладные исследования:

– доведен до серийного выпуска доплеровский анализатор сердечно-сосудистой деятельности плода; ультразвуковой доплеровский анализатор портативный с записью информации на микрочип, наличием звукового контроля, и программно-аппаратный ультразвуковой комплекс для диагностики деятельности системы кровообращения и создания баз данных;

– сконструирован магнитотерапевтический программно-аппаратный комплекс и изготовлен его макетный образец;

– создан комплекс аппаратуры биофизического эксперимента по высокочастотному воздействию на биологические объекты;

– сконструировано устройство для генерации право- и левовращающихся электромагнитных полей КВЧ; СВЧ-излучатели для внутритканевой диагностики в медико-биологическом эксперименте;

– разработан программно-аппаратный комплекс для анализа и конструирования новых лекарственных веществ с заданными свойствами.

На разработки имеются патенты и авторские свидетельства об изобретении.

Направления, тематика и решаемые задачи фундаментальных и прикладных исследований в настоящее время и их вероятные результаты:

Фундаментальные исследования:

– биофизические основы немедикаментозных и сочетанных управляющих воздействий на биологические системы и организм человека;

– биофизикохимическая теория взаимодействия электромагнитных полей нетепловой интенсивности с биообъектами:

- теория взаимодействия киральных электромагнитных полей с биообъектами.
- теория управления функциональными системами организма триадой: фазатон мозга (ГАМК-допаминаргической системы), гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой и гипофизарно-гипоталамо-репродуктивной системами;
- теория информационной значимости кластерной структуры воды.
- теоретическое обоснование тезиографии
- разработка клеточных технологий, экспериментальное подтверждение информационного переноса КВЧ-излучением свойств эталонных клеток на недифференцированные стволовые клетки;

Прикладные исследования:

- дистанционное управление сном и бодрствованием воздействием электромагнитного излучения, модулированного δ -волнами естественного сна;
- исследование регуляции основных ферментов (пепсина и др.) при воздействии на организм право- и левовращающихся магнитных полей;
- исследование генезиса репродукции млекопитающих в поколениях F2...F10 при воздействии на родительскую пару (F1) низкоинтенсивных высокочастотных электромагнитных полей и магнитных полей;
- сравнительные тепловизионные и тезиографические исследования биологически активных жидкостей;

Ожидаемые результаты:

Создание принципиально новых управляющих подходов к воздействию на живые системы без вмешательства в интимные механизмы регуляции деятельности функциональных систем, основанных на самоорганизации организма.

Уточнение биофизикохимических основ нетепловых электромагнитных полей позволит создать новые технологии управления процессами жизнедеятельности.

Результаты исследования обеспечат предупреждение профессиональных заболеваний на производствах с вращающимися электромагнитными полями (роторы двигателей, в том числе на железнодорожном транспорте).

Установление возможности антитеррористического эффекта индуцирования естественного сна в больших коллективах электромагнитным излучением КВЧ-диапазона, модулированным частотами δ -волн.

Обеспечение безопасности человека при медицинском использовании КВЧ-излучения, а также при разработке САНПИ-Нов для производств с профвредностями по электромагнитному излучению.

Совершенствование клеточных технологий для нужд клиники.

Создание технологий диагностики изменений биологически активных жидкостей при воздействии факторов внешней среды.

Все проведенные и планируемые медико-биологические исследования являются подготовительными к изменению сложившейся парадигмы, препятствующей дальнейшему развитию науки. Основные теоретические изыскания касаются создания объединительной теории, основанной на непротиворечивости имеющихся и апробированных теорий. Это теории *функциональных систем, хаоса и синергетики, энтропийной обусловленности процессов жизнедеятельности, гармонических и фрактальных соотношений* и др.

**Правила работы с мазками при их окраске
флуорохромными красителями**

Принцип люминесцентной микроскопии заключается в том, что объекты, окрашенные специальными красителями (флуорохромами), под действием облучения их ультрафиолетом испускают излучение в видимом спектре света.

В случае, когда объект не окрашен специальными красителями, ультрафиолетовый свет, проходя через объектив и попадая на препарат, поглощается молекулярными структурами объекта и также флуоресцирует но значительно с меньшим выходом света (аутофлуоресценция) При использовании красителя под действием ультрафиолетового света флуорохром возбуждается и начинает испускать кванты света в длинноволновой области, иначе говоря – светиться. В этом случае клетка становится источником света определенного спектра и хорошо видна на общем темном контрастном фоне препарата.

Источник света должен содержать в своем спектре длину волны, возбуждающую молекулы красителя, а светофильтры подбираются таким образом, чтобы добиться хорошего расхождения между длинами волн возбуждающего ультрафиолетового света и излучения, испускаемого возбужденными объектами.

Люминесцентный свет образует вокруг клетки ореол, благодаря которому видимые размеры светящейся клетки превышают ее физические размеры. В связи с этим окрашенные флуорохромными красителями препараты хорошо видны при увеличении 250х–450х, тогда как окрашенные фуксином – при увеличении 800х–1000х. Разница в увеличении позволяет исследователю наблюдать одновременно в 4–10 раз большее поле зрения, что существенно сокращает время, необходимое для просмотра мазка. Отсюда метод люминесцентной микроскопии требует в 2–3 раза меньших затрат времени для анализа той же площади мазка, чем микроскопия препаратов, подвергшихся химической окраске.

Кроме того, с помощью люминесцентной микроскопии достигается большая резкость и контрастность микроскопической

картины, что повышает комфортность микроскопического исследования. Глаз исследователя значительно легче обнаруживает флюоресцирующие оранжевые или ярко-желтые микрообъекты на темном или темно-красном фоне, по сравнению с черно-белыми объектами.

Для этой люминесцентной технологии исследования препаратов крови действующими остаются правила световой микроскопии, однако необходим учет и некоторых ее особенностей.

Оборудование и реактивы для проведения микроскопического исследования препаратов, окрашенных флюорохромными красителями.

Для проведения микроскопического исследования при окраске флюорохромами необходимы:

- штатив с окрашенными и высушенными мазками, которые должны быть расположены в порядке номеров регистрации;
- коробки для хранения просмотренных мазков;
- мягкая хлопчатобумажная ткань или марлевые тампоны для протирания линз микроскопа;
- бумага и ручка для записи результатов микроскопического исследования;
- емкость с дезинфицирующим средством.
- рабочая станция для телевизионной микроскопии и спектрофотометрии, либо просто люминесцентный микроскоп (для исследования мазков, окрашенных флюорохромными красителями, используют люминесцентный микроскоп с набором объективов и окуляров, позволяющих получить увеличение объекта наблюдения в пределах 250х–630х).

Необходимо использовать объективы, предназначенные для люминесцентной микроскопии. В случае применения покровных и предметных стекол они должны быть сделаны из кварца. Исследование рекомендуется производить с помощью бинокулярного люминесцентного микроскопа или микроскопа, тринокулярной насадкой. При люминесцентной микроскопии источником света могут служить кварц-галогеновая или ртутная лампы. Использование флуорохромов требует применения соответствующих фильтров. Так для красителей системы аурамин/ро-

дамин используют подборку из следующих фильтров (на примере микроскопа РПО8 ЛОМО):

- возбуждающий фильтр ФС 1–4;
- запирающий фильтр СЗС 21–2;
- нейтральный фильтр БС 8–3.

Светофильтры возбуждения служат для выделения из потока излучения источника света тех лучей, которые обеспечивают возбуждение и свечение объекта; эти фильтры устанавливаются в ветви осветителя.

Запирающий светофильтр служит для ограничения (срезания) света возбуждения и пропускания только света люминесценции; этот фильтр устанавливается в наблюдательной ветви.

Наблюдательные (сменные) фильтры имеют разное назначение: фильтры для защиты глаз от попадания красных и инфракрасных лучей; теплозащитные фильтры и др. В отечественных микроскопах применяются фильтры из стекла БС8 для предохранения объектов микроскопии от выцветания (выгорания).

Люминесцентные красители (аурамин ОО, родамин С и др.) связываются с воскоподобными структурами микробной клетки. При облучении окрашенных клеток возбуждающим источником света (определенный спектр ультрафиолетового излучения) они начинают светиться оранжевым или ярко-желтым светом на черном или темно-зеленом фоне.

Приготовление мазков и препаратов из нативного материала:

Окраска препаратов для люминесцентной микроскопии основана на наблюдении микроскопических объектов с использованием их способности к свечению. По сравнению с методами обычной микроскопии исследование в свете люминесценции обладает рядом преимуществ: цветное свечение, высокая степень контрастности светящихся объектов на темном фоне, значительно большая площадь поля зрения, возможность спектрофотометрических измерений.

При использовании люминесцентных микроскопов, необходимо иметь в виду, что качественная и эффективная окраска флуорохромными красителями требует обязательного соблюдения кислотности (рН) мазка. Перед нанесением материала на предметное стекло необходимо добиться нейтрального значения

pH (6,8–7,0). Уровень pH осадка определяют с помощью бумажной индикаторной полоски.

При окраске мазков флуорохромными красителями обычно рекомендуется фиксация в сухожаровом шкафу при 85⁰ С в течение 45 минут. Однако при отсутствии такой возможности допускается фиксация над пламенем горелки, фиксация в парах формалина или этилового спирта.

Мазки для люминесцентной микроскопии из осадка предпочтительно готовить после обработки материала детергентом с последующим отмыванием и центрифугированием. Однако следует помнить, что эти процедуры вызывают повреждение и лизис эритроцитов.

Оборудование и реактивы для окраски флуорохромными красителями.

Для окраски препаратов флуорохромными красителями необходимы:

- раковина или специальный вместительный лоток для проведения окраски;
- специальный штатив («рельсы») для окраски мазков на предметных стеклах;
- пинцет или щипцы для взятия предметных стекол с мазками;
- газовая или спиртовая горелка для фиксации препарата, если он не фиксирован ранее в сушильном шкафу;
- металлический стержень для приготовления ватного тампона, используемого вместо горелки для фиксации препарата перед окраской, если он не фиксирован ранее в сушильном шкафу;
- раствор флуоресцентных красителей;
- раствор для обесцвечивания мазков;
- раствор для гашения фона обесцвеченного мазка;
- емкость с дистиллированной водой для промывания мазков;
- штатив для просушивания окрашенных стекол на воздухе в вертикальном или наклонном положении.

При окраске флуорохромными красителями ни в коем случае нельзя подогрывать мазки и пользоваться фильтровальной бумагой.

Промывание мазков в процессе окраски возможно только после их полной фиксации, оно проводится только дистиллированной водой, так как водопроводная вода содержит соединения хлора, которые могут изменять флуоресценцию.

Микроскопию производят по возможности сразу же после окончания процедуры окраски люминесцентными красителями и высыхания мазков. В случае невозможности проведения немедленной микроскопии окрашенные мазки рекомендуется сохранять, прикрыв черной бумагой во избежание ослабления флуоресценции (эффект «выгорания»).

При окраске мазков необходимо:

- избегать неполного обесцвечивания,
- не делать толстых мазков, так как это затрудняет обесцвечивание и фиксацию мазка на стекле,
- соблюдать концентрацию, условия и срок хранения реактивов. Растворы желательно хранить в темной посуде при комнатной температуре не более 3 месяцев. Перед использованием растворов их просматривают для исключения преципитата. Если последний обнаружен, раствор можно профильтровать.

Окрашивание и исследование мазка

При окраске мазков не следует помещать на штатив («рельсы») и окрашивать одновременно более 12 стекол. Соприкосновение стекол боковыми краями может привести к переносу краски и инфект-агента с одного стекла на соседние.

В процессе окраски мазков при их промывании проточной водой не следует пользоваться резиновыми трубками или накопниками для направления струи воды на препарат. В окружающей среде и водопроводной воде содержится значительное количество кислотоустойчивых сапрофитов, которые легко размножаются на резиновых поверхностях в условиях повышенной влажности. Они могут попасть на препарат и обусловить ложноположительный результат анализа.

В число исследуемых мазков, подлежащих окрашиванию, необходимо ежедневно включать контрольные неокрашенные положительный и отрицательный препараты. Вначале микроскопируют контрольные мазки, а затем – мазки от больных.

При этом одной из важных особенностей работы с мазками, окрашенными флуорохромами, является то, что они не подлежат длительному наблюдению в выбранном поле зрения, так как интенсивность люминесценции окрашенного объекта быстро снижается (эффект «выгорания»). Другой особенностью работы является необходимость строгого соблюдения режима работы люминесцентного микроскопа:

Ртутную лампу нельзя выключать ранее, чем через 15 минут после ее зажигания. Повторное включение ртутной лампы допускается только через 10 минут после ее выключения (полного ее охлаждения).

Для предохранения препаратов от выцветания в перерывах между наблюдениями необходимо закрывать лампу шторкой.

Хранение приготовленных мазков

Приготовленные мазки хранят в защищенном от света месте при комнатной температуре. Используют специальные коробки. Стекла не должны соприкасаться друг с другом для исключения повреждения целостности мазка. Положительные мазки хранят 1 год и более, если больной находится это время в стационаре.

Окрашенные флуоресцентными красителями мазки чувствительны к ультрафиолетовому свету, особенно во время процесса бактериоскопии, и способны быстро обесцветиться. Для исключения этого мазки при просмотре мазков с помощью рабочей станции наблюдаемые поля записывают с помощью видеокамер. Просмотр препаратов должен происходить достаточно быстро, а при необходимости сделать паузу, перекрывают поток света от лампы шторкой.

Все флаконы с реактивами и красителями заводского производства должны иметь отметку о дате получения и вскрытия заводской упаковки. Любые некачественные материалы следует специально помечать и немедленно удалять из лаборатории.

В лаборатории или на складе следует иметь запас реактивов и расходных материалов на 6 месяцев работы.

Необходимо регулярно контролировать сроки годности препаратов и реактивов.

Перед началом микроскопического исследования необходимо:

- проверить наличие на столе для микроскопии необходимого для проведения микроскопического исследования оборудования и дополнительных материалов;
- снять чехол, которым накрыт микроскоп;
- осмотреть микроскоп и протереть сухой салфеткой механические части микроскопа;
- убедиться в целостности оптической системы;
- включить осветительную систему и убедиться в достаточности освещения;
- с помощью бумажной салфетки или марлевого тампона, смоченного спирто-эфирной смесью, протереть линзы объективов микроскопа;
- убедиться в том, что подготовленные для микроскопии окрашенные препараты достаточно хорошо высушены;
- с помощью вращения винта грубой фокусировки (макрвинта) опустить предметный столик, максимально отдалив его от объектива;
- поворотом револьверного устройства установить объектив с малым увеличением (10х) точно над конденсором;
- поместить на столик предметное стекло так, чтобы мазок находился прямо под объективом (при этом обязательно убедиться, что мазок находится в верхней плоскости предметного стекла, а не снизу);
- закрепить препарат на столике с помощью клемм или препаратоводителя;
- с помощью винтов препаратоводителя выбрать участок мазка для начала просмотра;
- раздвинуть окуляры до полного совмещения изображений, видимых правым и левым глазом исследователя;
- глядя сбоку, внимательно контролировать расстояние между стеклом и линзой объектива. Медленно вращая винт грубой фокусировки (макрвинт), поднять предметный столик с препа-

ратом к объективу, но не допускать соприкосновения предметного стекла с линзой объектива;

- глядя через окуляр, отрегулировать интенсивность светового потока так, чтобы свет был ярким, но комфортным. Для этого используют регулятор накала лампы, темные или матовые фильтры и лишь в крайнем случае изменяют степень открытия диафрагмы. Положение конденсора не изменяют;

- продолжая смотреть через окуляр, медленно повернуть макровинт, чтобы предметный столик отошел от линзы объектива. Обычно для получения изображения достаточно несколько поворотов винта;

- затем, глядя в окуляр, медленно вращать микровинт до тех пор, пока не появится изображение мазка. Небольшими поворотами микровинта настроить изображение до получения достаточной резкости. Никогда не поднимайте столик микроскопа, глядя в окуляр. Это может привести к соприкосновению фронтальной линзы объектива с предметным стеклом, повреждению линзы или порче препарата;

- глядя правым глазом в правый окуляр, сфокусировать изображение;

- глядя левым глазом в левый объектив, сфокусировать изображение путем поворота дополнительного фокусировочного кольца, расположенного на левом окуляре.

При люминесцентной микроскопии с использованием объектива 25х и окуляра 10х площадь поля зрения примерно в 10 раз больше, чем при световой.

По окончании микроскопического исследования необходимо:

- с помощью ксилола, спирто–эфирной смеси или спирта удалить с препарата иммерсионное масло и поместить препараты в отдельные коробки, где они сохраняются для последующего проведения внешнего контроля качества или перепроверки результата микроскопии;

- не следует очищать стекло слишком энергично, чтобы не повредить препарат и не удалить с него краску;

- все мазки необходимо укладывать в отдельные коробки для сохранения в том порядке, в котором проводилось исследо-

вание, чтобы в дальнейшем можно было провести внешний контроль качества в соответствии с установленным порядком.

Причины ошибок при флуоресцентной микроскопии. Ошибки при выполнении лабораторных процедур.

Ошибочные результаты могут быть обусловлены следующими причинами:

- плохая обработка пробирок и стекол;
- повторное использование одних и тех же предметных стекол;
- применение толстых предметных стекол (что затрудняет фокусировку при больших увеличениях), стекол с царапинами и другими дефектами, в результате чего появляются артефакты, в которых может задерживаться краска или флуорохром, остатки лейкоцитов, и других клеток);
- использование плохо профильтрованного или длительно сохранявшегося красящего раствора, содержащего кристаллы;
- наличие бактерий и других загрязнений в иммерсионном масле, если иммерсионные линзы не были очищены после положительных препаратов, если пипетка, которой кровь или другой материал наносится на мазок, случайно соприкасалась с предыдущей исследуемой пробой или мазком;
- наличие волокон шерсти, хлопка, фильтровальной бумаги; обычно они встречаются как единичные находки, чаще всего в одном поле зрения; пыльца некоторых деревьев и цветов, например сосны, которая может обнаруживаться в виде редко встречающихся в препарате коротких кокковидных палочек;
- нарушение условий хранения, транспортировки, консервации материала (высокая температура и низкая влажность, а также воздействие на материал прямого солнечного света или ультрафиолетового излучения (Так, под влиянием УФ-излучения содержащиеся в материале микобактерии могут утратить присущую им кислотоустойчивость);
- приготовление слишком тонкого или толстого мазка, плохой его фиксацией над пламенем горелки или несоблюдением режимов окрашивания (неправильная экспозиция при окраске);

- нарушение методики просмотра мазка (малое число просмотренных полей зрения);
- плохое качество красителей и реагентов;
- если после первичного просмотра с препарата не было удалено иммерсионное масло (при длительном воздействии оно обесцвечивает окраску) или препарат тщательно протирали при удалении иммерсионного масла, что вызвало повреждение мазка;
- хранение окрашенных мазков в месте, доступном прямым солнечным лучам или ультрафиолетовому свету, парам кислот.
- если мазки, окрашены флуорохромами, при длительном хранении они могут утрачивать флуоресценцию.

Учет результатов микроскопического исследования при окраске флуорохромными красителями

Мазки, окрашенные флуорохромными красителями, вначале просматривают под значительно меньшим увеличением (обычно 250х) – предварительное исследование, и лишь затем под большим (1000х).

Минимальные требования к созданию рабочих станций для телевизионной микроскопии и спектрофотометрии

Создание современных рабочих станций для телевизионной микроскопии и спектрофотометрии с высокой степенью контроля за качеством анализа и высокой технологической дисциплиной требует использования технологии технического зрения. Развитие информационных технологий и локальных анализаторов изображений существенно расширяет возможности анализа микрообъектов на клеточном и субклеточном уровне. Спектрофотометрия живых и переживающих клеток становится инструментом оценки интенсивности различных физиологических и патологических процессов, возникающих и протекающих в клетках на наноуровне.

Упомянутые современные рабочие станции в их минимальном оформлении и комплектации, строятся по модульному принципу. В настоящее время предъявляются следующие требования к основным модулям упомянутых рабочих станций (Пантелеев В.Г., Егорова О.В., Клыкова Е.И., 2005):

Требования к анализаторам изображения (АИ)

АИ – программно–аппаратный комплекс, предназначен для получения, преобразования, количественной обработки изображений и хранения полученной информации).

Возможно использование а) специализированного АИ (для одного типа препаратов, или для одной технологии оценки микрообъекта).

б) исследовательского АИ (полифункционального, для нескольких технологий).

Анализатор изображений для световой микроскопии должен иметь модульное строение и состоять из системы ввода изображений (микроскоп, камера), компьютера (ПК) и принтера для документирования на бумажном носителе полученных результатов.

Должна быть обеспечена возможность автоматической смены светофильтров и объективов в микроскопе, настройка освещения по Келеру и автофокус.

АИ должны обеспечить формирование больших полей наблюдения при анализе «несвязанных» объектов по принципу «штриховки» наблюдаемой зоны, либо по принципу «Метелочки». Анализаторы должны оперировать с разнородными объектами. Объекты, предназначенные для количественного анализа, по структуре условно делят на «несвязанные» и «связанные». Объекты «несвязанные», характеризуются тем, что для них не имеет значение расположение одних структурных элементов относительно других, а важны только факт наличия каких-либо элементов и их количество. Подобные объекты анализируются путем набора нужного количества полей наблюдения по заданному алгоритму перемещения по препарату

«Связанные» объекты существенно зависят от расположения одних структурных элементов относительно других.

В зависимости от задач исследования АИ должны оперировать непрозрачными, прозрачными, изотропными и анизотропными объектами, амплитудными, фазовым и амплитудно-фазовыми объектами, люминесцирующими объектами..

Микроскопы для люминесценции должны быть приспособлены для работы с нативными, переживающими, фиксированными и окрашенными препаратами, должны быть снабжены осветителем, возбуждающим люминесценцию объекта сверху, светофильтрами (системой из возбуждающих и запирающих светофильтров и полупрозрачного дихроичного зеркала).

Источниками света возбуждения люминесценции должны быть правильно подобраны: Галогенные лампы в качестве источников света не всегда пригодны для флуоресцентной микроскопии. Металлическая нить накаливания преобразует большую часть потребленной электроэнергии в красный или невидимый инфракрасный свет. Лучше использовать ртутные и ксеноновые лампы высокого давления, например ртутные лампы, имеющие, в зависимости от мощности, типовое обозначение HBO 50 (50 Вт) и HBO 103 (100 Вт).

Должны использоваться следующие группы светофильтров обеспечивающие нормальное функционирование люминесцентных микроскопов:

- светофильтры возбуждения (для выделения из общего потока излучения источника света тех лучей, которые обеспечат возбуждение и свечение объекта);
- запирающий светофильтр (для срезания света возбуждения и пропускания только света люминесценции);
- сменные фильтры для защиты глаз от попадания красных и инфракрасных лучей и др.;
- теплозащитные светофильтры из стекла БС8 для предохранения объектов от выцветания.
- АИ должны использовать линейные и круговые микрометры (эталонные круги)

Требования к компьютеру

ПК должен быть обеспечен соответствующими программами, работать надежно, без сбоев с программным обеспечением, выполнять задачи обработки изображений любого уровня.

ПК должен быть тестирован на корректность работы под Windows.

ПК должен позволять работать с изображением, размер которого достигает нескольких МБ, процессор должен обладать большим быстродействием, компьютер должен быть оснащен большой оперативной памятью (1 и более ГБ),

Электронные платы ПК должны быть совместимы с периферийными устройствами рабочей станции и изготовлены по международным стандартам

Требования к монитору

Размер монитора должен позволять работать с изображением при масштабировании 1:1, поскольку в этом случае размер изображения в пикселях на экране компьютера соответствует формату, введенному с камеры. Монитор с диагональю 17 дюймов – необходимый минимум. При использовании в системе ввода анализатора цифровых камер с матрицей более одного

миллиона пикселей применяют 19– или 21–дюймовые мониторы; 21–дюймовые предпочтительны при работе с цветными камерами, т.к. обладают более высоким качеством цветопередачи.

Количественный анализ размеров и формы объектов требует наличие монитора с минимальными геометрическими искажениями, особенно в углах. Точность коррекции этих искажений является одним из важных свойств монитора.

«Увеличение», с которым наблюдают и анализируют изображение на мониторе, должно складываться из нескольких составляющих:

- оптического увеличения микроскопа (объектив, дополнительные системы увеличения),
- увеличения адаптера, проецирующего изображение объекта на матрицу камеры («микроскопное» увеличение).

Должно обеспечиваться электронное масштабирование, при передаче изображения с матрицы камеры на монитор. Оно может достигать значительной величины. Пример: при масштабировании изображения объекта с матрицы камеры размером $\frac{2}{3}$ дюйма на всю площадь 17–дюймового монитора с разрешением 1280x1024 точки, достигается 37–кратное общее «увеличение» на экране электронно–лучевого монитора относительно размера изображения на матрице. По данным Пантелеева В.Г. и соавт. (2005), оно не повышает разрешение объекта и не прибавляет дополнительную информацию об его строении, но позволяет видеть разрешаемые микроскопом элементы объекта более крупно.

Требования к видеокамерам

Должны использоваться матрицы по типу микрочипа. Матрица, определяет качество изображения, получаемого на экране монитора компьютера. Матрицы могут отличаться способом считывания сигнала и регистрации изображения. Предпочтительно использование матриц типа ПЗС – «прибор с последовательной зарядовой связью» (с английского CCD –Charged Coupled Device). Распространенная матрица ПЗС представляет собой полупроводниковый (кремниевый) чип, с небольшим окном на поверхности, представляющим собой двумерную

матрицу из очень маленьких прямоугольных детекторов света – пикселей

Матрицы для аналоговых камер могут иметь прямоугольные пиксели (большой размер в вертикальном измерении). Это связано с ограничением разрешения телевизионного сигнала по вертикали (525 строк для NTSC, 625 строк для PAL). Неквадратные пиксели дают более высокое горизонтальное разрешение, чем вертикальное.

При использовании камер для люминесценции они должны обладать высокой чувствительностью и возможностью накопления сигнала на ПЗС.

Требования к программному обеспечению

Программное обеспечение анализатора изображений должно соответствовать технологии предполагаемой работы и выполнять набор функций из ряда основных блоков:

- блок ввода кадров и серий кадров, регистрации входных данных;
- блок редактирования, изменения яркости, контрастности, морфологических операций и арифметических операций;
- блок нахождения анализируемых объектов на изображении;
- блок измерений в интерактивном и автоматическом режиме, классификатор объектов с программой статистической обработки;
- блок вывода результатов обработки, печати заключений, обмена с базой данных, взаимодействия с другими программами;
- блок настройки функциональных клавиш, создания алгоритмов, установки начальных параметров работы программы и т.д.;
- блок спектральной регистрации флуоресценции и спектрофотометрии;
- справочно-информационная система пользователя.

Рабочие программы компьютерной микроскопии должны обеспечивать решение задач «сшивки» ряда последовательно снятых полей наблюдения в одно изображение высокого разре-

шения, трехмерной реконструкции микрообъекта, анализ объектов при низкой освещенности (флуоресцирующих и др.), подвижных и изменяющихся объектов (анализ по типу цейтраферной съемки), преобразования изображений (усиление контраста, сглаживание, коррекция неравномерного фона, распознавания полиморфных объектов, разделение объектов по классам, количественный, статистический анализ, нахождение взаимосвязей, хранение, каталогизацию и архивирование материалов, оформление результатов исследования.

В рабочих программах должна быть предусмотрена возможность к обмену информацией в сетях.

Требования к спектрофотометрическим насадкам

(Кидалов В.Н., Хадарцев А.А., Сясин Н.И., 2005)

Насадки должны позволять проводить анализ и запись (в диапазоне длин волн 420–800 нм) в цифровом и графическом виде спектров аутофлуоресценции и индуцированной флуоресценции «чистых» и флуорохромированных препаратов.

Для возбуждения флуоресценции необходим интенсивный коротковолновый и длинноволновый свет (УФИ).

Насадка должна позволять измерять интенсивность свечения на следующих длинах волн: 3.2.

Таблица 9

Соотношение длин волн и цвета (по Пантелееву В.Г., Егоровой О.В., Клыковой Е.И., 2005)

Длина волны	Цвет
340—400 нм	ближнее ультрафиолетовое излучение (невидимое)
400—430 нм	фиолетовый
430—500 нм	синий
500—560 нм	зеленый
560—620 нм	желтый с оранжевым
620—700 нм	оранжевый с красным
более 700 нм	ближнее инфракрасное излучение (невидимое)

**Некоторые компоненты для обновления рабочих станций
для телевизионной микроскопии и спектрофотометрии**

Оснащение	Свойства
1.Объективы и светофильтры для флуоресценции. Компания Olympus. Новая серия объективов для биологии и медицины – UIS2.	Улучшены пропускная способность, разрешение объективов, увеличен рабочий диапазон длин волн (с УФ и ИК). Изменены марки оптического стекла и способ просветления. Разработаны новые светофильтры для флуоресценции, светоделительные устройства, расширен перечень предлагаемых фильтровых кубов для флуоресценции
Модульная система Axio Imager на базе флуоресцентного микроскопа. Фирма Carl Zeiss . Высокоскоростные моторизованные турели для флуоресцентных модулей с 6 или 10 гнездами предназначены для современных time-lapse флуоресцентных исследований. Система укомплектована самоцентрирующейся ртутной лампой, объективами LCI Plan-Neofluar и многим другим. Рама микроскопа имеет встроенное программное обеспечение, порты для подключения USB и TCP/IP. Axio Imager может управляться дистанционно по сети. Программное обеспечение связано со всеми моторизованными компонентами, такими как фильтровые турели, револьверная головка и др. и позволяет пользователю мгновенно переходить от одной техники обзора к другой. Оптимизированный DIC обеспечивает не только высочайший контраст, но и равномерное освещение. Бриллиантовое качество в темном	Новый IC2S (Infinity Contrast & Color Corrected System) в системе Axio Imager обеспечивает оптимальное оптическое качество и максимум контраста при любой технике микроскопии. Оптимизирован DIC, достигнут высочайший контраст и равномерное освещение. Темное поле от 2.5х до 100х МИ комбинируется со светопольным режимом в одном конденсоре. Благодаря апохроматической коррекции светопотока в объективах Axio Imager достигается максимальное качество изображений во всем рабочем диапазоне длин волн. Интенсивность света возбуждения увеличена с использованием новой технологии на 70 процентов по сравнению с обычными флуоресцентными фильтрами.

поле от 2,5х до 100х МИ может быть скомбинировано со светлопольным режимом в одном конденсоре. Благодаря апохроматической коррекции светопотока в Axio Imager достигается максимальное качество изображений во всем рабочем диапазоне длин волн. Флуоресцентные светофильтры с улучшенным соотношением сигнал/шум позволяют уменьшить экспозицию до 50 %. Интенсивность света возбуждения увеличена с использованием новой технологии на 70 % по сравнению с обычными флуоресцентными фильтрами. Высокоскоростные моторизованные турели для флуоресцентных модулей с 6 или 10 гнездами предназначены для современных time-lapse флуоресцентных исследований. Система укомплектована самоцентрирующейся ртутной лампой, объективами LCI Plan-Neofluar и многим другим. Рама микроскопа имеет встроенное программное обеспечение, порты для подключения USB и TCP/IP. Axio Imager может управляться дистанционно по сети. Программное обеспечение связано со всеми моторизованными компонентами, такими как фильтровые турели, револьверная головка и др. и позволяет пользователю мгновенно переходить от одной техники обзора к другой.	
--	--

Достигнут новый уровень флуоресцентной оптики: – выпущены объективы с увеличенным светопропусканием, высоким контрастом и оптимизированным рабочим расстоянием; – Leica Microsystems дала жизнь новому поколению автоматических микроскопов для биологии и медицины – Leica DMI 6000 B. Это комбинация высококачественной оптики нового поколения с гибкостью комбинаций рамы инвертированного микро-

скопа. Камеры, детекторы и источники света могут быть установлены для совместного и отдельного использования. Быстрая смена длин волн света возбуждения осуществляется встроенной моторизованной турелью светофильтров. DMI 6000 В оснащается инкубатором, термостолком, специализированными объективами и др. В приборе оптимизированы оптические пути, дополнительно уменьшено фоновое свечение, что позволяет получать высокое качество флуоресцентных изображений. В комбинации Fluorescence Intensity Management system (FIM) уровень света возбуждения может точно контролироваться, т.о. уменьшая повреждение живых клеток при длительных экспериментах. Новый Excitation Manager (ExMan) позволяет исследователю точно настраивать баланс между уровнями свечения образца с двумя метками. Упрощено переключение с одного метода контраста на другой.

Программный продукт InfiniteFocus компании Alicona – решает проблемы трехмерной реконструкции и трехмерных измерений для световой микроскопии (топографическая микроскопия). Изображение комбинируется из двух масок – рельефа и микроструктуры. Может применяться как в материаловедении, так и в биологии.

Цифровой оптический микроскоп для сканирования образцов на предметных стеклах запущен в серийное производство компанией Nikon. Прибор назван Coolscope и представляет собой системный блок с устройством подачи препарата, визуализация проводится только на компьютерном мониторе. С помощью удобного интерфейса исследователь задает системе необходимое увеличение и регион исследования, все остальное происходит автоматически.

Отечественное сертифицированное оборудование для флуоресцентной диагностики и лазерной медицины производит ЗАО «БИОСПЕК». ЗАО образовано на базе Лаборатории лазерной биоспектроскопии ИОФРАН (руководитель Лощенов В.Б. 119991, Москва, ул. Вавилова, 38, ЦЕНИ ИОФРАН, Лаб. лазерной биоспектроскопии. Тел.: (095) 248–7352, Факс: (095) 132–8200 Интернет: E-mail: biospec@nsc.gpi.ru).

Специализируется в использовании методов спектрального анализа биологических тканей для клинических и биомедицинских применений.

В ней разрабатывались миниатюрные высокоэффективные спектрометры семейства ЛЭСА, для контроля ФДТ предложена установка «ЛЭСА–01–БИОСПЕК», ее модификации удобны для мониторинга степени оксигенации, измерения поглощения, пропускания и флюоресценции биологических тканей *in vivo*.

Параметры различных модификаций выпускаемого оборудования оптимальны для использования при фотодинамической терапии препаратов Фотосенс, Аласенс, 5–ALA, Фотогем, Photofrin, Photosan, Хлорин Е6, Радахлорин, Фотолон, а также с других отечественных и импортных фотосенсибилизаторов.

В приборах этой фирмы применяются волоконно–оптические катетеры, что позволяет использовать их при любых эндоскопических процедурах.

Основная использованная литература

1. Алексанин С.С., Кидалов В.Н., Бычкова Н.В., Сясин Н.И., Кrasilьникова Н.А., Якушина Г.Н. Возможности флуоресцентной спектрометрии в оценке функциональной активности клеточных популяций больного и здорового организма.– Отчет о НИР. И№ 43. – 2002. – СПб. ВЦЭРМ МЧС России – 2002. – 46 с.
2. Алексанин С.С., Лесничий В.В. и др. Морфофункциональная характеристика клеток крови у людей, длительное время проживающих на радиоактивно-загрязненной местности // Отчет о НИР 8–95–в2 «Вагранка»: ВМедА. – СПб. – 1995. – 133 с.
3. Алешенков М.С., Родионов Б.Н. Взаимодействие физических полей и излучений с биологическими объектами и защита от их негативного воздействия: Учеб. пособие. – М.: Изд-во Московск. гос. ун-та леса, 1998. – 105 с.
4. Анисимов В.Н., Забежинский М.А., Муратов Е.И. и др. Влияние облучения видеотерминалом персонального компьютера на эстральную функцию, уровень мелатонина и свободно-радикальные процессы у лабораторных грызунов // Биофизика. – 1998. – Т. 43, № 1. – С. 165–170.
5. Анохин П.К. Опережающее отражение действительности // Вopr. философии.– 1962.– № 7.– С. 97–111.
6. Антоненкова Е.В. К исследованию функциональной активности фагоцитирующих иммунцитов. В сб.: Измерительные и информационные технологии в охране здоровья. МЕТРОМЕД–2007: Труды международной научной конференции. СПб: Изд-во Политехн. Ун-та, 2007. – 260 с.
7. Архипов М.Е., Субботина Т.И., Яшин А.А. Киральная асимметрия биоорганического мира: Теория, эксперимент/Под ред. А.А. Яшина. – Тула: ПАНИ, НИИ НМТ. Изд-во «Тульский полиграфист», 2002. – 242 с. (Серия «Электродинамика и информатика живых систем», Т. I.).
8. Афромеев В. И., Хадарцев А. А., Яшин А. А. Биофизика полей и излучений и биоинформатика. Ч. III. Основы физико-биологической и технической реализации управляющих воздействий высокочастотными электромагнитными полями в медицине / Под ред. А. А. Яшина.– Тула: НИИ НМТ. Изд-во ТулГУ, 1999.— 508 с.
9. Белоусов А.Н. Влияние магнетита – препарата нанотехнологии на клеточный метаболизм. // Вісник проблем біології і медицини, Полтава, 2004. – №2. – С. 34–37.
10. Белоусов А.Н. Лечебно–профилактический продукт «Micromage–В»: Госпатент №30538А UA А 23L 1/304/ (Украина). – Заявл. 25.05.98. Опубл. 15.11.00. Бюл. № 6–11. – 3 с.

11. Белоусов А.Н. Сорбент для экстракорпоральной детоксикации биологических жидкостей: Госпатент №24322А UA А61N2/00/ (Украина). – Заявл. 19.06.97; Оpubл. 17.07.98. Бюл. №7. – 4 с.
12. Бинги В.Г. Вращение биологических систем в магнитном поле: Расщепление спектров некоторых магнитобиологических эффектов // Биофизика. – 2000. – Т. 45, № 4. – С. 757–759.
13. Бинги В.Н., Савин А.В. Физические проблемы действия слабых магнитных полей на биологические системы // Успехи физических наук. – 2003. – Т. 173, № 3. – С. 265–300.
14. Биофизика полей и излучений и биоинформатика. Ч. I. Физико-биологические основы информационных процессов в живом веществе / Е.И. Нефедов, А.А. Протопопов, А.А. Хадарцев и др. – Тула: Изд-во Тульск. гос. ун-та, 1998. – 333 с.
15. Бобраков С.Н., Карташев А.Г. Электромагнитная составляющая современной урбанизированной среды // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2001. – Т. 41, № 6. – С. 706–711.
16. Бочков Н.П. Экологическая генетика человека // Медицина труда и промышленная экология. – 2004. – № 1. – С. 1–6.
17. Введение в электродинамику живых систем / Т.И. Субботина, И.Ш. Туктамышев, А.А. Хадарцев и др. – Тула: Изд-во ТулГУ, 2003. – 440 с. (Серия «Электродинамика и информатика живых систем», Т. 5).
18. Нефедов Е.И., Протопопов А.А., Семенцов А.А. и др. Взаимодействие физических полей с живым веществом / Под ред. А.А. Хадарцева. – Тула: Изд-во ТулГУ, 1995. – 180 с.
19. Владимирский Б.М., Темурьянц Н.А. Влияние солнечной активности на биосферу-ноосферу (Гелиобиология от А.Л.Чижевского до наших дней). – М.: Изд-во МНЭПУ, 2000. – 374 с.
20. Воробьев Н.Н. Числа Фибоначчи – М.: Наука. 1964.–255 с.
21. Голубкова Е.В. Изменение электрофоретической подвижности эритроцитов под влиянием некоторых гормонов // Мат. конф. Чтения Ушинского ЯГПУ. 2005. – С. 121
22. Григорьев Ю.Г. Сотовая связь: радиобиологические проблемы и оценка опасности // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2001. – Т. 41, № 5. – С. 500–513.
23. Дедов И. И., Маколкин В. И., Мухин Н. А. / Под ред. Меньшикова В.В. Клинический диагноз – лабораторные основы // М.: Лабинформ, 1997. – С. 90–93.
24. Демецкий А.М., Цецохо А.В. Учебное пособие по применению магнитной энергии в практике здравоохранения. – Минск: Изд-во ВОДНМИ, 1990. – 74 с.

25. Додина Л.Г., Поддубный Д.А., Сомов А.Ю. Влияние электромагнитного излучения устройств сотовой связи на здоровье человека (Обзор литературы) // Медицина труда и промышленная экология. – 2004. – № 5. – С. 35–39.
26. Дорофеев А.И., Кузнецов Д.А., Куротченко С.П., Субботина Т.И., Яшин М.А. и др. Комбинированное магнитное и электромагнитное терапевтическое воздействие на организм человека // В кн.: XXI Научная сессия, посвященная Дню радио: Тезисы докл. – Тула: Изд-во ТулГУ, 2003. – С. 93.
27. Житник Н.Е., Новицки Я.В., Привалов В.Н. и др. Вихревые магнитные поля в медицине и биологии // Вестник новых медицинских технологий. – 2000. – Т. VII, № 1. – С. 46–57.
28. Зайцева К. К., Кидалов В. Н. Трансформация эритроцитов и их ультраструктура в возрастном аспекте // Архив патологии и эмбриологии. – 1989. – № 2. – С. 63–68
29. Зилов В.Г., Судаков К.В., Эпштейн О.И. Элементы информационной биологии и медицины. – М.: МГУЛ, 2000. – 248 с.
30. Иванов К.П. Биоэнергетика и температурный гомеостазис. – Л.: Наука. – 1972. – 172 с.
31. Игнатьев В.В., Кидалов В.Н. Оценка релаксации эритроцитов / Информационное письмо «Методы экспрессной оценки эритрона – маркеры воздействий на организм экологических факторов», в рамках ГНТП «Здоровье населения России». – СПб. 1996. С. 26–28.
32. Игнатьев В. В., Кидалов В. Н. Способ оценки изменений неспецифической резистентности организма по скорости перехода дскоидных эритроцитов в эхиноциты (по релаксации) // Сборник усовершенствования методов и аппаратуры, применяемых в учебном процессе, медико-биологических исследованиях и клинической практике. – СПб.: ВМедА, 1996. – Вып. 27. – 39 с.
33. Игнатьев В.В., Рымкевич П.П., Кидалов В.Н., Самойлов В.О. «Массоперенос компонентов плазмы крови через плазмолемму эритроцитов в поле ротационных сил» // Физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 1996 – Т. 82. № 5–6. – С. 72 – 78.
34. Изменения активности Na^+ , K^+ –АТФазы и морфологическая картина красной крови у крыс при остром воздействии монооксида углерода / И. А. Сырова, О. А. Рогов, И. А. Шперлинг, Н. В. Рязанцева [и др.] // Науки о человеке: Сб. междунар. конгресса, 19–20 мая 2006 г. – Томск, 2006.
35. Исследование системы крови в клинической практике // Под ред. Г.И. Козинца и В.А. Макарова. М.: Триада-Х, 1997. С.204 – 243.

36. Как выжить в условиях электромагнитной катастрофы: Сб. статей / Под ред. С.Г.Денисова. – М.: Центр информатики «Гамма-7», 2002. – 97 с.
37. Карнаухов В.Н. Люминесцентный спектральный анализ клетки. – М.: Б.И. – 1978. – 208 с.
38. Кидалов В. Н., Лашманов А. А. К вопросу о механике реакций локального гемолиза // Актуальные вопросы физиологии, патологии и эпидемиологии (Бюллетень по специальной подготовке) Североморск: Медицинская служба КСФ. – 1979.Р 60– 62.
39. Кидалов В. Н., Лысак В. Ф. Квантитативная эритрограмма и возможность ее использования в клинике и эксперименте // Лабораторное дело. – 1989. – № 8. – С. 36– 40.
40. Кидалов В.Н., Муромцев В.А., Якушина Г.Н., Куликов В.Е. Изменение конфигурации и свечения эритроцитов, выстраивающих краевую линию при воздействии энерго-информационных приборов и КВЧ-излучения на акупунктурные точки у больных хронической обструктивной болезнью легких // Международная академия. – СПб. – 2001. – 16. – С.82 –84.
41. Кидалов В.Н., Бибикова Л.А., Мухин Н.А. Гиперосмотическая квантитативная эритрограмма при травме. //Кислотно- основной и температурный гомеостаз: физиология, биохимия, клиника. Сыктывкар.–1994 /Сыктывкарский гос. ун–т. С.93 – 98.;
42. Кидалов В.Н., Хадарцев А.А., Сясин Н.И., Якушина Г.Н., Краюхин А.В. Аутофлуоресценция нативных тканей и клеток крови и ее значение для медицинской практики. Монография / Под. ред. А.А. Хадарцева. – Тула: – Санкт–Петербург: РАМН, 2005. – 108 с.
43. Кидалов В.Н., Якушина Г.Н. Оценка выстраивания эритроцитами краевой линии / Информационное письмо «Методы экспрессной оценки эритрона – маркеры воздействий на организм экологических факторов», в рамках ГНТП «Здоровье населения России». – СПб. 1996..
44. Климонтович Ю.Л. Критерии относительной степени упорядоченности открытых систем // Успехи физических наук. – 1996. – Т. 166, № 11. – С. 1231–1243.
45. Колмаков В.Н., Радченко В.Г. Значение определения проницаемости эритроцитарных мембран в диагностике хронических заболеваний печени.// Терапевтический архив.–1982.–№2.– С. 59 – 62.
46. Куротченко С.П., Галкина Л.В., Субботина Т.И. и др. Управление биоинформативностью воздействующих полей в магнитотерапии // В кн.: Интеллектуальные и информационные системы: Матер. межрегион. Науч.-техн. конф. – Тула: Изд-во ТулГУ, 2004. – С. 69–70.

47. Куротченко С.П., Дорофеев А.И., Субботина Т.И. и др. Патогенное воздействие на организм излучения 1 ГГц-диапазона (частоты сотовой телефонии) // В кн.: Физика и технические приложения волновых процессов: Тез. докл. и сообщ. II Межд. науч.-техн. конф. – Самара: Изд-во Самарск. гос. ун-та, 2003. – С. 376–377.
48. Лакович Дж. Основы флуоресцентной спектроскопии. М. Мир, 1986. – 300 с.
49. Ландау Л.Д., Лифшиц Е.М. «Теоретическая физика. Механика». – М.: «Наука». – 1976 г. Т.1. – 207 с.
50. Левтов В.А., Регирер С.А., Шадрин Н.Х. «Реология крови». – М.: «Медицина», 1982 г. – 215 с.
51. Лисовский В.А., Щедрунов В.В., Барский И.Я., Папаян Г.В., Самойлов В.О. и др. Люминесцентный анализ в гастроэнтерологии. – Л.: Наука, 1984. – 236 с.
52. Луценко Ю.А., Яшин М.А. Биофизическое моделирование эффектов киральности // В кн.: Физика и технические приложения волновых процессов: Тез. докл. и сообщ. III Межд. науч.-техн. конф. – Волгоград: «Авторское перо», 2004. – С. 424.
53. Луценко Ю.А., Яшин М.А., Новиков А.С. и др. Разработка генераторов вихревого магнитного поля с D- и L-формами киральности // В кн.: Физика и технические приложения волновых процессов: Тез. докл. и сообщ. III Межд. науч.-техн. конф. – Волгоград: «Авторское перо», 2004. – С. 419.
54. Мандельброт Б. Фрактальная геометрия природы: Пер. с англ. / Под ред. А.В. Морозова. – М.: Изд-во Ин-та компьютерных исследований, 2002. – 656 с.
55. Меерсон Ф.З. Адаптивная медицина: механизмы и защитные эффекты адаптации. – М.: Нурохиа Medical LTD, 1993. – 331 с.
56. Муромцев В.А., Кидалов В.Н. Медицина в 21-ом веке. От древнейших традиций до высоких технологий. СПб.: Интан. – 1998. – 131 с.
57. Никитина В.Н., Ляшко Г.Г., Никанов А.Н. и др. Электромагнитные поля в плавильных отделениях производства никеля // Медицина труда и промышленная экология. – 2004. – № 12. – С. 39–40.
58. Новиков А.С., Субботина Т.И., Яшин М.А. Анализ киральных резонансов в биосистемах (теория и эксперимент) // В кн.: Физика и технические приложения волновых процессов: Тез. докл. и сообщ. III Межд. науч.-техн. конф. – Волгоград: «Авторское перо», 2004. – С. 405.
59. О новом подходе к оценке гемоиммунной реакции клеточного типа. – Рукопись Д-8755, депонированная во ВНИИМИ и МТИ. Редакция журнала «Лабораторное дело» . – 1985./Кидалов В.Н., Чухловин Б.А.

60. Пантелеев В.Г., Егорова О.В., Клыкова Е.И. Компьютерная микроскопия. – М.: Техносфера, 2005. – 304 с.
61. Перекатова Т.Н., Остроумова М.Н. Дефицит витамина B₁₂/ Вестник гематологии, 2007, Т. III, №1, С. 71–79.
62. Подзолкова Н.М., Глазкова О.Л., Шарапова Г.А. и др. Состояние генеративной функции у бортпроводниц гражданской авиации // Медицина труда и промышленная экология. – 2005. – № 1. – С. 35–38.
63. Подрабинек П.А. Электрофотометрическое определение осмотической резистентности эритроцитов // Лабор. дело, 1964. – N 1. – С. 24–27.
64. Пригожин И.Р., Стингерс И. Порядок из хаоса: новый диалог человека с природой. – М.: Прогресс, 1986
65. Руководство по военной трансфузиологии. СПб.: ВМедА. – 2005. – 333 с.
66. Сергеев А.В., Субботина Т.И., Яшин А.А. Информационная медицинская биофизика (Теория, эксперимент, приложения). – Тула: ПАНИ, НИИ НМТ. Изд-во «Тульский полиграфист», 2002. – 428 с. (Серия «Электродинамика и информатика живых систем». Т. II.)
67. Системный анализ, управление и обработка информации в биологии и медицине/ Под ред. А.А. Хадарцева. Часть II, Тула: изд-во ТулГУ. 2000 – 270 с.
68. Соловьев В.Н., Самойлов В.О. Исследование люминесценции пиридиннуклеотидов и флавопротеидов в зоне рецепторного эпителия языка лягушки // Физиол. журн. СССР. – 1977. – Т. 63, № 10. – С. 1476–1478.
69. Столяр Г.М., Никифоров В.А. Об участии эритроцитов в реакции алергизации/ В кн. : Вопросы экспериментальной биофизики. Тр. Горьковского мед. ин-та. Вып 65. Горький, 1975. С. 235–240.
70. Суббота А.Г. От эстетики к нейроэстетике. В кн. Гармония и дисгармония в медицине. – СПб: НИИ скорой помощи им И.И. Джанелидзе, Ассоциация «Гармония и жизнь». Выпуск 3. СПб 2004., С. 5–35.
71. Субботина Т.И., Туктамышев И.Ш., Яшин А.А. Электромагнитная сигнализация в живой природе. – Тула: Изд-во «Гриф и К», 2003. – 319 с. (Серия «Электродинамика и информатика живых систем». Т. 3.)
72. Субботина Т.И., Хадарцев А.А., Яшин М.А. и др. Воздействие вращающихся электромагнитных полей как фактор изменения протеолитической активности пепсина у крыс // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2004. – Т. 137, № 6. – С. 714–716.
73. Субботина Т.И., Хадарцев А.А., Яшин М.А. и др. Управление протеолитической активностью пепсина при воздействии вращаю-

щимся магнитным полем на мышей // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2005. – Т. 139, № 3. – С. 294–296.

74. Судаков К.В. Голографический принцип системной организации поведения: развитие представлений И.П. Павлова о ядре и рассеянных элементах анализаторов // Российский медико-биологический вестник. – 1999. – № 1–2. – С. 8–14.

75. Судаков К.В. Голографический принцип системной организации процессов жизнедеятельности // Успехи физиологических наук. – 1997. – Т. 28, № 4. – С. 3–32.

76. Токарский А.Ю. Экранирование электрических и магнитных полей высоковольтных воздушных линий электропередачи // Медицина труда и промышленная экология. – 2004. – № 4. – С. 38–39.

77. Торубаров Ф.С. Итоги и перспективы радиационной неврологии // Медицина труда и промышленная экология. – 2004. – № 3. – С. 11–13.

78. Ушаков И.Б., Измеров Н.Ф., Бухтияров И.В. и др. Методические подходы к повышению радио- и неспецифической резистентности работников экологически неблагоприятных производств на основе нормобарической интервальной гипоксии и импульсного магнитного поля // Медицина труда и промышленная экология. – 2005. – № 2. – С. 11–15.

79. Физический практикум электричество и оптика. М.: Наука. – 1968. С. 665–679.

80. Филёв Л.В., Енохин С.Ф., Захаров И.И. и др. Цитоспектрофотометрическое исследование гемоглобина в эритроцитах человека // Цитология. – 1989. – Т. 31, № 4, С. 465–468.

81. Фролова Н.М. Профессиональный риск и его профилактика у женщин, занятых в радиоэлектронном приборостроении // Медицина труда и промышленная экология. – 2003. – № 8.

82. Хадарцев А.А., Тутаева Е.С., Купеев В.Г. Диагностика нарушений микроциркуляции / Под ред. А.А. Хадарцева. – Тула, 2003. – 166 с.

83. Хакен Г. Синергетика. – М.: Мир, 1985.

84. Цветков В.Д. Сердце, золотое сечение и симметрия. – Пушино. 1997. – 169 с.

85. Черницкий Е. А., Воробей А.В. Структура и функция эритроцитарных мембран. Минск: Наука и техника, 1981. – 215 с.

86. Черных А.М., Черных Т.В. Экологические угрозы здоровью человека при превышении фона электромагнитных полей в окружающей среде в регионе магнитной аномалии (обзор литературы) // Медицина труда и промышленная экология. – 2004. – № 10. – С. 23–26.

87. Чижевский А.Л. Земное эхо солнечных бурь. – 2-ое изд. – М.: Мысль, 1976. – 367 с.

88. Чижевский А.Л. Структурный анализ движущейся крови. – М.:АН СССР, 1959. – 474 с.
89. Эйди В.Р. Биологические эффекты электромагнитной энергии и медицина. -М.: ТИИЭР, 1980.
90. Эмануэль В.Л. Осмометрия в клинической лабораторной диагностике.– СПб./ СПбГМУ, 1995.– 32 с.
91. Яшин М.А. Негативное воздействие излучения сотовых телефонов на живой организм // В кн.: III Всерос. университетская научно-практ. конф. молодых ученых и студентов по медицине: Сб. материалов / Под ред. В.Г.Сапожникова. – Тула: Изд-во ТулГУ, 2004. – С. 281.
92. Яшин М.А. Совмещенная магнитная и электромагнитная терапия: методология лечения и аппаратная реализация // В кн.: III Всерос. университетская научно-практ. конф. молодых ученых и студентов по медицине: Сб. материалов / Под ред. В.Г.Сапожникова. — Тула: Изд-во ТулГУ, 2004. — С. 282.
93. Besis M., Mohandes N., Feo C. Automated ectacytometry: A new method of measuring red cell deformability and red cell indices // Blood Cells. – 1980. – № 6. – P. 315 – 327.
94. Falk B., Owman C.H. Detailed metodoloqycal description of the fluorescence method for the cellular demonstration of biological monoamines //Acta universitatis ludensis, section 11.– 1965. – P. 7 – 49.
95. http://cosmo-bio.blogspot.com/2009/07/blog-post_15.html
96. <http://www.homestead.com/nanotechind/medical.html>
97. <http://www.iop.org/EJ/abstract/>
98. <http://microwavenews.com> (Review of «Microwave News», 2000–2003)
99. Phoenix, C., Drexler, E., "Safe exponential manufacturing", Nanotechnology 15(8):869–872 (Aug 2004).
100. Y.Harada. T.Asakura, T.Maurakami. <> Determination of size and refractive index of a single spherical particles on the basis of geometrical optics// Pure Appl. Opt. 1992.V. 1.№77.C. 274–279.

Список сокращений

АБОК– аутоантителобляшкообразующие клетки
 АКЭ – агрегационный коэффициент эритроцитов
 БС – базовая станция
 ВКМ – внеклеточные матриксы
 ВЧ – высокие частоты
 ГИРКТ – гемоиммунная реакция клеточного типа
 ГКЭ – гиперосмотическая квантитативная эритрограмма

ГМП – геомагнитное поле
 ГФ – гемолизирующиеся формы
 Д – дискоидные клетки
 ДОУ – дистанционное оптико-электронное устройство
 ИГ – гемолитический индекс
 ИДТ – индекс деформации тора
 ИК – инфракрасное излучение
 ИТ – индекс трансформации
 КМА – Курская магнитные аномалии
 КПБ – комплекс полей биообъектов
 КЭ – количественная эритрограмма
 КЭЗ – коэффициенты электрозамедления
 КЭУ – коэффициенты электроускорения
 МПР – морфологический показатель реактивности
 МРТ – мобильные радиотелефонные аппараты
 МСНС – среднее содержание гемоглобина в эритроцитах
 МУС-Б – магнитоуправляемый сорбент
 НПФ – новые промышленные факторы
 НЧЭМИ – низкие частоты электромагнитного излучения
 ОРЭ – оценка релаксации эритроцитов
 П – пойкилоциты
 ПеМП – переменное магнитное поле
 ПК – персональный компьютер
 ПМ – поляризационная микроскопия
 ПЭМ – проницаемость эритроцитарных мембран
 СВН – сверхвысокое напряжение
 СНЧ – сверхнизкие частоты
 СОЭ – скорость оседания эритроцитов
 СПОЛ – свободнорадикальное перекисное окисление липидов
 Ст – стоматоциты и гребневидные клетки
 СЭД – стимулированный эритродиерез
 ТЗГ – тезмограммы
 УПС – условно-полиморфные стомы
 УФИ – ультрафиолетовое излучение
 ФСОЭ – фракционная скорость оседания эритроцитов
 ЭИГК – энергоинформационный голографический комплекс
 ЭИМ – энергоинформационные матрицы
 ЭМИ – электромагнитные излучения
 Эх – эхиноциты
 HGB – гемоглобин
 MCV – средний объем эритроцитов
 RBC – эритроциты
 RDV – разброс эритроцитов по объему

Содержание

Предисловие	3
ГЛАВА I. РЕЗУЛЬТАТЫ НАУЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ СЛАБЫХ ИНФОРМАЦИОННЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ	6
1. Историческая справка	6
2. Медико-биологические аспекты теории фракталов	21
3. Сано- и патогенные воздействия низкоинтенсивных, низко- частотных магнитных полей	29
ГЛАВА II. КЛИНИКО–ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ ПРИ СЛАБЫХ ИНФОРМАЦИОННЫХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ	40
1. Человек, среда, кровь. Новые проблемы и способы их оценки.	40
2. Значение слабых и энергоинформационных воздействий для состояния системы крови. Рабочие станции для их оценки	46
3. Природная метрология системы крови	64
4. Лабораторные технологии и рабочие станции для оценки изменений крови при слабых воздействиях и хранении препара- тов крови	76
5. Основные регистрируемые с помощью рабочих станций ха- рактеристики эритрона и их значение в поддержании гомеоста- зиса организма и состояния здоровья	87
6. Использование рабочих станций для телевизионной микро- скопии и спектрофотометрии для регистрации информационно значимых изменений эритрона при воздействии неблагоприят- ных факторов внешней среды	93
ГЛАВА III. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ЭРИТРОНА	107
1. Клинико–экспериментальные методы исследования эритрона	107
2. Определение Ph эритроцитов в капиллярной крови по Г.Х. Пятницкой и соавт.	108
3. Телевизионная микроскопия в оценке фракционной скорости оседания эритроцитов	109
4. Экспресс-метод косвенной оценки метгемоглобинообразования в эритроцитах крови (модификация метода Л.В. Филёва и др.)	111
5. Определение содержание в эритроцитах негемоглобинового железа	112
6. Способ выявления базофильной зернистости эритроцитов при инкорпорации солей свинца	113
7. Способ выявления телец Гейнцэ–Эрлиха, в эритроцитах по методу Дейси, а также телец Жолли и Кебота	114

8. Определение фетального гемоглобина в эритроцитах мазка крови (по Е.Г. Исаевой и А.М. Королевой)	115
9. Оценка состояния мембранного аппарата организма по тесту мочевиной проницаемости эритроцитарных мембран	116
10. Оценка количества эритроцитов активно сорбирующих коллоидные компоненты плазмы крови по В.В. Игнатьеву	117
11. Методы оценки изменений конфигурации и ультраструктуры, определение числа эхиноцитов в периферической крови по В.Н. Кидалову и В.Ф. Лысаку	119
12. Оценка релаксации эритроцитов по В.Н. Кидалову и В.В. Игнатьеву	121
13. Определение типа краевой линии и оценка ригидности эритроцитов, выстраивающих краевую линию препарата	123
14. Определение числа клеток за пределами краевой линии	125
15. Оценка степени дефрагментации тора эритроцитов	125
16. Оценка распределения эритроцитов по конфигурации в рамках квантитативной эритрограммы	127
17. Гиперосмотическая квантитативная эритрограмма	131
18. Определение числа эритроцитов-флюоресцитов в мазке крови	133
19. Определение числа эритроцитов с условно-полиморфными стомами	134
20. Оценка эритрофагоцитоза и тромбоцитофагоцитоза (поглощительная активность микрофагоцитов)	138

ГЛАВА IV. БИОФИЗИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ЭРИТРОНА И ДРУГИХ КЛЕТОК КРОВИ ПРИ МЕЖКЛЕТОЧНОМ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ	141
1. Экспресс-метод оценки механической резистентности эритроцитов (по методу Бианки)	141
2. Экспресс-метод одновременной оценки тепловой резистентности эритроцитов и их количества	142
3. Оценка осмотической резистентности эритроцитов в условиях осмотического эквilibра (В.Н. Кидалов, 1994)	143
4. Методы оценки изменений характеристик крови, обусловленных электрическими процессами. Определение суспензионной стабильности крови (по И.И. Мишуку)	144
5. Метод ускоренной (косвенной) оценки электрического заряда эритроцитов крови по скорости электрооседания эритроцитов (по А.А. Крылову)	145
6. Оценка электрофоретической подвижности эритроцитов (по В.В. Игнатьеву)	147

7. Примерная оценка величины дзэта (ϵ)—потенциала эритроцитов по их электрофоретической подвижности	149
8. Экспресс–метод оценки сохранности эритроцитарных взвесей при их хранении и воздействии неблагоприятных факторов среды	151
9. Спектрофотометрическая оценка аутофлуоресценции (энергетичности) фагоцитирующих лейкоцитов крови	153
10. Исследование методом электрофереза в полиакриламидном геле с додецилсульфатом натрия поверхностного слоя белков мембраны эритроцитов (по А.Н. Белоусову)	154
11. Метод Симпсона для определения активности антителообразующих клеток	157
12. Определение числа бляшкообразующих клеток в стекловазелиновой камере (собственная модификация метода Н.Н. Клемпарской)	158
13. Активизация бляшкообразования в гиперосмотической среде (реакция стимулированного эритродиереза – СЭД) бляшкообразующих клеток в стекловазелиновой камере (авторская методика)	159
Заключение	162
Приложения	166
Основная использованная литература	186

Научное издание

**ВОЗМОЖНОСТИ ИССЛЕДОВАНИЯ
ЭРИТРОНА ПРИ СЛАБЫХ
ИНФОРМАЦИОННЫХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ**

Монография

В авторской редакции

Компьютерная верстка и оформление:
Митюшкина О.А.