

РОЛЬ ЭРИТРОЦИТАРНЫХ МЕМБРАН В РАЗВИТИИ ВОЗРАСТНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА

Беркало А.В.

Украинская медицинская стоматологическая академия, г. Полтава

Значительную роль в изучении состояния регуляции физиологической активности клеток, обеспечении межклеточных взаимодействий посредством формирования рецепторных полей играют биологические мембраны, в частности эритроцитарные мембраны. Зрелые эритроциты являются сравнительно простыми клетками. В них отсутствуют ядро, митохондрии и другие органеллы клеток. В тоже время эритроцитарным мембранам присущи общие принципы организации биологических мембран. Наряду с барьерной, они выполняют транспортную функцию, основную задачу по переносу кислорода и CO_2 между легкими и тканями. Важную роль играют мембраны в поддержании высокой деформируемости и формы эритроцитов. Эритроцитарные мембраны выполняют рецепторную функцию [2]. При этом выделяют два типа рецепторных систем - гормональный и иммунологический [6]. Наблюдается процесс взаимодействия поверхностных гликопротеидов мембран эритроцитов с нейтрофильными лейкоцитами и лимфоцитами [3]. Эритроцитарные гликопротеиды под

действием многих причин (действие салидаз, активных форм кислорода, изменение объема эритроцитов и осмотического давления, старение, некоторые патологические состояния) способны десалицироваться и демаскировать субтерминальные остатки галактозы. Эти процессы сопровождаются усилением экспрессии Т-лимфоцитарных рецепторов после взаимодействия с эритроцитами, которые несут повышенное количество остатков галактозы на своих мембранах [3]. Таким образом, можно говорить об иммуномодулирующих свойствах эритроцитарных мембран.

Целью нашей работы являлось изучение влияния возрастных изменений мембран эритроцитов человека на некоторые показатели клеточного иммунитета и возрастных изменений активности сорбируемых на мембранах эритроцитов веществ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нами была обследована группа доноров в количестве 32 человек, разделена на 4 возрастные группы со-

Таблица 1 Влияние мембран эритроцитов и сорбируемых на ней веществ на показатели иммунограммы I возрастной группы

Показатели иммунограммы	Статистические показатели	Нормограмма	Добавление			
			Физиол. раствор	Супернатант I	Супернатант III	Отмытые эритроциты
Е - РОЛ, $10^9/\text{л}$	$M \pm m$ p1 p2 p3 p4	$1,06 \pm 0,14$	$1,00 \pm 0,13$ >0,05	$1,03 \pm 0,16$ >0,05 >0,05	$1,00 \pm 0,13$ >0,05 >0,05 >0,05	$1,22 \pm 0,15$ >0,05 >0,05 >0,05 >0,05
Е - РОЛ инкубация 1 час, $10^9/\text{л}$	$M \pm m$ p1 p2 p3 p4	$0,91 \pm 0,12$	$1,11 \pm 0,07$ > 0,05	$1,03 \pm 0,13$ >0,05 >0,05	$1,08 \pm 0,18$ >0,05 >0,05 >0,05	$0,84 \pm 0,13$ >0,05 >0,05 >0,05 >0,05
Е - РОЛ инкубация 1 час теофиллинТ-хелперы, $10^9/\text{л}$	$M \pm m$ p1 p2 p3 p4	$0,85 \pm 0,13$	$1,14 \pm 0,90$ >0,05	$0,91 \pm 0,11$ >0,05 >0,05	$0,86 \pm 0,14$ >0,05 >0,05 >0,05	$0,75 \pm 0,10$ >0,05 >0,05 >0,05 >0,05
Е - РОЛ инкубация 1 час супрессоры, $10^9/\text{л}$	$M \pm m$ p1 p2 p3 p4	$0,61 \pm 0,41$	$0,62 \pm 0,25$ >0,05	$0,41 \pm 0,10$ >0,05 >0,05	$0,49 \pm 0,14$ >0,05 >0,05 >0,05	$0,24 \pm 0,06$ >0,05 >0,05 >0,05 >0,05
В-лимфоц. М-РОЛ, $10^9/\text{л}$	$M \pm m$ p1 p2 p3 p4	$0,72 \pm 0,09$	$0,88 \pm 0,13$ >0,05	$0,89 \pm 0,15$ >0,05 >0,05	$0,96 \pm 0,16$ >0,05 >0,05 >0,05	$0,61 \pm 0,10$ >0,05 >0,05 >0,05 >0,05
Нулевые клетки, $10^9/\text{л}$	$M \pm m$ p1 p2 p3 p4	$0,66 \pm 0,22$	$0,68 \pm 0,20$ >0,05	$0,62 \pm 0,27$ >0,05 >0,05	$0,49 \pm 0,17$ >0,05 >0,05 >0,05	$0,65 \pm 0,37$ >0,05 >0,05 >0,05 >0,05

гласно физиологических параметров. Первая возрастная группа включает доноров 18 - 20 лет, вторая - 25 - 31 год, третья - 48 - 52 года, четвертая - 60 лет и старше [14].

Исследования проводились на лейкоцитарной взвеси (концентрация $15,0 \times 10^9/\text{л}$, полученной из свежей венозной цитратной крови человека путем отстаивания в течении 1 часа при температуре 37°C с последующей двукратной отмывкой физиологическим раствором и ресуспендированием [11].

Отмытые эритроциты получали центрифугированием в течении 20 мин. при 3000 об/мин, избавлялись от бестромбоцитарной плазмы. Затем трехкратной отмывкой получали взвесь отмытых эритроцитов и супернатанты после первой и третьей отмывок, в дальнейшем супернатант I и супернатант III [3]. Затем к полученной лейкоцитарной взвеси в равном количестве добавляли физиологический раствор натрия хлорида, отмытые эритроциты, супернатанты и инкубировали в течении 1 часа при

температуре 37°C .

В пробах определяли комплекс показателей физиологической активности субпопуляций лимфоцитов крови человека методом розеткообразования с эритроцитами барана (Е - РОЛ) и мыши (М - РОЛ), фракцию теофиллинчувствительных и резистентных Е - РОЛ [4]. Проводили подсчет количества лейкоцитов и лейкоцитарной формулы в окрашенных по Романовскому мазках крови [5]. Полученные в опытных сериях данные сравнивали с нормальными показателями иммунограммы и между собой.

Результаты обработаны статистически с помощью критерия Стьюдента [8,10].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как показали наши исследования, общее число лимфоцитов периферической крови в молодом возрасте находится на уровне $2,0 - 2,5 \times 10^9/\text{л}$, затем незначительно снижается и на этом уровне сохраняется в течении

Таблица 2 Влияние мембран эритроцитов и сорбируемых на ней веществ на показатели иммунограммы II возрастной группы

Показатели иммунограммы	Статистические показатели	Нормограмма	Добавление			
			Физиол. Раствор	Супернатант I	Супернатант III	Отмытые эритроциты
Е - РОЛ, $10^9/\text{л}$	$M \pm m$ p1 p2 p3 p4	$0,87 \pm 0,22$	$0,97 \pm 0,29$ >0,05	$0,81 \pm 0,20$ >0,05 >0,05	$0,65 \pm 0,15$ >0,05 >0,05 >0,05	$1,04 \pm 0,39$ >0,05 >0,05 >0,05 >0,05
Е - РОЛ инкубация 1 час, $10^9/\text{л}$	$M \pm m$ p1 p2 p3 p4	$0,95 \pm 0,25$	$0,71 \pm 0,10$ >0,05	$0,74 \pm 0,14$ >0,05 >0,05	$0,77 \pm 0,18$ >0,05 >0,05 >0,05	$0,53 \pm 0,11$ >0,05 >0,05 >0,05 >0,05
Е - РОЛ инкубация 1 час теофиллинТ-хелперы, $10^9/\text{л}$	$M \pm m$ p1 p2 p3 p4	$0,86 \pm 0,27$	$0,69 \pm 0,22$ >0,05	$0,82 \pm 0,28$ >0,05 >0,05	$0,85 \pm 0,28$ >0,05 >0,05 >0,05	$0,58 \pm 0,09$ >0,05 >0,05 >0,05 >0,05
Е - РОЛ инкубация 1 час супрессоры, $10^9/\text{л}$	$M \pm m$ p1 p2 p3 p4	$0,20 \pm 0,06$	$0,23 \pm 0,06$ >0,05	$0,14 \pm 0,09$ >0,05 >0,05	$0,27 \pm 0,12$ >0,05 >0,05 >0,05	$0,19 \pm 0,10$ >0,05 >0,05 >0,05 >0,05
В-лимфоц. М-РОЛ, $10^9/\text{л}$	$M \pm m$ p1 p2 p3 p4	$0,70 \pm 0,15$	$0,75 \pm 0,24$ >0,05	$0,71 \pm 0,25$ >0,05 >0,05	$0,87 \pm 0,27$ >0,05 >0,05 >0,05	$0,73 \pm 0,19$ >0,05 >0,05 >0,05 >0,05
Нулевые клетки, $10^9/\text{л}$	$M \pm m$ p1 p2 p3 p4	$0,28 \pm 0,07$	$0,42 \pm 0,15$ >0,05	$0,58 \pm 0,15$ >0,05 >0,05	$0,54 \pm 0,19$ >0,05 >0,05 >0,05	$0,46 \pm 0,14$ >0,05 >0,05 >0,05 >0,05

Таблица 3 Влияние мембран эритроцитов и сорбируемых на ней веществ на показатели иммунограммы III возрастной группы

Показатели иммунограммы	Статистические показатели	Нормограмма	Добавление			
			Физиол. Раствор	Супернатант I	Супернатант III	Отмытые эритроциты
Е - РОЛ, 10 ⁹ /л	M±m p1 p2 p3 p4	1,03±0,20	1,29±0,36 >0,05	1,33±0,30 >0,05 >0,05	0,88±0,21 >0,05 >0,05 >0,05	1,46±0,36 >0,05 >0,05 >0,05 >0,05
Е - РОЛ инкубация 1 час, 10 ⁹ /л	M±m p1 p2 p3 p4	1,02±0,25	1,28±0,10 >0,05	1,08±0,14 >0,05 >0,05	1,06±0,18 >0,05 >0,05 >0,05	1,10±0,11 >0,05 >0,05 >0,05 >0,05
Е - РОЛ инкубация 1 час теофиллин Т-хелперы, 10 ⁹ /л	M±m p1 p2 p3 p4	1,02±0,24	1,05±0,24 >0,05	1,02±0,24 >0,05 >0,05	1,15±0,28 >0,05 >0,05 >0,05	1,22±0,24 >0,05 >0,05 >0,05 >0,05
Е - РОЛ инкубация 1 час супрессоры, 10 ⁹ /л	M±m p1 p2 p3 p4	0,11±0,02	0,34±0,13 >0,05	0,37±0,11 <0,05 >0,05	0,22±0,14 >0,05 >0,05 >0,05	0,26±0,06 >0,05 >0,05 >0,05 >0,05
В-лимфоц. М-РОЛ, 10 ⁷ /л	M±m p1 p2 p3 p4	0,90±0,21	1,37±0,23 <0,05	0,91±0,30 >0,05 >0,05	0,70±0,13 >0,05 <0,05 >0,05	0,87±0,25 >0,05 >0,05 >0,05 >0,05
Нулевые клетки, 10 ⁹ /л	M±m p1 p2 p3 p4	0,55±0,13	0,34±0,11 >0,05	0,41±0,19 >0,05 >0,05	0,77±0,18 >0,05 >0,05 >0,05	0,30±0,12 >0,05 >0,05 >0,05 >0,05

25 - 30 лет, в 45 - 50 лет повышается, а после 60 лет снижается и сохраняется на постоянном уровне [2]. Как видно из таблиц 1 и 2, иммунограммы I и II возрастных групп мало отличаются между собой. Исследования показателей иммунограммы показало, что содержание Е - РОЛ прямого и спонтанного розеткообразования (инкубировали в течении 1 часа при температуре 37° С со средой 199) незначительно изменялось во всех возрастных группах. При этом достоверно повышался уровень розеткообразующих Е - РОЛ в III и IV возрастных группах. Абсолютное количество нулевых клеток уменьшалось во II и IV возрастных группах.

По действию супернатант I и III мало отличаются между собой, что представлено в таблицах. Основное действие супернатантов выявляется в IV возрастной группе. Под действием смывых с поверхности эритроцитов субстанций, наблюдается снижение экспрессии

рецепторов Т - лимфоцитов (CD 2), Т - хелперов. Снижалось число М - РОЛ. Обращало на себя внимание, что супернатанты II, III и IV возрастных групп так же снижали уровень теофиллин - чувствительных клеток (Т - супрессоров).

Таким образом, можно сделать вывод, что при старении организма наблюдается связывание с мембраной эритроцитов субстанций с преимущественно иммуносупрессивным действием.

При добавлении суспензии лейкоцитов к трехкратно отмытым эритроцитам, мы обнаружили четко выраженные изменения реакции лимфоцитов в IV возрастной группе. На фоне снижения концентрации популяций Т и В - лимфоцитов наблюдалось отчетливое увеличение числа нулевых клеток.

Это свидетельствует о том, что мембрана эритроцитов IV возрастной группы претерпевает существенные

Таблица 4 Влияние мембран эритроцитов и сорбируемых на ней веществ на показатели иммунограммы IV возрастной группы

Показатели иммунограммы	Статистические показатели	Нормограмма	Добавление			
			Физиол. Раствор	Супернатант I	Супернатант III	Отмытые эритроциты
Е - РОЛ, 10 ⁹ /л	M±m p1 p2 p3 p4	0,81±0,16	0,76±0,35 >0,05	0,68±0,04 >0,05 >0,05	0,63±0,06 >0,05 >0,05 >0,05	0,49±0,09 >0,05 >0,05 >0,05 >0,05
Е - РОЛ инкубация 1 час, 10 ⁹ /л	M±m p1 p2 p3 p4	0,75±0,08	0,50±0,06 <0,05	0,53±0,07 <0,05 >0,05	0,37±0,07 <0,05 >0,05 >0,05	0,48±0,12 >0,05 >0,05 >0,05 >0,05
Е - РОЛ инкубация 1 час теофиллин Т-хелперы 10 ⁹ /л	M±m p1 p2 p3 p4	0,60±0,08	0,34±0,09 <0,05	0,49±0,10 >0,05 >0,05	0,57±0,05 >0,05 <0,05 >0,05	0,52±0,05 >0,05 >0,05 >0,05 >0,05
Е - РОЛ инкубация 1 час супрессоры, 10 ⁹ /л	M±m p1 p2 p3 p4	0,19±0,05	0,16±0,05 >0,05	0,20±0,06 >0,05 >0,05	0,15±0,09 >0,05 >0,05 >0,05	0,26±0,07 >0,05 >0,05 >0,05 >0,05
В-лимфоц. М-РОЛ, 10 ⁹ /л	M±m p1 p2 p3 p4	0,65±0,09	0,44±0,08 >0,05	0,51±0,09 >0,05 >0,05	0,40±0,06 >0,05 >0,05 >0,05	0,39±0,08 >0,05 >0,05 >0,05 >0,05
Нулевые клетки, 10 ⁹ /л	M±m p1 p2 p3 p4	0,37±0,07	1,05±0,15 <0,05	0,63±0,15 >0,05 >0,05	0,74±0,19 >0,05 >0,05 >0,05	1,29±0,14 <0,05 >0,05 >0,05 >0,05

Примечание к таблицам 1-4 p1 - сравнение между нормограммой и при добавлении физиол. р-ра; p2 - сравнение между нормограммой и при добавлении супернатанта I; p3 - сравнение между нормограммой и при добавлении супернатанта III; p4 - сравнение между нормограммой и при добавлении отмытых эритроцитов.

структурные изменения. Наоборот, эритроцитарные мембраны III возрастной группы вызвали относительное увеличение числа популяций Т и В - лимфоцитов на фоне снижения числа нулевых клеток. Полученные данные свидетельствуют о том, что в III возрастной группе эритроцитарные мембраны обладают выраженной иммуностимулирующей активностью, но сорбируют на своей поверхности субстанции, обладающие иммуносупрессивным действием. Менее выраженный подобный феномен наблюдался и во II возрастной группе.

Как видно из полученных результатов, при старении организма наблюдалось выраженное фазовое изменение показателей клеточного иммунитета. Наиболее выраженные изменения произошли в III и IV возрастных группах.

Эритроцитарные мембраны людей IV возрастной группы обладали выраженным иммуносупрессивным действием, по-видимому, вследствие структурных изменений и способны сорбировать на своей поверхности субстанции, обладающие тем же действием.

Эритроцитарные мембраны III возрастной группы обладали достаточным иммуностимулирующим действием, но сорбируют на своей поверхности субстанции, обладающие иммуносупрессивным действием. Возрастные изменения иммуномодулирующих свойств эритроцитарных мембран и сорбируемых на них веществ, вероятно, тесно связаны со старением организма.

Таким образом, в клинической практике при проведении гемодиализа, плазмофереза, гемотрансфузий и т.д. необходимо учитывать возраст пациента и/или донора для проведения адекватной иммунокоррекции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бутенко Г.М. Возрастные изменения иммунитета как предпосылка для развития патологии в старости/ Вестник АМН СССР, 1980, N3. - С. 41-45.
2. Иммунология и старение/ Под ред. Т. Макинодана, Э.Юниса. Пер. с англ. - М.: Мир, 1980. - 267с.

3. Кайдашев І.П. Вплив поверхневих глікопротеїдів еритроцитів на взаємодію їх мембран з нейтрофільними лейкоцитами та лімфоцитами. Дис..к.м.н., Полтава, 1996. - 220с.
4. Лебедев К.А., Понякина И.Д. Иммунограмма в клинической практике. /М.: Наука, 1990. - 224с.
5. Посбник з експериментально-клінічних досліджень в біології та медицині/ Під ред. Кайдашева І.П. та інш. - Полтава, 1996. - 271с.
6. Постановка иммунограммы для иммунотерапии больных с хроническими заболеваниями и недостаточностью функционирования иммунной системы. // Методические рекомендации - Москва - Лубны, 1992. - 14с.
7. Прикладная иммунология / Под ред. проф. Сохина А.А., проф. Чернушко Е.Ф. -К.: Здоров'я, 1984. - 320с.
8. Румшинский Л.З. Математическая обработка результатов эксперимента. - М.: Наука, 1971. - 192с.
9. Славин М.Б. Методы системного анализа в медицинских исследованиях. - М.: Медицина, 1989. - 304с.
10. Статистическая обработка результатов научных исследований с помощью микрокалькуляторов "Электроника БЗ - 34, МК - 52, МК - 54" / Методические рекомендации, - Львов, 1987. - 41с.
11. Справочник по клиническим лабораторным методам исследований. Под ред. проф. Кост Е.А. - М.: Медицина, 1975. - С. 33 - 52.
12. Черницкий Е.А., Воробей А.В. Структура и функции эритроцитарных мембран. - Минск, "Наука и техника", 1981. - С. 23 - 25.
13. Шелест А.Е. Микрокалькуляторы в физике. - М.: Наука, 1988, - 272с.
14. Хрипкова А.Г. Возрастная физиология. - М.: Просвещение, 1978. - 287с.

THE ROLE OF THE ERYTHROCYTES MEMBRANES IN THE DEVELOPMENT OF THE AGE CHANGES OF THE CELL IMMUNITY.

Berkalo L.V.

Investigation of immuno-modulating characteristics of erythrocytic membranes in the connection of the age of a human was carried out.

The studied indices of the immunograms have shown that reinforcement of immunosuppressive action of the substances bound with membranes of erythrocytes of aging organism (60 years and older) was noted.

At the same time erythrocytic membranes of people at the age of 48 - 52 possess immunostimulating activity but sorbite on their surfaces substances which has immunosuppressive properties.

It was supposed that erythrocytic membranes and adsorpted substances undergo structural changes with age.

Ministry Public Health of Ukraine

Ukrainian Medical Stomatological Academy

314024, Shevchenko str. 23, Poltava, Ukraine

Матеріал надійшов до редакції 19/XI/1997