

Н. В. Мищенко¹, С. Н. Родыгина¹, Е. Н. Сизова², О. В. Тулякова¹

¹ Вятский государственный гуманитарный университет
ул. Красноармейская, 26, Киров, 610002, Россия

² Вятский социально-экономический институт
ул. Большевиков, 91, Киров, 610002, Россия
E-mail: cizovahelena@mail.ru

ОСОБЕННОСТИ АГГЛЮТИНАЦИИ ЭРИТРОЦИТОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ МЕСТА ПРОЖИВАНИЯ ДОНОРОВ

С целью изучения в присутствии адреналина (10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} г/мл) длительности агглютинации эритроцитов доноров, ранее проживавших в городе или селе, исследовали капиллярную кровь девушек 18 лет ($n = 226$). Выявлено, что чем выше была концентрация адреналина, тем меньше время агглютинации эритроцитов в АВ0 цоликлонах. Следовательно, это адренезависимый процесс, отражающий состояние общей адренореактивности органов и тканей. Время агглютинации эритроцитов крови девушек, ранее проживавших в селе, был меньше, чем у лиц, ранее проживавших в городе, что лежит в основе адаптации к антропогенному стрессу.

Ключевые слова: эритроциты, агглютинация, антропогенный стресс.

Важным вопросом в иммуносерологии является изучение условий, влияющих на процессы агглютинации эритроцитов при определении групповой принадлежности крови по первой эритроцитарной триаллельной системе антигенов АВ0 [1]. Известно, что иммунная система участвует во всех адаптационных реакциях организма, ее состояние является критерием загрязненности окружающей среды, при этом результат хронического воздействия ксенобиотиков, в том числе аэрополлютантов, может проявиться через длительное время [2]. Например, в техногенных районах изменяется иммунологическая реактивность организма детей, в частности повышается концентрация провоспалительных цитокинов TNF- α , IL-1 β и IL-6 [2]. У жителей техногенных районов концентрация IgM в плазме ниже, а IgA выше, чем у жителей экологически благоприятной зоны [3]. По мнению Е. Б. Жибурт [1], циркулирующий пул анти-А и анти-В антиэритроцитарных антител состоит из трех классов иммуноглобулинов – IgM, IgG и IgA, т. е. возможны некоторые особенности протекания агглютинации эритроцитов крови лиц, проживающих на урбанизированной территории.

Важное значение для обеспечения процесса адаптации имеет уровень β -адрено-

рецепции клеточных мембран, определяемый по изменению функционального состояния эритроцитов в присутствии адреноактивного вещества [4]. Так, в состоянии стресса (возможно, в том числе и антропогенного) в два раза от нормы повышается β -адренореактивность эритроцитов человека в присутствии адреноактивного вещества. [5]. Известно, что агонисты α -адренорецепторов способны дозозависимо повышать агглютинацию эритроцитов [6].

Ранее Е. Н. Сизовой и соавт. [7] было показано, что озон как один из аэрополлютантов мегаполисов может влиять на ведущую адренореактивность гладких мышц человека и животных. Не исключено, что атмосферный воздух г. Кирова, содержащий большое количество аэрополлютантов как город средней величины, в целом обладает подобным озону действием. В связи с этим была поставлена **цель** исследования: в присутствии адреналина изучить длительность адренезависимой агглютинации эритроцитов доноров, ранее проживавших в городе или сельской местности.

Материал и методы

В рамках комплексного подхода в изучении уровня физического развития и состоя-

ния здоровья студенток вуза г. Кирова для выявления возможного физиологического механизма формирования адаптации женского организма к длительному техногенному воздействию урбанизированной среды исследовали капиллярную кровь I, II, III, IV групп 18-летних девушек ($n = 226$).

Согласно данным А. Г. Башлай и соавт. [8], при массовых исследованиях одним из самых доступных способов является фенотипирование соответствующими цоликлонами на плоскости. В связи с этим использовали моноклональные антитела Анти-А с090297100д и Анти-В с661196100д («ГЕМ», Россия) – цоликлоны в нативной жидкой форме согласно методике, внедренной в широкую практику приказом Минздрава РФ № 2 от 09.01.1998 «Об утверждении инструкций по иммуносерологии». Следует отметить, что у большинства людей антигены А и В хорошо выражены на мембране эритроцитов, что позволяет уверенно их дифференцировать [9]. А сами эритроциты являются адекватной моделью изучения общих закономерностей изменений мембранных и клеточных структур под влиянием катехоламинов [10].

Для исследования влияния адреналина на скорость агглютинации использовали метод В. И. Циркина [11]. На планшетку наносили 2 капли (0,2 мл) цоликлона, куда добавляли каплю (0,1 мл) адреналина в одной из известных концентраций (10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} г/мл). Для контроля вместо адреналина добавляли каплю раствора Кребса. Таким образом, во всех случаях цоликлон разводили в соотношении 2 : 1. Затем последовательно предметным стеклом вносили к цоликлону кровь донора 1 : 10 для обеспечения «зоны эквивалентности» при взаимодействии антиген – антитело. Далее визуально определяли время (секунды) начала агглютинации эритроцитов – появление большого количества средних и малых агглютинатов и отсутствие свободных эритроцитов, что соответствовало 7 баллам агглютинации по 12-балльной шкале [1]. Во всех опытах разведение адреналина осуществляли раствором Кребса (рН 7,0).

Материалы статистически обработаны с использованием программы Microsoft Excel. Сравнение выборок проведено с использо-

ванием t -критерия Стьюдента, различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследования и обсуждение

Распределение 226 девушек по группам крови произошло следующим образом: 0 (I) группа – 66 человек (30 %), А (II) – 79 (35 %), В (III) – 57 (25 %) и АВ (IV) – 24 (10 %), что согласуется с распределением групп крови в популяции населения Северо-запада России [1].

Для изучения влияния адреналина на процесс агглютинации эритроцитов использовали три группы крови, исключая 0 (I), так как эритроциты этой группы не содержат антигенов А и В и не способны к агглютинации в цоликлонах с анти-А и анти-В антителами. При анализе абсолютных ($n = 90$) и относительных ($n = 78$) значений времени агглютинации эритроцитов от концентрации адреналина наблюдалась обратная зависимость – «доза – эффект», т. е. чем выше исследуемая концентрация адреналина в растворе, тем ниже значения времени начала агглютинации эритроцитов (табл.).

У остальных 70 человек четкий «доза – эффект» отсутствовал, но адреналин в любом случае ускорял процесс агглютинации эритроцитов на 12–15 с (16–19 %). Известно, что на мембранах эритроцитов человека присутствуют все виды ($\alpha 1$ -, $\alpha 2$ -, $\beta 1$ -, $\beta 2$ - и $\beta 3$ -) адренорецепторов, которые идентичны, например, адренорецепторам гладкой мускулатуры бронхов [12]. При этом преобладает популяция $\beta 2$ -адренорецепторов. Согласно данным В. И. Циркина [11], блокада $\beta 1$ - и $\beta 2$ -адренорецепторов обзиданом (10^{-8} г/мл) не снимает эффект ускорения агглютинации адреналином, при блокаде отдельно $\beta 1$ -адренорецепторов атенололом в той же концентрации эффект ускорения агглютинации в отдельных случаях даже более выражен. Следовательно, он осуществляется через α -адренорецепторы, а через $\beta 1$ -адренорецепторы частично блокируется. С этим согласуются сведения, полученные прямой микроскопией, о способности агонистов α -адренорецепторов (адреналина, норадреналина, фенилэфрина, метапротеренола) дозозависимо (от 10^{-5} до 10^{-10} М)

Время агглютинации эритроцитов капиллярной крови девушек, проживающих в городе (1-я группа) или селе (2-я группа), в цоликлоне с добавлением адреналина в различной концентрации

Обследованные лица		Раствор Кребса	Концентрация адреналина, г/мл			
			10^{-8}	10^{-7}	10^{-6}	10^{-5}
«Доза – эффект» по абсолютным значениям, с						
1-я группа (n = 35)	с	72,5 ± 4,3	63,1 ± 4,7	59,1 ± 4,1*	57,8 ± 3,9*	57,3 ± 4,0*
	%	100,0 ± 0,0	87,8 ± 4,7*	82,4 ± 3,9*	80,4 ± 2,9*	78,3 ± 2,9*
2-я группа (n = 55)	с	67,3 ± 3,2	54,8 ± 2,9*	50,9 ± 2,4*#	52,4 ± 2,6*	53,5 ± 3,0*
	%	100,0 ± 0,0	81,4 ± 1,5*	79,9 ± 1,8*	78,2 ± 1,8*	78,5 ± 1,8*
Обе группы (n = 90)	с	69,4 ± 2,6	58,0 ± 2,5*	54,2 ± 2,2*	54,6 ± 2,2*	55,2 ± 2,4*
	%	100,0 ± 0,0	83,9 ± 2,1*	79,1 ± 1,9*	79,1 ± 1,5*	79,1 ± 1,6*
«Доза – эффект» по относительным значениям, % к раствору Кребса						
1-я группа (n = 29)	с	74,8 ± 6,7	69,6 ± 5,3	65,9 ± 5,4	57,8 ± 3,9*	58,6 ± 6,3
	%	100,0 ± 0,0	93,6 ± 4,6	87,9 ± 3,5*	80,4 ± 3,2*	77,9 ± 3,1*
2-я группа (n = 49)	с	64,9 ± 3,5	57,3 ± 3,4*#	54,1 ± 2,8*#	52,0 ± 2,7*	50,6 ± 2,8*
	%	100,0 ± 0,0	89,2 ± 2,5*	84,5 ± 2,3*	81,3 ± 2,2*	78,7 ± 2,2*
Обе группы (n = 78)	с	68,6 ± 3,3	62,2 ± 3,3	58,5 ± 3,0*	54,2 ± 2,3*	53,6 ± 2,9*
	%	100,0 ± 0,0	90,8 ± 2,3*	85,8 ± 1,9*	80,9 ± 1,8*	78,4 ± 1,8*

Примечание: * – достоверность отличия ($p < 0,05$) от абсолютных или относительных, соответственно, значений времени агглютинации в цоликлоне с раствором Кребса; # – между временем агглютинации эритроцитов капиллярной крови девушек, проживающих в городе или селе.

повышать агглютинацию эритроцитов на 20–100 % [6].

Связь антигена и антитела основана на межмолекулярных нековалентных взаимодействиях с помощью водородных связей, гидрофобных эффектов и сил Ван-дер-Ваальса. Прочность этих связей зависит от многих физических (рН, ионной силы и температуры) и химических (концентрации растворенных веществ) факторов окружающей жидкости [1]. В этом отношении интерес представляют данные о том, что гормоны стресса – кортикостероиды, йодсодержащие гормоны щитовидной железы – усиливают сопряжение β -адренорецепторов со вторичными клеточными посредниками – Gs-белком и аденилатциклазой в эритроцитах птиц, что означает повышение β -адренореактивности эритроцитов [13]. Следовательно, даже незначительные изменения в составе крови человека, происходящие, например, в связи с экологическими особенностями места проживания, могут в целом повлиять на время агглютинации эритроцитов и, в частности, на агглютинацию в присутствии адреналина.

В связи с этим доноры с выраженной зависимостью времени агглютинации эритроцитов от концентрации адреналина были разделены на две группы: 1-я – девушки, ранее проживавшие в городе, 2-я – лица, проживавшие в сельской местности. Нали-

чие выраженного «доза – эффекта» позволяет предположить, что в целом адренореактивность у них более чувствительна к различным внешним воздействиям. Следует отметить, что девушки 2-й группы на момент исследования находились в условиях урбанизированной среды около трех недель, т. е. их организм был в состоянии острой фазы долговременной адаптации к техногенным условиям. Забор крови доноров обеих групп проведен одновременно.

Выявлено, что время агглютинации эритроцитов капиллярной крови девушек, ранее проживавших в селе, достоверно меньше (см. табл.), чем у девушек, проживавших в городе. Например, в присутствии адреналина 10^{-7} г/мл время агглютинации доноров 1-й и 2-й групп составило $57,3 \pm 3,4$ и $69,6 \pm 5,3$ с соответственно. Аналогично для адреналина в концентрации 10^{-8} г/мл $54,1 \pm 2,8$ против $65,9 \pm 5,4$ с; отличия в обоих случаях были достоверны ($p < 0,05$). Ранее Е. Н. Сизовой и соавт. [7] было показано, что один из аэрополлютантов – озон, снижает доминирующую адренореактивность биологических гладкомышечных объектов, а именно α -полосок миоэлектрических беременных женщин и β -адренореактивность продольных полосок рога матки небеременных крыс, циркулярных полосок коронарной артерии свиньи и продольных полосок трахеи коровы.

Следовательно, проживание на урбанизированной территории с повышенным содержанием аэрополлютантов изменяет адренореактивность организма, что лежит в основе адаптации к антропогенному стрессу. Известно, что переход адаптации в дезадаптацию и к стрессорным повреждениям симпатoadреналовой системы включает усиление адренергических влияний, уменьшение плотности β -АР, разобщение связей с аденилатциклазной системой клеток, снижение активности системы G-белок-аденилатциклаза [14]. Эти процессы происходят во всех клетках, имеющих адренорецепторы [15].

Таким образом, нами выявлено, что чем выше концентрация адреналина, тем меньше время агглютинации эритроцитов в АВ0 цоликлонах, т. е. агглютинация – это адренезависимый процесс. Время агглютинации эритроцитов крови девушек, ранее проживавших в селе, достоверно меньше, чем у лиц, проживавших в городе. Возможно, это является основой механизма адаптации к антропогенному стрессу. В целом, длительность адренезависимой агглютинации эритроцитов может служить физиологическим индикатором уровня антропогенной нагрузки урбанизированной среды.

Список литературы

1. Жибурт Е. Б. Трансфузиология. СПб., 2002.
2. Абдулина Н. Н., Мусаходжаева Д. А., Камилова А. Т. Цитокиновый статус при острых кишечных инфекциях у детей, проживающих в Каракалпакстане // Медицинская иммунология. 2006. № 2–3. С. 361–362.
3. Акопова Ю. С., Савченко А. А. Реактивность иммунной системы городского населения в условиях непрерывного воздействия неблагоприятных факторов окружающей среды // Вестн. Красноярск. гос. ун-та. Серия: Естественные науки. 2006. № 5. С. 138–143.
4. Длусская И. Г., Вагина О. А., Бубеев Ю. А. Индивидуальные особенности неосознаваемых психоадаптивных процессов и адренореактивность при длительном воздействии экстремальных ситуаций // Физиология человека. 2009. Т. 35, № 1. С. 101–106.
5. Гулин А. В., Засядько К. И., Ияд Хамад. Физиологические особенности и критерии оценки уровня адаптации студентов к процессу обучения в вузе // Курортные ведомости. 2006. № 2. С. 51–52.
6. Муравьев А. В., Якусевич В. В., Чопоров С. В. Анализ изменений агрегации эритроцитов под влиянием фармакологических препаратов: *in vivo* исследование // Гемореология в микро- и макроциркуляции: Материалы междунар. конф. Ярославль, 2005. С. 190–191.
7. Сизова Е. Н., Циркин В. И., Костяев А. А., Дворянский С. А., Туманова Т. В., Подтетнев А. Д. Реакция гладких мышц на действие озона и способность β -адреносенсибилизаторов препятствовать его β -адреноблокирующему эффекту // Вятский мед. вестн. 2003. № 1. С. 49–53.
8. Баилай А. Г., Кузнецова Л. Р., Данилова Е. М., Кравчук О. А. Сравнительный анализ иммуносерологических технологий фенотипирования эритроцитов при массовом обследовании доноров // Гематология и трансфузиология. 2008. № 1. С. 3–5.
9. Рыжова О. Б., Семикина Е. Л. Современные методы определения группы крови и резус-принадлежности крови // Рос. педиатр. журн. 2008. № 5. С. 42–47.
10. Голенда И. Л., Голенда А. М., Галлеев А. Р., Иванов В. И., Никулина Т. В. Кинетический способ исследования адренорецепторов в эритроцитах // Физиология человека. 1994. Т. 20, № 3. С. 151–155.
11. Циркин В. И., Громова М. А., Колчина Д. А., Михайлова В. И., Плясунова Е. К. Оценка адренореактивности эритроцитов, основанная на способности адреналина повышать скорость агглютинации эритроцитов // Фундаментальные исследования. 2008. № 7. С. 59–60.
12. Insel P. F., Wassermann S. I. Asthma: a disorder of adrenergic receptors? // FASEB J. 1990. Vol. 4, № 10. P. 2732–2736.
13. Сергеев П. В., Шимановский Н. Л., Петров В. И. Рецепторы физиологически активных веществ. Волгоград, 1999.
14. Меерсон Ф. З., Копылов Ю. Н. Роль инозитолфосфатного цикла в кардиопротективном эффекте адаптации к длительному стрессу // Вопр. мед. химии. 1993. Т. 39, № 2. С. 6–13.

15. Надирадзе Н. Л., Грекулова, Кавта-
радзе В. Г. Проницаемость мембран эрит-
роцитов для Na^+ и K^+ и их фосфолипидный
состав у больных с гипертонической болез-

нью // Бюллетень экспериментальной био-
логии и медицины. 1993. Т. 115, № 2.
С. 135–137.

Материал поступил в редколлегию 06.07.2009

N. V. Mischenko, S. N. Rodygina, E. N. Sizova, O. V. Tulyakova

Erythrocyte Agglutination Length of Donors, Lived in Town and Village

In order to study in the presence of adrenaline (10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} g/ml), the length of erythrocyte agglutination test donors, previously residing in the town or village, studied capillary blood of 18-year-old girls ($n = 226$). Revealed that the higher the concentration of adrenaline, the less time, erythrocyte agglutination test in AVO tsoliklons. Time erythrocyte agglutination test blood of girls formerly lived in the village, less than that of girls, former residents of the city, that lies at the basis of adaptation to anthropogenic stress.

Keywords: erythrocytes, agglutination, anthropogenic stress.