

ОСОБЕННОСТИ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В УСЛОВИЯХ ЭКЗАМЕНАЦИОННОГО СТРЕССА

Шиrolapov И.В., Пятин В.Ф., Лавров О.В.

ГОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития России, г. Самара

Резюме. В условиях воздействия психоэмоциональных стрессоров обеспечивается постоянное тесное взаимодействие нервной, эндокринной и иммунной физиологических регуляторных систем. У 203 студентов вуза изучены особенности клеточных и гуморальных показателей системы иммунитета при экзаменационном стрессе. Установлено снижение абсолютного и относительного содержания CD3⁺T-лимфоцитов, субпопуляции клеток с функцией естественной цитотоксичности (CD3⁺CD16⁺CD56⁺ и CD3⁺CD16⁺CD56⁺ клеток) после экзамена по сравнению с таковым до экзамена. Выявлено снижение значений CD3⁺CD19⁺, CD3⁺CD4⁺ и CD3⁺CD8⁺ лимфоцитов после экзамена относительно контрольного периода измерений. Сывороточные концентрации иммуноглобулинов А, М, G находились в пределах физиологических значений нормы. Изменения иммунологических показателей при остром экзаменационном стрессе зависят от особенностей вегетативных и гормональных реакций человека и в определенных условиях — предельных по интенсивности и длительности — психоэмоциональный стресс может вызвать общие нарушения иммунного реагирования.

Ключевые слова: иммунологическая реактивность, психоэмоциональный экзаменационный стресс, нейроиммуноэндокринная регуляция.

Shirolapov I.V., Pyatin V.F., Lavrov O.V.

FEATURES OF IMMUNE REACTIONS IN STRESS CONDITIONS ASSOCIATED WITH EXAMS

Abstract. It has been widely accepted that routine psychophysiological stressors may influence immune functioning via their close interactions between nervous, autonomic, endocrine and immune regulatory systems. The aim of this study was to evaluate immune reactions to acute psychophysiological stress in 203 medical students before and after academic exams. The results showed significant decrease of absolute and relative contents CD3⁺ T cells, natural killer (NK) cell subpopulations and T-NK cells (CD3⁺CD16⁺CD56⁺ and CD3⁺CD16⁺CD56⁺), as well as declined NK cell activity were revealed immediately after exams, as compared to initial values for these indices. Moreover, a significant decrease in CD19⁺ B cells, CD4⁺ T-helpers and CD8⁺ T-cytotoxic lymphocyte counts was found after exams, in comparison with parameters assessed under stress-free conditions, but no differences were observed, when compared with pre-examination values. Serum concentrations of IgA, IgM, IgG were within normal physiological limits. Changes in immunological parameters during acute examination-associated stress depend on characteristics of autonomous and hormonal reactions in humans, and, under particular extreme conditions, such psycho-emotional stress may cause general disturbances of immune reactions. We conclude that acute psycho-physiological stress during the exams causes significant changes in some lymphocyte subpopulations, in particular, natural killers. (*Med. Immunol.*, 2012,

vol. 14, N 1-2, pp 133-138)

Адрес для переписки:

Шиrolapov Игорь Викторович,
Самарский государственный медицинский
университет,
кафедра нормальной физиологии
443079, г. Самара, ул. Гагарина, 18.
Тел.: (846) 260-33-64.
E-mail: ishirolapov@mail.ru

Keywords: immune reactivity, psycho-emotional examination stress, neuroimmunoendocrine regulation.

Введение

Воздействие стрессорных факторов вызывает изменение параметров функциональной активности физиологических систем организма,

в том числе различные адаптивные изменения в системе иммунитета. Независимо от природы стресса, реакции иммунной системы носят дозозависимый характер: острый стресс оказывает стимулирующее влияние, в то время как хронический стресс приводит к снижению иммунокомпетентности и развитию клинически значимых нарушений иммунного реагирования [2, 3, 6]. Эти реакции определяются не только характером стрессорных факторов, но и индивидуальными особенностями организма, анализ и взаимосвязи которых рассматриваются с позиции нейро-эндокриноиммунологии. В условиях влияния психоэмоциональных стрессоров, в частности в период экзамена, обеспечивается постоянное тесное взаимодействие нейрогенных, эндокринных и иммуногенных посредников, и изменение в параметрах функциональной активности одной из регуляторных систем находит свое отражение в реакциях других [4, 7, 13]. Суммарное влияние стрессорных факторов, возникающих в период экзаменационной сессии (эмоциональное напряжение, изменение режима сна, снижение двигательной активности), составляют силу и длительность стресса и в целом характеризуют его как физиологический или патологический. При этом не только параметры стресса, но и состояние антистрессорной системы и суммарная активность внутренних механизмов адаптации организма человека в условиях психоэмоциональных нагрузок во взаимосвязи определяют особенности иммунологической реактивности [1, 16].

Целью настоящего исследования было изучить особенности количественных показателей клеточного и гуморального звеньев системы иммунитета в условиях психоэмоционального экзаменационного стресса.

Материалы и методы

Группа обследованных включала 203 человека без острых или хронических в стадии обострения заболеваний (студенты вуза в возрасте 20 ± 2 лет). До участия в исследовании испытуемые прошли медицинское обследование, включающее сбор анамнестических данных, физикальное, инструментальное и лабораторное исследования.

Материалом для исследования иммунологических показателей служила венозная кровь. Забор крови проводился у испытуемых утром натощак количеством 5 мл в пробирки Vacuut Tube EDTA.K3 (цельная кровь). Протокол исследования включал два этапа: забор материала за 1 час до экзамена и через 1 час после его сдачи. Результаты предварительного иммунологического обследования студентов вне экзаменационной

сессии составили группу контрольных данных. Исследование крови осуществлялось в течение 2-х часов после ее забора.

Иммунофенотипирование лимфоцитов проводили методом иммунофлюоресцентного анализа с использованием проточного лазерного цитометра BD FACS Canto II (Becton Dickinson, США) после автоматизированной пробоподготовки цельной крови BD FACS Sample Prep Assistant II (Becton Dickinson, США). В работе проводилось изучение абсолютного и относительного содержания следующих показателей субпопуляционного состава лимфоцитов: $CD3^+CD45^+$, $CD3^+CD4^+$, $CD3^+CD8^+$, $CD3^+CD56^+$; $CD3^+CD16^+CD56^+$, $CD3^+CD19^+$. Для определения перечисленных показателей использовался стандартизированный комплект моноклональных антител BD Multitest 6-Color TBNK Reagent (BD Biosciences), содержащий меченные PerCP-Cy5.5 anti-CD45 MKAT, меченные FITC anti-CD3 MKAT, меченные PE anti-CD16/anti-CD56 MKAT. Концентрацию трех основных классов иммуноглобулинов (A, M, G) в сыворотке крови определяли имунотурбидиметрическим методом с помощью анализатора «Hitachi-902» (Япония).

Результаты исследования обрабатывались с использованием пакета прикладных программ «StatPlus». Достоверность измерений оценивалась в парном и гомоскедастическом двухвыборочном Т-тесте. Статистическая значимость принималась при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В работе установлено достоверное снижение ($p < 0,05$) абсолютного содержания $CD3^+$ Т-лимфоцитов и их субпопуляций, а также клеток с функцией естественной цитотоксичности ($CD3^+CD16^+CD56^+$ NK-клеток и $CD3^+CD16^+CD56^+$ Т-NK-клеток) после экзамена по сравнению с таковыми до экзамена.

Выявлено, что абсолютное количество $CD3^+$ лимфоцитов, $CD3^+CD4^+$ клеток и $CD3^+CD8^+$ клеток в постэкзаменационный период измерений были ниже таковых в сравнении с результатами в пробах крови, взятых до экзамена: на 13%, 14,5% и 12%, соответственно. При этом абсолютное содержание Т-цитотоксических лимфоцитов как до, так и после экзамена было достоверно ниже, чем в контрольный период взятия крови (вне сессии). У испытуемых после экзамена было отмечено снижение абсолютного содержания $CD19^+$ В-лимфоцитов на 17% по сравнению с таковым до его начала ($p < 0,05$).

Наиболее выраженные изменения количественных показателей отмечены в субпопуляциях натуральных киллеров и Т-NK-клеток. Так,

ТАБЛИЦА 1. СОДЕРЖАНИЕ СУБПОПУЛЯЦИЙ ЛИМФОЦИТОВ В ДИНАМИКЕ ЭКЗАМЕНАЦИОННОГО СТРЕССА ($M \pm m$)

Показатели		До экзамена	После экзамена	Контроль	p_1	p_2 p_3
1		2	3	4	5	6
CD45 ⁺ CD3 ⁺	%	72,4±7,7	75,2±8,94	69,0±6,80	0,030	0,089 0,006
	10 ⁹ кл/л	1,30±0,36	1,13±0,34	1,27±0,29	0,001	0,214 0,411
CD45 ⁺ CD19 ⁺	%	9,67±3,21	10,3±3,3	12,0±3,03	0,128	0,008 0,074
	10 ⁹ кл/л	0,17±0,07	0,14±0,05	0,17±0,07	0,014	0,774 0,275
CD3 ⁺ CD4 ⁺	%	41,3±7,0	43,3±9,6	39,0±7,38	0,219	0,346 0,137
	10 ⁹ кл/л	0,62±0,29	0,53±0,23	0,68±0,21	0,042	0,167 0,002
CD3 ⁺ CD8 ⁺	%	23,8±6,5	25,2±6,3	29,0±3,78	0,117	0,002 0,006
	10 ⁹ кл/л	0,41±0,17	0,36±0,15	0,56±0,20	0,035	0,007 0,001
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺	%	2,52±2,12	1,30±1,15	5,45±4,46	0,001	0,112 0,001
	10 ⁹ кл/л	0,04±0,03	0,02±0,02	0,05±0,04	0,001	0,001 0,001
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺	%	11,0±5,9	6,85±3,69	13,70±4,40	0,001	0,001 0,001
	10 ⁹ кл/л	0,21±0,12	0,12±0,06	0,38±0,22	0,001	0,001 0,001
Иммуноглобулин М (г/л)		1,80±0,85	1,98±0,99	1,33±0,37	0,143	0,033 0,036
Иммуноглобулин G (г/л)		13,3±2,50	13,8±2,14	12,9±3,77	0,057	0,307 0,236
Иммуноглобулин А (г/л)		1,94±0,67	2,04±0,74	2,31±0,32	0,634	0,038 0,043
ЦИК (Опт.ед/мл)		130,8±135,5	129,6±123,7	48,0±27,3	0,791	0,001 0,001

Примечание. p_1 – вероятность различий до и после экзамена; p_2 – вероятность различий между значениями до экзамена по сравнению с контролем; p_3 – вероятность различий между значениями после экзамена по сравнению с контролем.

абсолютное количество CD3⁺CD16⁺CD56⁺ клеток снизилось на 43% и CD3⁺CD16⁺CD56⁺ клеток на 48% по сравнению со значениями за 1 час до начала экзамена. При этом следует отметить, что содержание NK-клеток было достоверно ниже перед экзаменом по сравнению с перио-

дом контроля вне сессии: абсолютное количество на 43%, относительное – на 20%.

Исследование сывороточных концентраций иммуноглобулинов трех основных классов показало, что их значения варьировали в пределах физиологической нормы.

Стресс, в том числе психоэмоциональный, представляет собой общую неспецифическую реакцию организма на действие возмущающих факторов, приводящую к изменению гомеостаза. При этом стресс вызывает генерализованный характер ответных реакций организма. Изменение ряда иммунологических показателей в нашем исследовании доказывает наличие адаптивных ответных реакций на действие стрессорных факторов со стороны системы иммунитета. В формировании таких реакций существенную роль играют межсистемные связи посредством активации центральной и вегетативной нервной систем, гормональных механизмов и иммунологических посредников [1, 9, 16]. Показана ключевая роль диэнцефальных структур, в особенности гипоталамуса, в развитии начальных нервно-гуморальных реакций в ответ на психоэмоциональный стресс [2, 14]. Физиологической основой стресса и развития общего адаптационного синдрома является, с одной стороны, активация симпатoadреналовой системы, приводящая к выбросу в системную циркуляцию катехоламинов, с другой — активация гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси с увеличением сывороточной концентрации эндогенных глюкокортикостероидов, через которые реализуется регуляция функциональной активности эффекторных систем [4, 6, 10].

В основе иммунологических изменений при действии стрессорных факторов лежит не только реакция иммунной системы на повышенную секрецию глюкокортикостероидов и катехоламинов. Иммунный ответ оказывает модулирующее влияние на нервную и эндокринную системы: иммунокомпетентные клетки посредством цитокинов регулируют активность гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси и симпатoadреналовой системы.

Согласно данным литературы, при остром воздействии психоэмоционального стрессора рядом исследователей отмечалось повышение количества циркулирующих $CD8^+$ Т-лимфоцитов и клеток с функцией естественной цитотоксичности ($CD16^+CD56^+$ клеток), уменьшение пула хелперной популяции Т-лимфоцитов и, соответственно, снижение иммунорегуляторного индекса ($CD4^+/CD8^+$), более выраженное при хроническом (длительном) стрессе. Одновременно авторами наблюдалось нарушение пролиферативной активности лимфоцитов (задолго до экзаменов), при этом подчеркивается, что сразу после воздействия стрессора число цитотоксических Т-клеток и натуральных киллеров возрастает благодаря мобилизации пула из депо, а их пролиферативная активность в ответ на ми-

тоген падает. Фагоцитарная активность макрофагов возрастала, однако острый стресс снижал чувствительность данных клеток к повторному воздействию стрессовых гормонов [5, 8, 11, 12]. Перечисленные реакции системы иммунитета коррелировали с выраженностью реакций кардиоваскулярной системы: повышение частоты сердечных сокращений, уровней систолического и диастолического артериального давления, уменьшение величины кардиоинтервала [7, 9].

Несмотря на изменения сывороточной концентрации иммуноглобулинов трех основных классов в пределах установленных физиологических значений, было отмечено, что содержание IgA в сыворотке крови как до, так и после экзамена было достоверно ниже, чем в контрольный период измерений. Дальнейшее воздействие психоэмоционального стресса с тенденцией к его хроническому влиянию может приводить к снижению сывороточных концентраций IgA, основной функцией которого является поддержание оптимальной иммунологической резистентности слизистых оболочек. Это предрасполагает к возможному развитию острых респираторных вирусных инфекций. Сывороточные концентрации иммуноглобулина М, напротив, были достоверно выше как в пред-, так и в постэкзаменационный периоды, в сравнении с контрольным. По данным литературы, исследование студентов в процессе сдачи экзамена в ряде случаев выявляло количественное повышение IgA в периферической крови обследованных непосредственно перед и во время экзамена и возвращение к прежним значениям данного показателя после экзамена [12, 15].

Воздействие острого психоэмоционального (экзаменационного) стресса у студентов на лейкоциты периферической крови характеризуется целым рядом их количественных и функциональных изменений, активацией неспецифического и специфического звеньев резистентности организма. Определяющую роль в стресс-индуцированном перераспределении лейкоцитов периферической крови имеют глюкокортикоидные гормоны. В качестве адаптивной реакции на стресс происходит активация хемотаксиса, адгезивной способности лейкоцитов, рост их миграционной активности. Более того, психоэмоциональный стресс приводит к перераспределению клеток и на уровне костного мозга — происходит стимуляция миелопоэза, аккумуляция нейтрофилов и лимфоцитов в селезенке [2, 8, 13, 14]. Такие эффекты реализуются благодаря четкому медиаторному нейроиммуноэндокринному контролю сложных ответных реакций на психоэмоциональный стресс. Однако в слу-

чае часто повторяющихся эпизодов воздействия стрессорных факторов и/или пролонгации их влияния во времени возможно дальнейшее изменение содержания или состава нейрогенных и гуморальных факторов регуляции в микроокружении иммунокомпетентных клеток. В результате острый психоэмоциональный стресс трансформируется в хронический — со свойственными ему иммуноингибирующими эффектами и супрессией иммунологической защиты.

Согласно результатам настоящего исследования, при экзаменационном стрессе со стороны системы иммунитета наибольшие изменения выявлены у лимфоцитов с цитотоксической функцией (снижение содержания Т-цитотоксических лимфоцитов, Т-НК и НК-клеток). Снижение количественных иммунологических показателей у студентов до начала экзамена в сравнении с таковыми в контрольный период указывают на наличие стрессового состояния у испытуемых уже в предэкзаменационный период. Такие результаты правомерно интерпретировать как хронический характер функциональных ответов системы иммунитета у студентов в нашем исследовании. Изменения иммунологических показателей при психоэмоциональном стрессе зависят от индивидуальных особенностей вегетативных и гормональных реакций каждого испытуемого, поэтому требуется дальнейший детальный анализ этих факторов с целью выявления тонких механизмов согласованного нейроиммунэндокринного взаимодействия при стрессе. В связи с этим авторы считают необходимым и правомерным кластеризацию студентов на отдельные группы согласно особенностям вегетативных и эндокринных реакций на стресс и отражающих степень риска развития дистресса для оценки динамики иммунологических показателей и в целом уточнения характера иммунологических сдвигов при экзаменационном стрессе. Данную необходимость в кластеризации авторы ставят в качестве дальнейшей цели настоящего исследования и готовы представить ее на обсуждение. В заключение следует подчеркнуть, что психоэмоциональный стресс, обладая дозозависимым эффектом на иммунную систему, не должен быть предельным по интенсивности и длительности, при превышении которых могут возникнуть клинически значимые нарушения иммунного реагирования.

Список литературы

1. Вознесенская Т.Г. Эмоциональный стресс и профилактика его последствий // Русский медицинский журнал. — 2006. — Т. 14, № 9. — С. 694-697.
2. Крыжановский Г.Н., Магаева С.В., Макаров С.В., Сепиашвили Р.И. Нейроиммунопатология. — М.: Изд-во НИИ общей патологии и патофизиологии, 2003. — 438 с.
3. Лавров О.В., Широлапов И.В., Пятин В.Ф. Острый экзаменационный стресс: иммуносупрессия или иммуностимуляция? // Медицинская иммунология. — 2011. — Т. 13, № 4-5. — С. 470-471.
4. Anisman H. Stress, immunity, cytokines and depression // *Acta Neuropsychiatrica*. — 2002. — Vol. 14. — P.251-261.
5. Atanackovic D., Schnee B., Schuch G. Acute psychological stress alerts the adaptive immune response: stress-induced mobilization of effector T cells // *J. Neuroimmunol.* — 2006. — Vol. 176. — P. 141-152.
6. Besedovsky H.O., Rey A.D. Physiology of psychoneuroimmunology: a personal view // *Brain. Behav. Immun.* — 2007. — Vol. 21. — P. 34-44.
7. Cohen S., Hamrick N., Rodriguez M.S., Feldman P., Rabin B., Manuck S. The stability of and intercorrelations among cardiovascular, immune, endocrine, and psychological reactivity // *Ann. Behav. Med.* 2000. — Vol. 22, N 3. — P. 171-179.
8. Engler H., Bailey M. T., Engler A., Sheridan J. Effects of repeated social stress on leukocyte distribution in bone marrow, peripheral blood and spleen // *J. Neuroimmunol.* — 2004. — Vol. 148, N 1-2. — P. 106-115.
9. Isowa T., Ohira H., Murashima S. Immune, endocrine and cardiovascular responses to controllable and uncontrollable acute stress // *Biol. Psychol.* — 2006. — Vol. 71. — P. 202-213.
10. Joca S.R.L., Ferreira F.R., Guimaraes F.S. Modulation of stress consequences by hippocampal monoaminergic, glutamatergic and nitrenergic neurotransmitter systems // *Stress.* — 2007. — Vol. 10. — P. 227-249.
11. Keresztes M., Rudisch T., Tajti J., Ocsosvzki I., Gardi J. Granulocyte activation in humans is modulated by psychological stress and relaxation // *Stress.* — 2007. — Vol. 10, N 3. — P. 271-281.
12. Krahwinkel T., Nastali S., Azrak B., Willershausen B. The effect of examination stress conditions on the cortisol content of saliva — a study of students from clinical semesters // *Eur. J. Med. Res.* — 2004. — Vol. 9, N 5. — P. 256-260.
13. Kusnecov A.W., Rossi-George A. Stressor-induced modulation of immune function: a review of acute, chronic effects in animals // *Acta Neuropsychiatrica*. — 2002. — Vol. 14. — P. 279-291.

14. McEwen B.S. Physiology and Neurobiology of Stress and Adaptation: Central Role of the Brain // *Physiol. Rev.* — 2007. — Vol. 87. — P. 873-904.

15. Morgan C.A., Wang S., Rasmusson A., Hazlett G., Anderson G., Charney D.S. Relationship among plasma cortisol, catecholamines, neuropeptide Y, and human performance during exposure to uncontrollable stress // *Psychosom. Med.* — 2001. — Vol. 63, N 3. — P. 412-422.

16. Segal A.B., Bruno S., Forte W.C. Immune function in acute stress // *Allergol. Immunopathol.* — 2006. — Vol. 34. — P. 136-140.

поступила в редакцию 04.07.2011

отправлена на доработку 28.09.2011

принята к печати 04.10.2011