

СТРЕСС-ИНДУЦИРОВАННЫЕ ОСОБЕННОСТИ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У ЛЮДЕЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ ВЕГЕТАТИВНО- ГОРМОНАЛЬНЫХ КЛАСТЕРОВ

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

ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Самара, Россия

Резюме. Исследованы ответы системы иммунитета, гормональные и вегетативные реакции у 203 студентов вуза в период сессии. Выполнен детальный анализ и кластеризация испытуемых на 6 групп согласно особенностям полученных реакций с целью оценки динамики иммунологических показателей и прогнозирования иммунологических сдвигов при экзаменационном стрессе.

Ключевые слова: психоэмоциональный экзаменационный стресс, нейроиммуноэндокринная регуляция

Адрес для переписки:

Широлапов Игорь Викторович
к.м.н., старший преподаватель кафедры
нормальной физиологии
ГБОУ ВПО «Самарский государственный
медицинский университет»
443079, Россия, г. Самара, ул. Гагарина, 18.
Тел.: 8 (846) 260-33-64.
E-mail: ishirolapov@mail.ru

Поступила 13.12.2012

Отправлена на доработку 29.01.2013

Принята к печати 13.02.2013

Авторы:

Пятин В.Ф. — д.м.н., профессор, заведующий
кафедрой нормальной физиологии ГБОУ ВПО
«Самарский государственный медицинский
университет» Минздрава России, г. Самара

Лавров О.В. — к.м.н., доцент кафедры
нормальной физиологии ГБОУ ВПО «Самарский
государственный медицинский университет»
Минздрава России, г. Самара

Широлапов И.В. — к.м.н., старший преподаватель
кафедры нормальной физиологии ГБОУ ВПО
«Самарский государственный медицинский
университет» Минздрава России, г. Самара

STRESS-INDUCED CHARACTERISTICS OF IMMUNE PARAMETERS IN HUMANS DIFFERENTIATED FOR THEIR AUTONOMIC NERVOUS RESPONSES AND HORMONAL CLUSTERS

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

Samara State Medical University, Samara, Russian Federation

Abstract. Immune systemic reactions, as well as hormonal and autonomic responses were evaluated in two-hundred-three high-school students during their mid-term exams. A detailed analysis and clustering of the subjects into 6 groups was performed, according to specific characteristics of biological responses, in order to assess time dynamics of immunological parameters and prediction of immunological changes which accompany the exam-associated psycho-emotional stress. (*Med. Immunol.*, 2013, vol. 15, N 3, pp 283-288)

Keywords: psycho-emotional exam-associated stress, neuroimmunoendocrine regulation

Address for correspondence:

Shirolapov Igor' V.
PhD, Department of Normal Physiology, Samara State
Medical University
443079, Russian Federation, Samara, Gagarina str., 18.
Phone: 7 (846) 260-33-64.
E-mail: ishirolapov@mail.ru

Received 13.12.2012
Revision received 29.01.2013
Accepted 13.02.2013

Authors:

Pyatin V.F., PhD, MD (Medicine), Professor, Chief,
Department of Normal Physiology, Samara State
Medical University, Samara

Lavrov O.V., PhD (Medicine), Associate Professor,
Department of Normal Physiology, Samara State
Medical University, Samara

Shirolapov I.V., PhD (Medicine), Senior Lecturer,
Department of Normal Physiology, Samara State
Medical University, Samara

Введение

Взаимодействие между нервной, эндокринной и иммунной системами регуляции функций играет ключевую роль в поддержании гомеостазиса организма, и к настоящему времени описаны клеточные и молекулярные основы таких межсистемных связей [6, 8, 11, 13, 14]. Авторами выполнен цикл научных исследований, посвященных изучению экзаменационного стресса и его совокупного влияния на показатели функциональной активности иммунной, эндокринной и нервной регуляторных систем. В недавней работе [5] авторы продемонстрировали изменение ряда количественных показателей клеточного и гуморального звеньев системы иммунитета в условиях психоэмоционального экзаменационного стресса. Однако отмечено, что изменения иммунологических показателей при психоэмоциональном стрессе зависят от индивидуальных особенностей вегетативных и гормональных реакций каждого испытуемого, поэтому требуется детальный анализ этих факторов с целью выявления тонких механизмов согласованного нейроиммуноэндокринного взаимодействия при стрессе. В связи с этим авторы полагают 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 [2, 5, 7, 10]. Данную необходимость в кластеризации авторы поставили в качестве цели представленного цикла научных исследований.

В настоящей работе авторами исследованы адаптивные ответные реакции системы иммунитета во взаимосвязи с индивидуальными особенностями вегетативных и гормональных ответов на действие стрессорных факторов академической сессии у студентов медицинского вуза.

Материалы и методы

Группа обследованных в цикле исследований 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 служила венозная кровь. Забор крови проводился у испытуемых утром натощак количеством 5 мл. Протокол исследования включал два этапа: забор материала за 1 час до экзамена и через 1 час после его сдачи. Результаты предвари-

тельного обследования студентов вне экзаменационной сессии составили группу контрольных данных. Исследование крови осуществлялось в течение 2-х часов после ее забора. Для окончательной фазы исследования были отобраны 93 добровольца из стартового листа.

Гормональный статус и содержание ряда биогенных аминов (тиреотропный гормон, кортизол, инсулиноподобный фактор роста, лептин, адреналин, серотонин, гистамин) у испытуемых исследовались методом иммуноферментного анализа из проб сыворотки крови с использованием планшетного фотометра «Opsys MR Thermolabsystems», вошера и комплекта МКА.

Добровольцы проходили за 1 час до экзамена и в течение 1 часа после экзамена обследование на состояние вегетативных реакций. В перечень регистрируемых вегетативных реакций входило измерение систолического и диастолического артериального давления (САД, ДАД) и определение частоты сердечных сокращений (ЧСС). Для определения изменений вегетативного тонуса на основе полученных данных вычислялся индекс Кердо по формуле:

$$\text{Вегетативный индекс Кердо} = \frac{\text{Диастолическое артериальное давление}}{\text{Частота сердечных сокращений}} * 100\% - 100\%.$$

Оценка вегетативного индекса Кердо: повышение более чем на 15% свидетельствует о сдвиге вегетативных реакций в пользу симпатикотонии, а снижение на эту же величину и более – в пользу парасимпатикотонии.

Иммунофенотипирование лимфоцитов проводили 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 клеток: $CD3^+CD45^+$, $CD3^+CD4^+$, $CD3^+CD8^+$, $CD3^+CD56^+$; $CD3-CD16^+CD56^+$, $CD3-CD19^+$. Для определения перечисленных лимфоцитов использовался стандартизированный комплект МКА (BD Multitest 6-Color TBNK Reagent, «BD Biosciences»), содержащий меченные PerCP-Cy5.5 anti-CD45 МКАТ, меченные FITC anti-CD3 МКАТ, меченные PE anti-CD16/anti-CD56 МКАТ. Концентрацию иммуноглобулинов А, М, G в сыворотке крови определяли иммунотурбидиметрическим методом с помощью анализатора «Hitachi-902» (Япония).

Результаты исследования обрабатывались с использованием пакета прикладных программ «StatPlus». Оценивалась индивидуальная динамика показателей (частотный анализ с выявле-

нием процента обследованных с отклонением показателей от исходных и/или нормальных значений). Также проводилось сравнение средних величин (применялись методы параметрической и непараметрической статистики, статистическая значимость принималась при $p < 0,05$).

Результаты и обсуждение

Полученные в процессе исследований результаты особенностей иммунологических, вегетативных и гормональных показателей при экзаменационном стрессе представлены авторами в ряде работ [1-5]. Согласно результатам ранее представленных на обсуждение исследований [2, 3, 5], при экзаменационном стрессе со стороны системы иммунитета наибольшие изменения выявлены у лимфоцитов с цитотоксической функцией (снижение содержания Т-цитотоксических лимфоцитов, Т-NK и NK-клеток). При этом отмечено наличие стрессового состояния у испытуемых уже в предэкзаменационный период.

Гормональный профиль: по данным частотного анализа, у 65,5% студентов выявлено увеличение содержания серотонина в крови до экзамена, с сохранением повышенных значений после экзамена (46,2%). Стабильное повышение содержания гистамина в крови сохранялось в пределах достоверности частотного анализа — в 65,6% случаев измерений после экзамена. Уровень адреналина до экзамена был выше у 53,8% студентов, после экзамена — у 80,6%, из чего правомерно сделать вывод, что реакция в большинстве случаев носила отсроченный характер. Выявлено достоверное снижение сыровоточных уровней кортизола и ТТГ у студентов до и после экзамена ниже нормативных значений [1, 4].

По особенностям вегетативных реакций при стрессе [1] испытуемые разделились на две подгруппы: с устойчивым ростом вегетативного индекса Кердо (у 53% испытуемых в нашем исследовании) и без устойчивого роста вегетативного индекса Кердо (у 47% студентов).

Минимальное значение статистически достоверных случаев быстрого развития (до экзамена) и устойчивости (постэкзаменационный период) всех наблюдаемых изменений гормональных показателей составляло 53,8%, что соответствовало проценту вегетативных реакций с устойчивым повышением вегетативного индекса Кердо. В связи с этим была проведена параллель между изменениями гормонального статуса в подгруппах, различающихся характером вегетативных реакций. С этой целью проводилось сопоставление между показателями гормонального статуса в подгруппах до и после экзамена, а также с контролем. В целом различия между подгруппами носили количественный характер и были статистически

достоверны для увеличения содержания в крови гистамина до экзамена и адреналина после экзамена. Одновременно из всей совокупности факторов, потенциально связанных с характером вегетативных и гормональных сдвигов в разных подгруппах, отмечались пол и обучение студентов на младших или старших курсах. Эти «ключевые» факторы легли в основу результирующей кластеризации в нашем исследовании. Было выделено 6 кластеров, по половому составу и годам обучения кластеры соответствовали друг другу.

Представляем стресс-индуцированные особенности иммунологических показателей у людей дифференцированных вегетативно-гормональных кластеров (указаны только статистически достоверные изменения). Так, в кластере 1 ($n = 24$) было отмечено снижение Т-цитотоксических лимфоцитов, особенно выраженное после экзамена. Наибольшая степень сдвига в сторону снижения регистрировалась у NK-клеток. Модуляция уровней иммуноглобулинов при экзаменационном стрессе отличалась по классам: уровни IgM и IgG достоверно возрастали, а IgA — снижался. Особенно значительно возрастал показатель циркулирующих иммунных комплексов (в 3-4 раза).

Во 2 кластере ($n = 20$) в спектр наблюдаемых сдвигов входило достоверное снижение относительного содержания В-лимфоцитов до экзамена, а также клеток с потенциальной цитотоксической активностью после экзамена. Уровни иммуноглобулинов не менялись, но отмечался значительный рост ЦИК.

Кластер 5 ($n = 31$) характеризовался еще большим сужением спектра отклонений: снижение количества NK и Т-NK-клеток до и после экзамена.

Кластер 3 ($n = 5$) с прогнозом дистресса показывал, в отличие от остальных кластеров, рост общего числа Т-лимфоцитов после экзамена за счет субпопуляции Т-хелперов. Это сочеталось с достоверным увеличением сыровоточного уровня IgG на протяжении всего тестирования и снижением IgA до экзамена. После экзамена значительно снижалось число NK-клеток.

В кластере 4 ($n = 10$) отмечено количественное снижение лимфоцитов адаптивного иммунного ответа ($CD4^+$, $CD8^+$), а содержание NK-клеток снижалось в сравнительно меньшей степени, чем в предыдущих кластерах, при этом только после экзамена.

В кластере 6 ($n = 3$) достоверным было только увеличение уровня ЦИК. Предположительно, невыраженный спектр отклонений в данном кластере был связан с малым числом вошедших в его состав испытуемых.

Вегетативно-гормональные особенности испытуемых, характеристика кластеров, а также

критерии деления кластеров по прогнозу эустресса и дистресса представлены авторами в ранее опубликованных работах. В частности, кластеры 1, 2 и 5 соответствовали стресс-реакциям с благоприятным прогнозом, а кластеры 3, 4 и 6 – прогнозу развития дистресса. Кластеры с благоприятным и неблагоприятным прогнозом отличались, прежде всего, числом выявляемых достоверных отклонений как до и после экзамена, так и от контроля. Сопоставление полученных авторами данных с таковыми у других исследователей показало, что в большинстве случаев регистрируемые нами достоверные изменения иммунологических показателей соответствуют по своему характеру хроническому стрессу. При этом в большей степени отмечалось снижение показателей клеточного звена иммунной системы [7, 9, 12].

Корреляционные связи в кластерах с благоприятным и неблагоприятным прогнозом характеризуются как количественными, так и качественными различиями. При благоприятном прогнозе до экзамена статистически достоверными участниками 12 корреляционных пар среди иммунологических показателей служат относительное содержание в крови В-лимфоцитов и абсолютное число Т-цтл, высока корреляционная активность вегетативного индекса Кердо, а также кортизола и серотонина (здесь и далее представлены «участники» корреляционного анализа со статистически достоверными различиями). При неблагоприятном прогнозе до экзамена общее число корреляционных пар было равно 17, в состав которых чаще всего входило

число цитотоксических Т-клеток, по 6 корреляционных пар включали кортизол и гистамин, 4 пары – вегетативный индекс Кердо. После экзамена при благоприятном прогнозе было отмечено всего 3 корреляционных пары: «абсолютное число В-лимфоцитов – инсулиноподобный фактор», «абсолютное число НК-Т-клеток – лептин», «IgG – адреналин». Прогноз дистресса сопровождался взаимосвязями кортизола с В-лимфоцитами и Т-цтл; вегетативного индекса Кердо – с Т-хелперами; инсулиноподобного фактора с НК-Т-клетками; ТТГ – с уровнем IgG.

В заключение следует отметить, что каждый кластер имеет набор уникальных признаков. Предложенная на основании полученных данных кластеризация может способствовать доклиническому прогнозу степени риска развития функциональных постстрессорных нарушений в отдельных звеньях системы иммунитета в зависимости от кластерной принадлежности студента, а также экстраполировать данные на другие группы людей. Продолжение работ в предложенном направлении с дальнейшим детальным исследованием динамики иммунологических показателей и комплексных иммунных реакций при стрессе в тесной взаимосвязи с вегетативными и гормональными особенностями испытуемых может способствовать как накоплению новых фундаментальных данных и развитию теоретических представлений о механизмах и уровнях нейрогуморальной регуляции функции системы иммунитета, так и их использованию в клинической практике с целью профилактики заболеваний.

Список литературы

1. Лавров О.В., Пятин В.Ф., Широлапов И.В. Адаптационные изменения показателей кардиоваскулярной системы и сывороточных уровней ряда гормонов в условиях экзаменационного стресса // Казанский медицинский журнал. – 2012. – Т. 93, № 3. – С. 461-464.
2. 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.
3. Лавров О.В., Широлапов И.В., Пятин В.Ф. Показатели естественной цитотоксичности при остром психоэмоциональном стрессе // Аллергология и иммунология. – 2011. – Т. 12, № 4. – С. 338-341.
4. Лавров О.В., Широлапов И.В., Пятин В.Ф. Стресс-индуцированные гормональные реакции у студентов // Вестник новых медицинских технологий. – 2012. – Т. XIX, № 4. – С. 110-112.
5. Широлапов И.В., Пятин В.Ф., Лавров О.В. Особенности иммунологических показателей в условиях экзаменационного стресса // Медицинская иммунология. – 2012. – Т. 14, № 1-2. – С. 133-138.

Ссылки 6-14 см. в References (сmp. 288). See References for numbers 6-14 at p. 288.

References

1. Lavrov O.V., Pyatin V.F., Shirolapov I.V. Adaptatsionnye izmeneniya pokazateley kardiovaskulyarnoy sistemy i syvorotochnykh urovney ryada gormonov v usloviyakh ekzamenatsionnogo stressa [Adaptive changes of the indices of the cardiovascular system and serum content of a number of hormones under examination stress condition]. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal – Kazan Medical Journal*, 2012, vol. 93, no. 3, pp. 461-464.

2. Lavrov O.V., Shirolapov I.V., Pyatin V.F. Ostryy ekzamenatsionnyy stress: immunosupressiya ili immunostimulyatsiya? [Acute examination stress: immunosuppression or immunostimulation?]. *Meditinskaya immunologiya – Medical Immunology*, 2011, vol. 13, no. 4-5, pp. 470-471.
3. Lavrov O.V., Shirolapov I.V., Pyatin V.F. Pokazateli estestvennoy tsitotoksichnosti pri ostrom psikhoemotsional'nom stresse [Natural cytotoxicity indicators in acute psychoemotional stress]. *Allergologiya i immunologiya – Allergy and Immunology*, 2011, vol. 12, no. 4, pp. 338-341.
4. Lavrov O.V., Shirolapov I.V., Pyatin V.F. Stress-indutsirovannye gormonal'nye reaktsii u studentov [Hormonal responses in terms of exam stress in high school students]. *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy – Bulletin of New Medical Technologies*, 2012, vol. XIX, no. 4, pp. 110-112.
5. Shirolapov I.V., Pyatin V.F., Lavrov O.V. Osobennosti immunologicheskikh pokazateley v usloviyakh ekzamenatsionnogo stressa [Features of immune reactions in stress conditions associated with exams]. *Meditinskaya immunologiya – Medical Immunology*, 2012, vol. 14, no. 1-2, pp. 133-138.
6. Anisman H. Stress, immunity, cytokines and depression. *Acta Neuropsychiatrica*, 2002, vol. 14, pp. 251-261.
7. 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, pp. 141-152.
8. Besedovsky H.O., Rey A.D. Physiology of psychoneuroimmunology: a personal view. *Brain. Behav. Immun.*, 2007, vol. 21, pp. 34-44.
9. 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, no. 3, pp. 171-179.
10. Dahlin M., Joneborg N., Runeson B. Stress and depression among medical students: a cross-sectional study. *Med. Educ.*, 2005, vol. 39, no. 6, pp. 594-604.
11. Habib K.E. Gold P.W., Chrousos G.P. Neuroendocrinology of stress. *Endocrinol. Metab.*, 2001, vol. 30, no. 3, pp. 695-728.
12. Isowa T., Ohira H., Murashima S. Immune, endocrine and cardiovascular responses to controllable and uncontrollable acute stress. *Biol. Psychol.*, 2006, vol. 71, pp. 202-213.
13. McEwen B.S. Physiology and Neurobiology of Stress and Adaptation: Central Role of the Brain. *Physiol. Rev.*, 2007, vol. 87, pp. 873-904.
14. Miyake S. Mind over cytokines: Crosstalk and regulation between the neuroendocrine and immune systems. *Clin. Exp. Neuroimmunol.*, 2012, vol. 3, pp. 1-15.