

НЕИНВАЗИВНЫЙ МОНИТОРИНГ ПОКАЗАТЕЛЕЙ МУКОЗАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА У МУЖЧИН ДО И ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ СТРЕССА ОПАСНОЙ РАБОТЫ

С.Н. Теплова, М.М. Пилипенко
ЧелГМА, г. Челябинск

В работе показана возможность динамического определения неинвазивными методами иммунных показателей слюны для оценки постстрессовых иммунных нарушений, связанных с выполнением опасной работы.

Ключевые слова: стресс, иммунные нарушения, мукозальный иммунитет, цитокин- и нитроксидазные изменения.

Во всем мире психопатологические последствия войн относят к наиболее серьезным научным и социальным проблемам, изучение которых проводится вот уже более 100 лет и описание которых проходит под разными названиями: «посттравматические стрессовые нарушения у ветеранов II мировой войны» «синдром персидского залива», «вьетнамский», «афганский», «посттравматический синдром», «посттравматические стрессовые расстройства (ПТСР)», нарушения адаптации [2, 4, 5].

Негативные постстрессовые симптомы являются результатом кумуляции травматических, экстремальных, угрожающих жизни человека стрессовых воздействий [9], которые приводят к серьезным стресс-индуцированным изменениям состояния нервной, эндокринной, иммунной системы, наименее исследованными из которых являются иммунные нарушения на уровне мукозального иммунитета.

Целью настоящего исследования явился динамический анализ состояния иммунного гомеостаза на уровне мукозального звена иммунной системы у военных специалистов 25–40 лет, периодически подвергающихся воздействию психо-эмоционального стресса опасной работы, в ближайшие сроки после выполнения специальных операций.

Материалы и методы. В исследование включено 100 военнослужащих мужского пола. Из них 20 военных составили контрольную группу, не принимавших участия в выполнении специальных боевых операций. Остальные 80 военных специалистов относились к лицам, командированных на срок до 3 месяцев для выполнения специальных операций. Возраст обследуемых колебался от 25 до 40 лет. Средний стаж опасной работы 5–7 лет. Среднее количество командировок для выполнения специальных операций – 4.

Обследование военнослужащих выполнялось до командировки, связанной с проведением боевых операций, а также через 3–5 дней, 1–1,5 и 6 месяцев после возвращения со специального задания.

Методической особенностью исследования является использование для оценки динамики изменения иммунной системы неинвазивных методов мо-

ниторинга. Материалом для исследования служила слюна, которую собирали без стимуляции слюноотделения, методом накопления слюны в ротовой полости и ее опорожнения каждые 60 секунд, через воронку в сосуд. В слюне определяли: количество белка и муцина биуретовым методом Коробейниковой; общую активность комплемента по 50 % гемолизу. Определение активности компонентов комплемента (C1–C5) классического пути активации в слюне проведено методом молекулярного титрования Красильникова и Тапака с реагентами производства Кировского НИИ гематологии. Уровень SIgA, иммуноглобулинов субклассов G1–G4, содержание в слюне цитокинов IL-1b, IL-6, TNF α определяли методами ИФА с тест-системами Вектор-Бест (Новосибирск); оценку конечных стабильных метаболитов оксида азота в слюне проводили модифицированным методом Griess [1].

Результаты исследования обработаны с применением пакета прикладных программ Statistica, vers. 6. В таблицах представлены результаты статистической обработки в виде медианы и верхнего и нижнего квартилей. Для сравнения данных применяли непараметрические критерии Манна-Уитни и Колмогорова–Смирнова. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$ [3] и статистически вероятными при $p < 0,1$ [6].

Результаты и обсуждения. Настоящее исследование проводилось в динамике. Обследуемый контингент лиц, включенных в исследование, в зависимости от времени обследования был разделен на 5 групп:

- 1 группа – военные специалисты до выполнения ими специальных операций;
- 2 группа – военные специалисты через 3–5 дней после выполнения ими специальных операций;
- 3 группа – военные специалисты через 1,5–2 месяца после выполнения ими специальных операций;
- 4 группа – военные специалисты через 6 месяцев после выполнения ими специальных операций;
- 5 группа (контрольная) – военные специалисты, не подвергающиеся ежедневному воздействию стрессов опасной работы.

Результаты определения иммунологических показателей слюны представлены в табл. 1–3.

Из табл. 1 следует, что содержание общего белка в слюне у мужчин после участия в специальных операциях имеет тенденцию к снижению, которая становится достоверной в сопоставлении с периодом до выполнения специальных заданий через 6 месяцев.

Уровень субкласса IgG3 в слюне у мужчин, подвергавшихся воздействию стресса опасной работы, в сопоставлении с контрольной группой мужчин того же возраста, не участвовавших в специальных операциях, был достоверно выше в разные сроки после воздействия стресса (через 3–5, дней, через 1,5–2 месяца и 6 месяцев).

В динамике наблюдения у обследуемых мужчин установлена тенденция к повышению активности C2 компонента комплемента в слюне после воздействия стресса опасной работы в сопоставлении с периодом до ее выполнения, достигающая степени статистической достоверности на максимуме роста показателя, через 1,5–2 месяца после выполнения задания.

В целом выявленные изменения мукозального иммунитета после действия стресса опасной работы характеризуются тенденцией количественного снижения общего белка в слюне при нарастании IgG3 субкласса, обладающего антимикробными свойствами, а также при усилении активности C2 компонента комплемента, обладающего протеоли-

Таблица 1

Показатели секреторного иммунитета слюны до и в разные сроки после стрессового воздействия

Показатели	1 группа n = 17			2 группа n = 19			3 группа n = 20			4 группа n = 13			5 группа n = 20			p
	Me	Q25	Q75	Me	Q25	Q75	Me	Q25	Q75	Me	Q25	Q75	Me	Q25	Q75	
Мужчин	79,0	46,0	96,7	62,5	43,6	108	52,4	42,8	108	54,0	46,0	65,5	55,5	44,8	93,2	
IgA, мкг/мл	85,4	44,3	202	160	91,5	203	124	29,5	199	150	69,9	227	149	59,5	204	
G1	2,4	1,1	3,4	2,8	1,3	3,6	2,5	1,4	3,2	1,6	1,6	3,2	1,7	1,6	2,8	
G2	2,3	1,5	2,6	2,2	1,6	2,7	2,6	1,4	3,5	1,6	1,5	2,5	1,7	1,3	2,3	
G3	1,3	0,7	1,6	1,6	1,2	2,3	1,5	0,9	2,5	1,5	1,3	2,6	0,6	0,4	1,6	0,013 _{2-5}} 0,04 _{3-5}} 0,04 _{4-5}}
G4	0,2	0,05	0,3	0,2	0,005	0,5	0,2	0,002	1,4	0,01	0,01	0,3	0,2	0,1	0,4	
CH50	39,0	28,3	52,1	43,2	36,2	47,2	41,0	29,2	56,5	36,0	28,7	49,3	46,3	35,8	56,3	
C1	8,9	5,2	14,2	11,4	6,1	15,0	10,6	5,8	12,6	12,3	9,3	13,6	11,3	7,3	14,2	
C2	0,2	0,00	4,5	5,8	0,2	12,3	10,2	2,3	11,9	3,6	1,2	9,0	7,6	1,4	12,1	0,03 _{1-3}}
C3	6,7	3,4	16,3	12,3	2,5	18,3	10,7	2,6	13,8	1,6	0,3	6,0	9,6	0,9	14,0	
C4	9,6	2,8	13,3	10,6	1,8	12,7	10,4	8,6	12,1	10,0	0,3	12,5	10,9	6,1	13,7	
C5	13,1	4,7	21,5	12,5	3,1	14,6	11,9	6,9	13,7	11,6	3,5	15,0	10,3	0,5	14,9	

Таблица 2

Уровень конечных стабильных метаболитов NO в слюне до и в разные сроки после стрессового воздействия

Показатели	1 группа n = 17			2 группа n = 19			3 группа n = 20			4 группа n = 13			5 группа n = 20			p
	Me	Q25	Q75	Me	Q25	Q75	Me	Q25	Q75	Me	Q25	Q75	Me	Q25	Q75	
NO ₂	5,8	3,4	6,3	3,6	2,4	5,7	2,65	1,3	4,5	2,8	2,4	3,9	4,5	3,1	6,5	0,008 _{4-1}} 0,0015 _{4-5}} 0,009 _{3-1}} 0,014 _{3-5}}
NO _x	18,9	14,6	24,5	16,3	12,6	24,3	16,9	13,9	21,7	12,3	11,4	18,3	20,7	15,2	23,2	0,018 _{4-5}}
NO ₃	15,3	9,0	19,1	11,0	7,1	20,6	13,7	11,5	17,1	11,9	8,2	15,9	15,5	11,7	18,5	

Таблица 3

Уровень цитокинов в слюне до и в разные сроки после стрессового воздействия

Показатели	1 группа n = 17			2 группа n = 19			3 группа n = 20			4 группа n = 13			5 группа n = 20			p
	Me	Q25	Q75	Me	Q25	Q75	Me	Q25	Q75	Me	Q25	Q75	Me	Q25	Q75	
IL-1β	5,3	4,3	12,3	10,3	4,6	14,3	12,3	9,6	21,3	12,3	5,6	14,2	5,8	2,9	12,3	0,02 _{1-3}} 0,006 _{2-5}}
IL-6	12,4	6,0	14,6	12,9	10,6	17,9	12,3	8,8	15,6	13,2	10,4	15,6	11,8	9,8	13,8	
TNF-α	3,9	1,7	4,8	17,4	12,1	24,6	10,0	6,7	12,8	4,1	2,8	5,2	0,00	0,00	1,9	< 0,01 _{2-1}} < 0,01 _{2-5}} < 0,01 _{3-1}} < 0,01 _{3-5}} < 0,01 _{4-5}}

тическим действием и участвующим в элиминации чужеродных антигенов. Полученные данные представляют интерес в свете имеющихся представлений о классической стрессовой триаде (по Селье), включающей постстрессовый рост уровня гормонов оси гипофиз–надпочечники, инволюцию тимико-лимфатического аппарата и изъязвление слизистой желудочно-кишечного тракта. Рост цитолитической активности компонента комплемента C2 на уровне слизистых оболочек желудочно-кишечного тракта может быть одним из возможных механизмов повреждения целостности эпителиального барьера на фоне тенденции снижения общего содержания белка в секрете.

Характер изменения цитокин- и нитроксидергической регуляции на уровне мукозального иммунитета отражает табл. 2.

Из таблицы следует, что после перенесенного стресса у обследуемых выявляется явная тенденция к снижению содержания терминальных стабильных метаболитов оксида азота в слюне. Достоверное снижение выявлено для NO₂ через 1,5–2 месяца и 6 месяцев после выполнения специальных операций, как в сопоставлении с периодом до участия в специальных операциях, так и в сравнении с контрольной группой. Через 6 месяцев после действия стресса в слюне достоверно снижен также суммарный уровень метаболитов оксида азота (NO_x) по отношению к контрольной группе.

Параллельно снижению уровня NO в слюне у обследуемых лиц происходит постстрессовое нарастание уровня IL-1β и TNF-α, при этом не меняется содержание IL-6. Количество IL-1β в слюне имеет тенденцию к увеличению во все сроки после участия военнослужащих в специальных операциях. Однако этот рост достигает степени статистической достоверности только через 1,5–2 месяца, как в сравнении с периодом до воздействия стресса опасной работы (1 группа), так и в сопоставлении с группой контроля, не участвовавшей в спецоперациях.

Количество TNF-α в слюне у военнослужащих, не участвовавших в выполнении спецопераций (5 группа) было очень низким, практически равным 0. В сопоставлении с этой группой уровни TNF-α в слюне у военнослужащих во все сроки после воздействия стресса опасной работы были достоверно выше. Сопоставление уровня TNF-α в слюне у военнослужащих, участвовавших в выполнении специальных операции, с исходным периодом выявляет максимум этого цитокина в слюне в ближайшие 3–5 дней и через 1,5–2 месяца после выполнения задания, оба показателя оказались достоверно выше, чем исходные значения. Нормализация уровня цитокина до значений исходного уровня происходит через 6 месяцев.

Таким образом, анализ динамики изменения показателей мукозального иммунитета у мужчин, чья работа связана с воздействием стрессов, угрожающих жизни человека, показывает, что стрессиндуцированные изменения на мукозальном уров-

не характеризуются в ближайшие (до полугода) сроки после воздействия стресса ростом уровня антимикробного субкласса IgG3, активности одного из начальных компонентов комплемента, нарушением цитокин- и нитроксидергической регуляции. Каких-либо лабораторных маркеров снижения изучаемых иммунных функций в постстрессовом периоде выявлено не было. Нарушения дисрегуляторного характера проявлялись разнонаправленным изменением уровней NO и количества цитокинов в слюне: снижением конечных стабильных метаболитов NO в постстрессовом периоде и ростом количества IL-1β, TNF-α при сохранении стабильного уровня IL-6.

Характер дисрегуляторных цитокин- и нитроксидергических изменений в слюне соответствует данным литературы о вариациях этих показателей на системном уровне, определяемых в крови обследуемых [7, 8, 10]. Проведенные исследования показывают, что для мониторинга постстрессовых иммунных нарушений можно использовать неинвазивные методы.

Литература

1. Красильников, А.П. Методы изучения бактерицидных свойств сыворотки крови и фагоцитов: метод. реком. / А.П. Красильников, Л.П. Титов, Л.Г. Борткевич. – Минск, 1984. – 24 с.
2. Медведев, В.И. Устойчивость физиологических и психологических функций человека при действии экстремальных факторов / В.И. Медведев. – Л.: Наука, 1982. – 102 с.
3. Реброва, О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica / О.Ю. Реброва. – М.: Медиа Сфера, 2002. – 312 с.
4. Селье, Г. На уровне целого организма: пер. с англ. / Г. Селье. – М.: Наука, 1972. – 121 с.
5. Сидоров, П.И. Психическое здоровье ветеранов афганской войны / П.И. Сидоров, С.В. Литвинцев, М.Ф. Лукманов. – Архангельск: Издательский центр Архангельской государственной медицинской академии, 1999. – 380 с.
6. Проблемы нормы в токсикологии / И.М. Трахтенберг, Р.Е. Сова, В.О. Шефтель, В.Ф. Оникуенко. – М.: Медицина, 1991. – 208 с.
7. McEwen, B. Stress: hormonal and neural aspects // *Encyclopedia of the human brain* / B. McEwen, S. Lupien. – Ed.-in-chief V.S. Ramachandran. Academic Press. – 2002. – Vol. 4. – P. 463–474.
8. Newport, D.J. Stress // *Encyclopedia of the human brain* / D.J. Newport, C.B. Nemeroff. – Ed.-in-chief V.S. Ramachandran. Academic Press. – 2002. – Vol. 4. – P. 449–463.
9. Stampfer, H.G. Stress-induced modulation of antiviral immunity / H.G. Stampfer // *Brain Behav Immun.* – 1990. – Vol. 12. – P. 1–6.
10. Zigmond, A.S. The Hospital Anxiety and Depression scale / A.S. Zigmond, R.P. Snaith // *Acta Psychiatr.* – Scand. 1983. – Vol. 67 – P. 361–370.