

УДК 797+615.32

УРОВЕНЬ ПРО- И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ У СПОРТСМЕНОВ ВОДНЫХ ВИДОВ СПОРТА В ПЕРИОД ИНТЕНСИВНЫХ ФИЗИЧЕСКИХ НАГРУЗОК

Мельников В.И.*ФГОУ ВПО «Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет»,
Владивосток, e-mail: dalrybvtuz@dalrybvtuz.ru*

В работе дана сравнительная оценка уровня провоспалительных (ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-2) и противовоспалительных цитокинов (ИЛ-4, ИЛ-10) в крови спортсменов-гребцов в период интенсивных физических нагрузок. Комплексная оценка цитокинового профиля крови спортсменов-гребцов позволила выявить нарушения процессов иммуногенеза в предсоревновательный период и после участия в международных соревнованиях. Экспериментально установлено, что интенсивные нагрузки характеризуются активацией Th-1 иммунного ответа и могут привести к нарушению продукции иммуноглобулинов и гуморального иммунитета. Возникает необходимость разработки программы для иммунореабилитации после перенесенных максимальных и субмаксимальных физических нагрузок.

Ключевые слова: физическая нагрузка, переутомление, иммунитет, цитокины, стресс-реакция

THE LEVEL OF PRO-INFLAMMATORY AND ANTI-INFLAMMATORY CYTOKINES OF HIGHLY EXPERIENCED ROWERS IN THE PERIOD OF STRENUOUS EXERCISES

Melnikov V.I.*FSEI HPE Far Eastern State Technical Fisheries University, Vladivostok,
e-mail: dalrybvtuz@dalrybvtuz.ru*

This article gives a comparative evaluation of the level of pro-inflammatory (IL-1 β , IL-6, IL-2) and anti-inflammatory cytokines (IL-4, IL-10) in the blood of rowers-athletes in the period of strenuous exercises. Integrated evaluation of cytokine picture of rowers-athletes' blood made it possible to detect disorders of immunogenesis during the pre-competition period as well as after participation in international sporting competitions. Experiments proved that strenuous exercises are defined by the activation of Th-1 immune response and can cause disorders of immunoglobulin production and humoral immunity. So there is a need to launch a program for immune rehabilitation after the maximal and submaximal physical exercises.

Keywords: physical exercise, over-strain, immunity, cytokines, stress reaction

Современный спорт высших достижений делает спортсменов группой риска по развитию заболеваний различных органов и систем.

А.В. Зурочка с соавт. (2005) изучали состояние иммунной системы борцов, пловцов и лыжников в течение годичного цикла тренировок. Ими было установлено, что в период интенсификации физической нагрузки в предсоревновательный период регистрируется более выраженное угнетение показателей как клеточного, так и гуморального иммунитета [2].

У спортсменов высокого класса в период усиленной тренировки и ответственных соревнований снижается уровень иммуноглобулинов в крови, вплоть до полного исчезновения некоторых классов – IgG, падает также уровень IgM [3], отмечается высокая заболеваемость аллергическими болезнями с преобладанием повышенной чувствительности к бытовым и пылевым аллергенам [8]. У спортсменов в период интенсивных тренировок снижается число полиморфноядерных лейкоцитов и их способность к фагоцитозу, которая обычно стимулируется при умеренных тренировках. При интенсивных тренировках снижается синтез ИЛ-2 и

интерферона- α (ИНФа), что продемонстрировано при вирусной стимуляции лимфоцитов *in vitro* [4]. Снижается способность к первичному и вторичному иммунному ответу, угнетается индуцированный вирусом синтез ИНФ, уменьшается содержание комплемента. Уменьшение способности к иммунному ответу у спортсменов в период высокого психоэмоционального напряжения продемонстрировано при их вакцинации, тогда как при умеренных тренировках вакцинный эффект может повышаться [9].

Эти изменения во многом обусловлены стресс-реакцией и переутомлением. Основой являются повышенная выработка адренокортикотропного гормона (АКТГ) и индуцированная ею гиперпродукция стероидных гормонов стресс-реакции. К основным мишеням этих гормонов относятся лимфоциты, что и определяет реакцию иммунной системы на их действие и изменение устойчивости организма к инфекциям при ее развитии. Следует отметить также значимую роль цитокинов, активация продукции которых при стресс-реакции не только приводит к повышенной секреции глюкокортикостероидов, но и оказыва-

ет существенное угнетающее действие на функции клеток системы иммунитета через модуляцию внутриклеточных сигнальных путей, индуцируемую взаимодействием лиганд-рецептор [6].

Экспериментально показано, что АКТГ и кортизон активируют латентные инфекции и обуславливают гибель животных от обычно не патогенной для них флоры слизистых оболочек респираторного тракта и кишечника. Течение инфекций характеризуется большей диссеминацией микробов по организму, усиленным их размножением и уменьшением воспаления [7].

Физическое утомление вызывает у животных генерализацию инфекции и смерть [4], повышается чувствительность к вирусам *Herpes simplex*, снижается первичный и вторичный иммунный ответ на бактериальные антигены. Время персистенции вируса Коксаки В в тканях внутренних органов и скелетной мускулатуре увеличивалось в десятки раз у перенесших стресс животных, значительно снижается активность естественных клеток-киллеров [7].

Стресс умеренной интенсивности вызывает преимущественно перераспределение лимфоцитов, в крови регистрируется лимфопения. В то же время усиливается антиген-неспецифическая составляющая иммунной защиты с целью недопустимости проникновения патогенных микроорганизмов. Отражением этого процесса служит мобилизация гранулоцитарного резерва, резкое увеличение числа нейтрофильных гранулоцитов в крови. Но уже при умеренном стрессе у мышей наблюдали нарушение морфологии селезенки, Th1/Th2-циткиновой сети, функций естественных киллеров (NK) [10].

Иная ситуация возникает при длительных и интенсивных стрессорных воздействиях. Повышение концентрации глюкокортикоидов позволяет им проникать в клетки за счет пассивной диффузии и связываться с рецептором для глюкокортикоидов, который находится в цитоплазме. Активированный благодаря присоединению кортикостероида комплекс гормон-рецептор проникает в ядро, связывается с определенными участками ДНК и осуществляет регуляцию транскрипции генов. В результате тормозится синтез интерлейкинов-1, -2, -3, -4, -5, -6, -8, -11, -12, -13, ИФН γ , ФНО α .

В условиях интенсивного стресса концентрация кортикостероидов существенно возрастает и вызывает апоптоз, развивающийся в пределах 10–12 часов после действия индукторных факторов, что служит важной причиной снижения функциональной активности клеток иммунной системы [6].

Совершенно очевидно, что под влиянием стресса, приводящего к перераспределению лимфоидных клеток, к изменению гормонального и цитокинового статусов организма и, в результате, к нарушению клеточных функций, происходят сдвиги молекулярных событий в клетках, определяющих нарушение процессов нормального функционирования различных клеточных систем организма. При этом отмечается, что у спортсменов, представляющих разные виды спорта, существенно различаются реакции иммунной системы [8]. Исследования, выполненные на пожилых людях, ведущих сидячий образ жизни, которым давали аэробную умеренную тренировочную физическую нагрузку 3 раза в неделю на протяжении 6 месяцев, не выявили существенных изменений в периферической крови общего количества лейкоцитов, нейтрофилов, лимфоцитов, моноцитов, эозинофилов, базофилов. Более того, неизменным оставалось содержание CD3⁺, CD4⁺ и CD8⁺-клеток. Однако зарегистрирована тенденция к увеличению доли CD4⁺ и CD8⁺-наивных клеток (CD45RO⁻) и снижению доли CD4⁺ клеток памяти (CD45RO⁺). Небольшая физическая нагрузка повышала пролиферативный ответ Т-лимфоцитов на митогены (Con A). Нестимулированный цитотоксический эффект NK-клетками K562 клеток также возрастал. Таким образом, мышечная нагрузка способна оказывать влияние на состояние иммунной системы [7].

Профессионализация спорта с вовлечением большого количества молодых людей и разрозненность мнений о влиянии физических нагрузок на функцию различных органов и систем диктуют необходимость дальнейших исследований в этом направлении.

Целью исследования явилась сравнительная оценка уровня провоспалительных (ИЛ-1 β , ИФН γ , ИЛ-2) и противовоспалительных цитокинов (ИЛ-4, ИЛ-10) в крови спортсменов-гребцов в предсоревновательный период и после международных соревнований.

Материалы и методы исследования

Обследован 51 человек в возрасте от 18 до 24 лет ($20,1 \pm 1,4$ года). Исследования проводились среди высококвалифицированных спортсменов (36 спортсменов-гребцов мастеров спорта, кандидатов в мастера спорта, 1 разряда) в предсоревновательный период и после соревнований. Контролем служила группа практически здоровых студентов (15 человек), сопоставимых по возрасту, активно не занимающихся спортом. Спортсмены обследованы в период интенсивных нагрузок тренировочного микроцикла и после международных соревнований. Все участники подписали информированное согласие. Забор крови проводился утром, натощак в условиях асептики про-

цедурной медицинской сестрой. Исследования образцов крови проводили в лаборатории ООО «Авиценна плюс» (ген. директор Пополитов А.П.).

Определение уровня цитокинов в сыворотке крови проводили методом твердофазного ИФА. Учет результатов производили с помощью иммуноферентного анализатора «Multiscan» (Финляндия). Расчет количества цитокинов осуществляли путем построения калибровочной кривой с помощью компьютерной программы. Количество выражали в пг/мл.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета прикладных программ «Statistica v.9» методами параметрической или непараметрической статистики с подсчетом средней арифметической, среднего квадратического отклонения, или медианы. Различия между связанными и несвязанными группами оценивали методами Вилкоксона, Стьюдента или Манна-Уитни. Корреляционный

анализ проводили с помощью коэффициентов Пирсона или Спирмена. Объем выполненных исследований позволил оценить результаты с достоверностью 95-99% при использовании соответствующих статистических методов.

Результаты исследования и их обсуждение

В результате проведенных исследований установлено, что содержание цитокинов в сыворотке крови людей контрольной группы было низким и определялось в 60% случаев (таблица). Это согласуется с мнением большинства исследователей об индуцибельном характере продукции большинства цитокинов [4].

Содержание цитокинов в сыворотке крови обследованных людей

№ п/п	Показатели	Контрольная группа	Период интенсивных тренировок	После соревнования	<i>p</i>
1	ИЛ-1β пг/мл	1,69 ± 0,15	7,30 ± 2,43	171,30 ± 40,36***	< 0,01
2	ИФНγ пг/мл	0,1 ± 0,06	5,46 ± 2,56*	2,46 ± 1,84	> 0,05
3	ИЛ-4 пг/мл	0,02 ± 0,01	0,44 ± 0,25	0,04 ± 0,01	> 0,05
4	ИЛ-10 пг/мл	0,16 ± 0,1	3,62 ± 2,1	1,0 ± 0,5	> 0,05
5	коэф. ИФНγ/ИЛ-4	5,0 ± 0,3	12,4 ± 1,2*	61,5 ± 8,0***	< 0,001
6	коэф. ИЛ-1β/ИЛ-10	10,5 ± 0,2	2,0 ± 0,3**	170,0 ± 20,0***	< 0,001

Примечание: статистическая достоверность различий с контрольной группой: $p < 0,05$ – *, $p < 0,01$ – **, $p < 0,001$ – ***.

В период интенсивных физических нагрузок выявлено существенное увеличение уровня ИФНγ в сыворотке крови ($5,46 \pm 2,56$ пг/мл против $0,1 \pm 0,06$ пг/мл; $p < 0,05$), при этом количество ИЛ-1β, ИЛ-4 и ИЛ-10 в крови имело лишь тенденцию к повышению, однако различия не достигали статистически значимых величин (см. таблицу). Комплексная оценка полученных результатов, с расчетом коэффициентов ИЛ-1β/ИЛ-10 и ИФНγ/ИЛ-4, отражающих провоспалительный потенциал и соотношение двух основных субпопуляций Т-хелперов (Th 1/Th 2) соответственно, позволили установить, что в предсоревновательный период усиливается функциональная активность Т-хелперов I типа, опосредующих активацию клеточного иммунитета, в том числе макрофагов. При этом зафиксирована относительная недостаточность активности Th 2 типа, обеспечивающих усиление продукции иммуноглобулинов В-лимфоцитами. Возможно, этим объясняется установленный рядом исследователей [3] дефицит иммуноглобулинов IgG и IgM у спортсменов в период усиленных тренировок. Тогда как провоспалительный коэффициент (ИЛ-1β/ИЛ-10), напротив, снижался

($2,0 \pm 0,3$ против $10,5 \pm 0,2$; $p < 0,01$), что можно расценивать как компенсаторную реакцию с активацией популяции естественных супрессорных или регуляторных клеток (T reg), которые обеспечивают контроль воспалительных реакций, ингибируя процессы гиперактивации клеток.

После международных соревнований определены более выраженные сдвиги уровня цитокинов в крови (см. таблицу). Определена гиперпродукция ИЛ-1β ($171,30 \pm 40,36$ пг/мл, $p < 0,001$). Очевидно, это связано с психоэмоциональным стрессом. Имеются данные о том, что норадреналин действует на макрофаги и изменяет продукцию ими ИЛ-1 [1]. ИЛ-1 способен проникать через капилляры в гипоталамус. При этом цитокин действует на астроциты, которые непосредственно прилегают к капиллярам, астроциты начинают продуцировать простагландин E2, индуцирующий кортикотропин-либерин [1]. Дальнейшие события укладываются в классическую схему активации гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы с итоговым выбросом гормонов надпочечников (катехоламинов и глюкокортико-стероидов) в кровь. Более того, катехоламины способны оказывать регулирующее вли-

яние на функции Т-лимфоцитов, так как β_2 -адренорецепторы экспрессированы на поверхности Т-хелперов I типа. Этим можно объяснить и полученное нами существенное увеличение коэффициента ИФН γ /ИЛ-4 ($170,0 \pm 20,0$ против $2,0 \pm 0,3$; $p < 0,001$). Относительный дефицит ИЛ-4 приводит к усугублению нарушений гуморального иммунитета, определенного нами и в предсоревновательный период. Следует учитывать, что действие катехоламинов дозозависимо. В эксперименте [5] показали, что чрезмерно высокие дозы адреналина приводят к дегенеративным изменениям в больших гранулярных лимфоцитах и индуцируют апоптоз иммунокомпетентных клеток, ингибируя ИФН γ [20], с чем, вероятно, связан более низкий уровень ИФН γ после соревнований по сравнению с предсоревновательным периодом ($2,46 \pm 1,84$ пг/мл против $5,46 \pm 2,56$ пг/мл). Снижение продукции ИФН γ может быть также обусловлено действием кортикостероидов. Было показано, что они подавляют выработку ИЛ-12 моноцитами, стимулированными липополисахаридом, усиливая при этом выработку моноцитами ИЛ-10, что в целом приводит к уменьшению продукции ИФН γ [1].

Таким образом, комплексная оценка цитокинового профиля крови спортсменов высоких достижений, занимающихся водными видами спорта, позволила выявить нарушения процессов иммуногенеза в период интенсивных тренировок в предсоревновательный период и особенно после международных соревнований.

Установлено, что интенсивные физические нагрузки характеризуются активацией Th I типа иммунного ответа, что может приводить к нарушению продукции иммуноглобулинов и гуморального иммунитета.

После международных соревнований выявлена гиперпродукция ИЛ-1 β с усугублением нарушений иммунорегуляции. Гиперактивация провоспалительных клеточных реакций является важным патогенетическим фактором развития иммунопатологических состояний у спортсменов,

что следует учитывать при разработке программ их иммунореабилитации.

Список литературы

1. Высшая нервная деятельность и иммунитет / В.В. Абрамов, Т.Я. Абрамова, Д.Н. Егоров, К.В. Вардосанидзе. – Новосибирск: СО РАМН, 2001. – 123 с.
2. Зурочка А.В., Журило О.В., Сашенков С.Л. Динамика изменения состояния иммунной системы спортсменов различных специализаций в течение годичного цикла тренировочного процесса // Мед. иммунология. – 2005. – Т. 2, 3, № 7. – С. 223.
3. Длительное изучение сывороточных иммуноглобулинов у профессиональных лыжниц в тренировочном периоде / Б.Б. Першин, А.Б. Гелиев, Г.Г. Чуракова и др. // Иммунология. – 2003. – Т. 24, №5. – С. 298–304.
4. Суркина И.Д., Орлова З.С., Орлова Г.С. Изменения иммунитета при стрессе // Физиология человека. – 1989. – №12. – С. 480–484.
5. Танаева Н.И., Балмасова И.П. Адренергическая регуляция in vitro ультраструктуры больших гранулярных лимфоцитов (БГЛ) // Современные проблемы аллергологии, клинической иммунологии и иммунофармакологии // 1 нац. конф. ассоц. аллергологов и клинических иммунологов. – М., 1997. – С. 330.
6. Хаитов Р.М. Физиология иммунной системы. – М.: ВИНТИ РАН, 2005. – 428 с.
7. Иммунофизиология / В.А. Черешнев, Б.Г. Юшков, В.Г. Климин, Е.Г. Лебедева. – Екатеринбург: УрО РАН, 2002. – 260 с.
8. Шаратанова Н.В. Особенности клинко-иммунологических и аллергологических показателей в норме и при аллергопатологии у спортсменов высших достижений: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М., 2004. – 22 с.
9. Escola J., Remekanen O., Soppi E. Effect of short stress on lymphocyte transformation and antibody formation // Clin. Exp. Immunol. – 1978. – Vol. 32. – P. 339–345.
10. Effects of D2-dopamine and α -adrenoceptor antagonist in stress induced changes on immune responsiveness of mice / A. Figerova, M. Sraes, M. Kuldova et al. // J. Neuroimmunology. – 2002. – №1-2. – P. 55–65.

Рецензенты:

Сомова Л.М., д.м.н., профессор, директор НИИ эпидемиологии и микробиологии Сибирского отделения ПАН, г. Владивосток;
Маркелова Е.В., д.м.н., профессор, зав. кафедрой патологической физиологии ГОУ ВПО Владивостокского государственного медицинского университета Минздрава России, г. Владивосток.

Работа поступила в редакцию 12.07.2011.