

**О.Л. Борисова, А.Д. Викулов**

### **Состояние гуморального иммунитета, активация сосудистого эндотелия и агрегация тромбоцитов у спортсменов**

В настоящее время известно, что физические нагрузки могут оказывать реактивное влияние на состояние гуморального иммунитета. Однако его воздействие на эндотелий сосудов у спортсменов недостаточно изучено. В работе представлены результаты исследования концентрации маркеров активации сосудистого эндотелия растворимых клеточных молекул адгезии (sVCAM-1), а также антигена фактора фон Виллебранда (ФВ:Аг) у 89 лиц мужского пола, разделенных на две группы: спортсмены (n= 44) – основная группа; контрольная группа (n=45). В этих группах было исследовано влияние иммунологических показателей на функциональное состояние эндотелия сосудов и агрегацию тромбоцитов.

**Ключевые слова:** гуморальный иммунитет, тренированность, активация, сосудистый эндотелий, спонтанная агрегация тромбоцитов.

**O.L. Borisova, A.D. Vikulov**

### **The State of Humoral Immunity, Activation of Vascular Endothelium and Platelet Aggregation of Sportsmen**

It is known, that an exercise can have a reactive effect on the state of humoral immunity. But its effect on the endothelium of blood vessels of sportsmen has not been sufficiently studied. The paper presents the results of the study concentrations of markers of activation of soluble endothelial cell adhesion molecule(sVCAM-1), as well as von Willebrand factor antigen (FB:AG) on 89 males, which were divided into two groups: sportsman's (n=44) – main group; control group (n=45). In these groups we have studied the influence of immunological parameters on the functional state of vascular endothelial and platelet aggregation

**Key words:** humoral immunity, the level of physical condition, various physical activities, activation vascular endothelium, spontaneous platelet aggregation.

#### **Введение**

Имеются сведения о том, что при интенсивной мышечной тренировке происходит супрессия иммунитета, которая может повышать восприимчивость к вирусным и другим инфекциям, ухудшающим спортивные результаты. В связи с этим необходимо заметить, что малоизученным остается вопрос о состоянии иммунитета у спортсменов в зависимости от уровня их тренированности.

В настоящее время известно, что физические нагрузки могут оказывать реактивное влияние на сосудистую стенку. В частности, в последние годы существенно изменились представления о роли эндотелия сосудов в общем гомеостазе. Оказалось, что эндотелий синтезирует большое количество биологических активных веществ, играющих весьма важную роль в норме и в патологии (гемодинамике, гемостазе, иммунных реакциях, транскапиллярном обмене и регенерации). Сочетание на эндотелии антикоагулянтов и вазодилататоров в физиологических условиях

является основой для адекватного кровотока, особенно в сосудах микроциркуляции [4]. Напротив, дисфункция эндотелия признана универсальным механизмом, через который реализуется действие всех факторов риска сердечно-сосудистых нарушений. Активация эндотелия ведет к фенотипическим изменениям, включающим синтез и экспрессию молекул адгезии, с помощью которых эндотелиальные клетки взаимодействуют с клетками крови [5]. Для активации и адгезии клеток крови – тромбоцитов и лейкоцитов – клетки эндотелия продуцируют молекулы-регуляторы семейства sVCAM-1 и антигена фактора фон Виллебранда. Поскольку молекулы адгезии включены в каскад иммунной реакции, то исследование их роли в качестве маркеров состояния регуляторного механизма активности сосудистого эндотелия в условиях систематических интенсивных мышечных нагрузок имеет несомненный научный и практический интерес.

На сегодняшний день известно, что маркерами, объективно отражающими функциональное

состояние эндотелия сосудов, являются растворимые сосудистые молекулы адгезии (sVCAM-1) и антиген фактора фон Виллебранда (ФВ:Аг) [7]. Для физиологии спорта важна информация о взаимосвязи между маркерами активации сосудистого эндотелия с иммунологическими показателями и показателями агрегации тромбоцитов.

Все вышесказанное и обусловило проведение настоящего исследования.

**Цель исследования** – изучить влияние показателей гуморального иммунитета на активацию сосудистого эндотелия и агрегацию тромбоцитов у спортсменов.

Для достижения этой цели были поставлены следующие задачи:

1. Определить концентрации сывороточных иммуноглобулинов классов А, М, G, циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК), С-реактивного белка, интерлейкина-6, антител к кардиолипину классов М, G, измерить степень агрегации тромбоцитов у спортсменов.

2. Определить концентрации в сыворотках крови спортсменов молекул адгезии сосудистого эндотелия 1-го типа (sVCAM-1) и антигена фактора фон Виллебранда.

3. Выяснить характер взаимосвязей маркеров активации сосудистого эндотелия с иммунологическими показателями и показателем агрегации тромбоцитов.

#### **Организация исследования и методы**

В основу работы положены данные обследования 89 лиц мужского пола: спортсмены (n= 44) – основная группа; контрольная группа (n=45).

В основную группу были включены 44 спортсмена в возрасте от 19 до 22 лет. Квалификация спортсменов – от первого разряда до мастера спорта России, согласно Единой всероссийской спортивной классификации (2006–2009 гг.). Из общей группы спортсменов выделены лица с наиболее высоким уровнем тренированности (PWC<sub>170</sub> 21,1±3,30 кг\*м/мин/кг) и спортсмены с меньшим уровнем тренированности (PWC<sub>170</sub> 17,5±2,39 кг\*м/мин/кг).

Обследование проводилось утром, натощак, в условиях физиологического покоя; у спортсменов – через 18 часов с момента последней тренировочной нагрузки, в соревновательный период –

конец января – начало февраля. Наблюдаемые спортсмены имели нормальное самочувствие.

Контрольную группу составили практически здоровые молодые люди в возрасте от 19 до 22 лет, в основном не занимающиеся систематическими физическими нагрузками, без вредных привычек.

В сравниваемых группах исследованы следующие показатели. Определение содержания циркулирующих иммунных комплексов в сыворотках проводилось турбидиметрическим методом. Определение концентрации сывороточных иммуноглобулинов трех основных классов: А (IgA), М (IgM), G (IgG) – а также концентрации интерлейкина-6, СРБ, проводилось твердофазным методом иммуноанализа с использованием наборов «Вектор-Бэст» (Новосибирск, Россия). Определение антител к кардиолипину осуществляли твердофазным иммуноферментным методом. Исследование агрегации тромбоцитов проводилось с использованием современного лазерного агрегометра типа «Биола» (Россия).

Общую физическую работоспособность (тренированность) определяли по тесту PWC<sub>170</sub> на велоэргометре «Ритм-5» (Россия) [1]. У спортсменов PWC<sub>170</sub> оказались следующие показатели: 17,9±0,6 кгм/мин/кг, в контрольной группе PWC<sub>170</sub> 13,3±0,4 кгм/мин/кг (p<0,01). Определение концентрации антигена фактора фон Виллебранда (ФВ:Аг) и sVCAM-1 проводилось твердофазным иммуноферментным методом с использованием тест-системы фирмы "Bender MedSystems" (Австрия). Статистическая обработка полученных результатов исследования выполнена на персональном компьютере в программе «Статистика 6.1» (серия 1203d; лицензия 4RMJTQJ68 @StatSoft©Russia).

#### **Результаты исследования и их обсуждение**

Для более полного представления о путях развития изменений в сосудах у спортсменов и для выявления взаимосвязей с другими показателями иммунитета нами исследованы циркулирующие иммунные комплексы, которые через рецепторы на мембранах иммунокомпетентных клеток регулируют систему гуморального иммунитета.

Результаты изучения ЦИК в обследуемых группах представлены в табл. 1.

Таблица 1

*Показатели циркулирующих иммунных комплексов в плазме крови обследованных лиц  $M \pm \sigma$*

Показатели	Спортсмены n=32	Контроль n=45	p
ЦИК, у. е.	67,50±11,60	50,09±18,57	p<0,01

При исследовании их содержания в крови нами отмечено достоверное увеличение концентрации ( $p < 0,01$ ) данного показателя у спортсменов, по сравнению с группой контроля. Считается, что повышение этого показателя характерно для хронических вирусных инфекций, аутоиммунных и иммунокомплексных заболеваний, изменения данного компонента иммунной системы связывают также с функциональными дефектами фагоцитарной системы [2, 3].

Одним из иммунологических показателей, принимающих непосредственное участие в нарушении свертывания крови и повреждения сосудистой стенки, являются антитела к кардиоли-

пину. Нами выявлен в сыворотке крови спортсменов более высокий титр антител к кардиолипину М (20,94±6,71 MPL против 9,62±4,33 MPL в контроле;  $p < 0,01$ ). Аналогичной была картина в отношении антител к кардиолипину G (24,28±9,13 GPL против 15,75±7,70 в контроле;  $p < 0,01$ ). Такие значимые концентрации антител могут появляться и на фоне широкого спектра инфекционных заболеваний. В то же время антитела к кардиолипину являются одними из наиболее распространенных аутоантител, присутствующих у клинически здоровых лиц.

В табл. 2 представлены результаты всех изученных категорий иммуноглобулинов в сравниваемых группах лиц.

Таблица 2

*Содержание иммуноглобулинов в сыворотке крови обследованных лиц  $M \pm \sigma$*

Показатели	Спортсмены n=44	Контроль n=45
IgA, мг/мл	1,38±0,88**	3,10±0,93
IgM, мг/мл	2,21±1,18	2,80±0,94
IgG, мг/мл	13,34±6,51	11,80±4,30

(Примечание: \*\* –  $p < 0,01$  достоверность различий по сравнению с группой контроля)

В общей группе спортсменов по сравнению с контрольной группой обнаружены достоверные различия в показателях иммуноглобулинов класса А, однако разброс индивидуальных показателей был велик. Это побудило нас изучить кон-

центрацию исследуемых показателей в зависимости от тренированности спортсменов.

В табл. 3 представлены результаты иммунологических показателей в зависимости от уровня тренированности спортсменов

Таблица 3

*Содержание иммуноглобулинов в сыворотке крови в зависимости от уровня тренированности спортсменов  $M \pm \sigma$*

Показатель	Спортсмены ↑PWC <sub>170</sub> n=11	Спортсмены ↓PWC <sub>170</sub> n=11	Контроль n=45
IgM, г/л	2,01±1,80	3,21±0,63**	2,80±0,94
IgG, г/л	12,34±6,51**	14,32±5,29**	11,80±4,30
IgA, г/л	1,18±0,88**	1,82±0,55**	3,10±0,93

(Примечание: \*\* –  $p < 0,01$  достоверность различий в сравниваемых группах)

Изучение иммунологических показателей в зависимости от уровня тренированности спортсменов позволило выявить следующие результаты. У лиц с меньшим уровнем тренированности ↓PWC<sub>170</sub> нами обнаружено достоверное повышение

концентрации иммуноглобулинов класса М ( $p < 0,01$ ), что наблюдается при ряде инфекций.

Известно, что этот класс иммуноглобулинов обеспечивает первичный иммунный ответ. В группе спортсменов с наиболее высоким уровнем тренированности ↑PWC<sub>170</sub> отсутствовало

повышение концентрации иммуноглобулинов класса М.

Увеличение концентрации иммуноглобулинов класса G отмечено у спортсменов как с повышенным, так и с пониженным уровнем тренированности. По-видимому, синтез и его сывороточный уровень возрастают в ответ на хроническую или возвратную инфекцию. У спортсменов двух групп в отличие от контроля нами был выявлен дефицит иммуноглобулинов класса А. Известно, что снижение иммуноглобулинов класса А может приводить к возникновению повторных инфекций. Такая мобилизация иммунного ответа свидетельствует о восприимчивости спортсменов к инфекционным заболеваниям в постнагрузочный период, особенно спортсменов с меньшим уровнем тренированности.

Для выявления влияния исследованных показателей гуморального иммунитета на активацию сосудистого эндотелия нами изучены его маркеры.

Проведенное исследование показало, что в общей группе спортсменов концентрация sVCAM-1 составила  $1287 \pm 368$  нг/мл, при этом минимальное значение признака у спортсменов равнялось 807 нг/мл, а максимальное значение sVCAM-1 составляло в выборке 2300 нг/мл. Разброс индивидуальных значений был достаточно велик: коэффициент вариации в выборке составлял 28,6 %.

В контрольной группе концентрация sVCAM-1 составила  $1074 \pm 311$  нг/мл; коэффициент вариации этого показателя равнялся 28,9 % при минимальном значении – 566,5 нг/мл и максимальном значении – 2146,5 нг/мл. Верхняя граница нормы для этого лабораторного показателя, по данным фирмы – изготовителя наборов, определена как 1556 нг/мл. Следовательно, в общей группе спортсменов концентрация sVCAM-1 была больше, чем у лиц контрольной группы на 19,6 % ( $p < 0,01$ ). В обеих сравниваемых группах эмпирические распределения статистически значимо (соответственно  $p < 0,01$  и  $p < 0,02$ ) отличались от теоретических по критерию Шапиро-Уилки, поэтому для выявления достоверности различий между группами нами использованы непараметрические критерии.

Маркером активации эндотелиальных клеток является и фактор фон Виллебранда. В нашем исследовании концентрация антигена фактора фон Виллебранда в сыворотке крови в общей группе спортсменов статистически значимо не отличалась от лиц контрольной группы ( $p > 0,05$ ).

Для выявления влияния исследованных показателей гуморального иммунитета на маркеры

активации сосудистого эндотелия изучены корреляционные связи между ними.

В группе спортсменов (64 %) с высокой концентрацией (IgM) выявлена отрицательная взаимосвязь между (IgM) и концентрацией sVCAM-1 [ $r = -0,78$ ;  $p < 0,05$ ] и положительная взаимосвязь между (IgG) и sVCAM-1 [ $r = 0,92$ ;  $p < 0,05$ ]. Однако между sVCAM-1 и ЦИК корреляционная взаимосвязь практически отсутствовала [ $r = 0,16$ ;  $p > 0,05$ ], поэтому одной из причин повышенных значений sVCAM-1 может быть наличие инфекции. Судя по тому, что нами не обнаружено существенных различий от практически здоровых лиц по концентрациям в плазме острофазного белка «С» и интерлейкина-6, можно заключить, что острые воспалительные формы у спортсменов отсутствовали. Средний уровень СОЭ, являющийся признаком хронического воспалительного процесса, в данной группе спортсменов был достоверно выше ( $p < 0,01$ ). Учитывая это, можно утверждать, что причиной повышенных значений стало наличие не острой, а хронической инфекции.

По-видимому, одной из причин увеличения сывороточной концентрации sVCAM-1 являются физические и психические нагрузки, переутомление. Они приводят к напряжению гуморального иммунитета и могут способствовать активизации хронической инфекции, особенно у спортсменов с меньшим уровнем тренированности.

Фактор фон Виллебранда хорошо известен как потенциальный показатель агрегации тромбоцитов и их адгезии. Нами установлено, что в группе спортсменов ( $2,67 \pm 0,69$  %) по сравнению с контролем ( $3,21 \pm 0,44$  %) степень спонтанной агрегации тромбоцитов оказалась меньше на 16,7 % ( $p < 0,01$ ), что не противоречит результатам других исследователей [6].

По нашим данным, агрегация тромбоцитов у спортсменов оказалась не связана с концентрацией антигена фактора фон Виллебранда в крови [ $r = -0,201$ ;  $p > 0,05$ ]. У лиц контрольной группы эта взаимосвязь имела статистически значимый характер [ $r = -0,429$ ;  $p < 0,05$ ]. Между ЦИК и агрегацией тромбоцитов отмечалась положительная корреляционная взаимосвязь [ $r = 0,75$ ;  $p < 0,01$ ].

Между степенью агрегации тромбоцитов и sVCAM-1 у спортсменов коэффициент ранговой корреляции составлял [ $r = -0,400$ ;  $p < 0,05$ ]. В контрольной группе величина подобного коэффициента корреляции равнялась [ $r = -0,35$ ;  $p < 0,05$ ]. Надо полагать, что повышенный уровень sVCAM-1 сдерживает активацию тромбоцитов. На наш

взгляд, это подтверждает данные о том, что в физиологических условиях изнутри на сосудистой стенке преобладают антикоагулянты. Их обилие и высокая активность обусловлены наличием на поверхности эндотелия гликопротеинов, обладающих антиадгезивными свойствами. Между sVCAM-1 и ФВ:Аг у спортсменов коэффициент ранговой корреляции составлял  $[r=-0,30; p<0,05]$ . В контрольной же группе –  $[r=0,14; p<0,05]$ . Слабые связи между этими двумя ключевыми параметрами, по-видимому, свидетельствуют о том, что они задействованы в реализации разных физиологических механизмов сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза.

Проведенное исследование и выполненный анализ полученных результатов позволили сформулировать следующие выводы.

### Выводы

1. Мобилизация иммуноглобулинов основных классов вызывает повышение активности эндотелиоцитов и сосудистую адгезию. Увеличение в

пределах нормальных значений концентраций sVCAM-1 и антигена фактора фон Виллебранда у спортсменов не нарушает сосудисто-тромбоцитарный гемостаз, что подтверждается нормальными или незначительно пониженными значениями спонтанной агрегации тромбоцитов.

2. Концентрация маркеров активации сосудистого эндотелия у спортсменов в отличие от контрольной группы была достоверно выше, но находилась в пределах физиологической нормы.

3. Повышенный уровень sVCAM-1 у 63,6% спортсменов обусловлен наличием хронических инфекционных явлений, что подтверждается повышенным уровнем СОЭ, IgM, IgG, ЦИК, аКЛ и отсутствием роста СРБ, ИЛ-6.

4. Определение концентраций sVCAM-1 и FW-Аг у спортсменов имеет важное практическое значение, так как экспрессия этих молекул представляет собой ранний признак активации мембран эндотелиоцитов и может являться одним из критериев нефизиологичности нагрузки.

### Библиографический список

1. Белоцерковский, З.Б. Эргометрические и кардиологические критерии физической работоспособности у спортсменов [Текст] / З.Б. Белоцерковский. – М. : «Советский спорт», 2005. – С. 4–8.
2. Караулов, А.В. Клиническая иммунология [Текст] / А.В. Караулов. – М. : Медицина, 1999. – 600 с.
3. Колупаев, В.А. Сезонная динамика состояния систем транспорта кислорода и иммунитета у спортсменов с преимущественно анаэробным или аэробным энергообеспечением мышечной деятельности [Текст] : автореф. дис. ... д-ра биол. наук / В.А. Колупаев. – Челябинск, 2009. – 42 с.
4. Лупинская, Э.А. Эндотелий сосудов – основной регулятор местного кровотока [Текст] / Э.А. Лупинская // Вестник КРСУ. – 2003. – № 7. – С. 29.
5. Насонов, Е.Л. Маркеры воспаления и атеросклероз : значение С-реактивного белка [Текст] / Е.Л. Насонов // Кардиология. – 1999. – № 2. – С. 81–85.
6. Осетров, И.А. Реологические свойства крови и параметры сосудисто-тромбоцитарного гемостаза у физически активных лиц [Текст] : автореф. дис. ... канд. биол. наук / И.А. Осетров. – Ярославль, 1999. – 19 с.
7. Huo, Y. Adhesion molecules and atherogenesis [Text] / Y. Huo, K. Ley // Acta Physiol Scand, 2001. – 173: 1: 35–43.