

А. А. Никоноров, доктор медицинских наук, профессор кафедры биохимия Оренбургской государственной медицинской академии
e-mail: nikonorov_all@mail.ru

М. А. Никулина, кандидат медицинских наук, доцент кафедры инфекционные болезни Алтайского государственного медицинского университета
e-mail: ma.nikulina@mail.ru

РОЛЬ УРОВНЯ ТРЕВОЖНОСТИ В ФОРМИРОВАНИИ ПСИХОГЕННОГО СТРЕССА У БОЛЬНЫХ С ОСТРЫМИ ВИРУСНЫМИ ГЕПАТИТАМИ В И С И СТРЕСС-ИНДУЦИРОВАННОГО НАРУШЕНИЯ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ БИОМЕМБРАН

В эритроцитарных мембранах больных острыми вирусными гепатитами (ОВГ) В и С повышение уровня продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) находится в прямой зависимости от тяжести заболевания. Выявлена взаимосвязь уровня тревожности с развитием психогенного стресса, стресс-индуцированной активации ПОЛ и нарушения структурно-функционального состояния биомембран. Делается вывод о роли психоэмоционального состояния больных в реализации негативных мембранотропных проявлений ОВГ.

Ключевые слова: острый вирусный гепатит, тревожность, мембраны эритроцитов, перекисное окисление липидов.

В настоящее время вирусные гепатиты являются серьезной медицинской и социальной мировой проблемой. В РФ в последние годы наблюдается тенденция роста больных острыми и хроническими вирусными гепатитами В и С, преимущественное вовлечение в эпидемический процесс трудоспособной части населения [11]. В основе формирования патологического процесса в печени при острых вирусных гепатитах (ОВГ) лежит цитолитический синдром, проявляющийся повышением проницаемости мембран гепатоцитов и выходом в кровь внутриклеточных ферментов и метаболитов. В настоящее время подробно изучены молекулярные механизмы нарушения активности мембранно-зависимых процессов, в том числе окислительного фосфорилирования, трансмембранного транспорта, специфического протеосинтеза, биотрансформации ксенобиотиков в печени. Известно, что одним из ведущих механизмов нарушения структурно-функциональной организации биомембран является активация

свободно-радикального окисления (СРО) [2], а повышение уровня продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в крови больных ОВГ коррелирует с тяжестью патологического процесса [6]. При этом в ряде работ продемонстрировано, что накопление продуктов ПОЛ в сыворотке крови больных легкими и среднетяжелыми формами ОВГ отражает не столько интенсивность перекисных реакций в липидах, сколько изменение содержания самих липидов, уровень которых закономерно повышается при переходе от легких к среднетяжелым формам заболевания [5]. Степень окисленности липидов при этом, напротив, снижается, что обеспечивается, прежде всего, повышенным уровнем билирубина (БР), являющимся эффективным природным антиоксидантом [4]. Известно, что неконъюгированный БР транспортируется в кровеносном русле в альбуминсвязанном состоянии. Конъюгированный с глюкуроновой кислотой БР – гидрофилен и, соответственно, не может проявить свои антиоксидантные свойства в биомембранах. В связи с этим

представляется обоснованным оценивать интенсивность СРО при ОВГ непосредственно в мембранных структурах, в частности, в мембранах эритроцитов (МЭ), являющихся, с одной стороны, доступными для исследования, а с другой – универсальными маркерами состояния цитоплазматических мембран других клеток, в том числе и гепатоцитов.

Важно отметить, что в настоящее время показана возможность изменения личностных черт у больных ОВГ с формированием высокого уровня тревожности [10] и, как следствие, психогенного стресса. При этом одним из негативных проявлений самого стресса является активация СРО с пероксидазным повреждением биомембран клеток печени [9], развитие неспецифического реактивного гепатита [12]. В связи с этим представляло определенный интерес изучить взаимосвязь известных молекулярных механизмов нарушения структурно-функционального состояния биомембран с выраженностью стрессорного компонента в клинике больных ОВГ, что и составило цель настоящего исследования.

Материалы и методы

В группу исследования методом сплошной выборки включены 156 больных острыми вирусными гепатитами (ОВГ) (80 женщин, 76 мужчин), проходивших лечение на базе МУЗ «Городская больница № 5» г. Барнаула. Средний возраст больных – $25,70 \pm 0,63$ лет. Контрольную группу составили 50 здоровых лиц, рандомизированных по полу и возрасту. Все группы были сопоставимы по полу и сформированы по принципу случайной выборки. Критерии исключения из исследования: алкогольная или наркотическая зависимость; наличие эндогенных психических заболеваний и тяжелых органических поражений головного мозга; наличие сопутствующей соматической патологии в стадии декомпенсации; прием психотропных фармакологических препаратов; онкологическая патология.

Клиническая верификация ОВГ проводилась в соответствии с МКБ-10 с выделением следующих форм: острый вирусный гепатит В – В16.9 (73,1%); острый вирусный гепатит С – В17.1 (26,9%). Диагноз вирусного гепатита был установлен на основании клинико-эпидемиологических данных и подтвержден методами ИФА, иммуноблотинга и ПЦР: гепатит В – HBsAg, anti-HBsAg, HBeAg, anti-HBeAg, anti-HBc (IgM, IgG), HBV DNA; гепатит С – anti-HCV, HCV RNA (качественный, при необходимости количественный тест), генотип HCV. Всем

пациентам проводили лечение согласно стандартам медицинской помощи больным вирусными гепатитами.

Аффективные расстройства личности оценивали по шкалам реактивной и личностной тревожности Ханина-Спилбелгера [13].

Кровь для биохимических анализов брали из локтевой вены в утренние часы натощак с использованием в качестве антикоагулянта ЭДТА, а также без ЭДТА (для получения сыворотки крови). Осмотическую резистентность эритроцитов оценивали по степени гемолиза эритроцитов в гипоосмолярном растворе NaCl (0,45%) после часовой инкубации при $+4^{\circ}\text{C}$ и выражали в % гемолизированных эритроцитов. Перекисную резистентность эритроцитов оценивали по степени гемолиза эритроцитов в растворе 0,17% H_2O_2 после часовой инкубации при $+4^{\circ}\text{C}$ и выражали в % гемолизированных эритроцитов. Содержание продуктов ПОЛ в МЭ определялось спектрофотометрически на СФ PD – 303UV фирмы APЕL с отдельной регистрацией липопероксидов в гептановой и изопропанольной фазах липидного экстракта [3]. Исследование проводили в динамике (при поступлении и при выписке больного из стационара).

Выраженность психогенного стресса оценивали по уровню кортизола, определяемого в сыворотке крови методом ИФА с использованием наборов фирмы «Алкар-Био» на биохимическом анализаторе «Labsystems».

Статистический анализ результатов исследования выполнен с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0 (StatSoft Inc.). Применялись непараметрические методы: оценка значимости различий количественных переменных в двух связанных выборках по критерию Вилкоксона, оценка значимости различий количественных переменных в двух независимых выборках по U-критерию Манна–Уитни, сравнение нескольких групп с использованием рангового анализа вариаций по Краскелу–Уоллису, сравнение переменных, представленных в виде частот с использованием критерия МакНемара χ^2 (для связанных выборок) и двустороннего точного критерия Фишера (для независимых выборок).

Результаты и их обсуждение

По тяжести течения заболевания среди пациентов ОВГ при поступлении преобладали больные со средней степенью тяжести (74,3%). Больные с тяжелым (без признаков печеночной энцефалопатии) и легким течением составили 13,5% и 12,2% соответственно. При изучении активности СРО в МЭ больных ОВГ была выявлена зависи-

Таблица 1

Состояние процессов ПОЛ в эритроцитарных мембранах больных ОВГ различной степени тяжести (M±m)

Показатель ПОЛ	Контроль n=10	Степень тяжести ОВГ		
		Легкая – I гр. (n=10)	Средняя – II гр. (n=10)	Тяжелая – III гр. (n=10)
E_{232}/E_{220} в гептановой фазе	0,39±0,08	0,47±0,15	*0,56±0,11	*0,78±0,14^
E_{278}/E_{220} в гептановой фазе	0,27±0,06	0,35±0,08	*0,44±0,07	*0,65±0,11^
E_{232}/E_{220} в изопропаноловой фазе	0,64±0,08	0,78±0,12	*0,97±0,08	*1,29±0,23^
E_{278}/E_{220} в изопропаноловой фазе	0,51±0,05	0,63±0,13	*0,89±0,1	*1,2±0,19^

Примечание: * – достоверность отличия от группы контроля ($p < 0,01$);

^ – достоверность отличий между гр. I и гр. III ($p < 0,05$).

мость степени активации ПОЛ от тяжести заболевания (см. таблицу 1).

Известно, что в период срочной адаптации к изменяющимся условиям как внешней, так и внутренней среды активация СРО вначале носит приспособительный характер на уровне мембранного аппарата клетки. При этом происходит формирование перекисных кластеров, снижение вязкости фосфолипидного би-слоя мембран и, как следствие, повышение активности мембранно-зависимых процессов, в частности, и функции клетки в целом. В случае истощения структурных антиоксидантов и снижения активности ферментов антирадикальной защиты индукция СРО несет в себе уже повреждающий (цитолитический) момент [1, 8, 2]. В связи с этим для оценки роли СРО в реализации адаптивных или цитолитических процессов в клетке на острую вирусную инфекцию было определено структурно-функциональное состояние ЭМ.

Полученные данные позволили выявить в группах больных со средней и тяжелой степенью тяжести ОВГ существенное снижение как перекисной (на 26,7% и 39,8%), так и осмотической (на 31,4% и 45,6%) резистентности эритроцитов соответственно, по сравнению с группой контроля, что, безусловно, связано с истощением системы антирадикальной защиты клетки, нарушением липид / липидного и белок / липидного взаимодействия в мембранных структурах с соответствующим снижением активности мембранно-зависимых процессов (K⁺, Na⁺-АТФ-аз). При этом в группе больных с лег-

ким течением ОВГ достоверных различий перекисной и осмотической резистентности эритроцитов с группой контроля выявлено не было.

При изучении уровня тревожности у больных со средней степенью тяжести течения ОВГ, как преобладающей группы, было выявлено, что у 42,3% пациентов наблюдается высокий уровень личностной и у 62,2% – реактивной тревожности.

В соответствии с современными представлениями о стресс-реализуемых механизмах, при длительном психоэмоциональном напряжении наблюдается истощение стресс-лимитирующих систем с формированием повреждающих эффектов стресса на уровне мембранных структур клетки [8]. В связи с этим данная группа больных была разбита на две подгруппы – с высоким и, совокупно, средним и низким уровнем тревожности, у которых и был проведен сравнительный анализ показателей ПОЛ в МЭ.

Как видно из данных, представленных в таблице 2, у лиц с высоким уровнем тревожности наблюдается практически 2-кратное превышение содержания в изучаемых мембранах продуктов липопероксидации уровня контрольной группы и примерно в 1,5 раза уровня – у лиц с низким и средним уровнем тревожности, что, по-видимому, свидетельствует о преимущественно стресс-индуцированном характере активации процессов ПОЛ в МЭ у данной группы больных.

Для подтверждения стрессорного генеза индукции СРО у данных больных был определен уровень кортизола крови.

Таблица 2

Влияние уровня тревожности на состояние процессов ПОЛ в эритроцитарных мембранах больных ОВГ средней степени тяжести (M±m)

Показатель ПОЛ	Контроль n=10	Уровень тревожности	
		Низкий и средний (n=10)	Высокий (n=10)
E_{232}/E_{220} в гептановой фазе	0,39±0,08	0,49±0,07	*0,64±0,1
E_{278}/E_{220} в гептановой фазе	0,27±0,06	0,38±0,09	*0,59±0,08 [^]
E_{232}/E_{220} в изопропаноловой фазе	0,64±0,08	*0,80±0,07	*1,21±0,09 [^]
E_{278}/E_{220} в изопропаноловой фазе	0,51±0,05	*0,71±0,06	*1,13±0,07 [^]

Примечание: * – достоверность отличия от группы контроля ($p < 0,01$);
[^] – достоверность отличий между гр. с высоким и низким уровнем тревожности ($p < 0,05$).

Полученные данные позволили установить, что в группе лиц с диагностированным высоким уровнем как личностной, так и реактивной тревожности отмечалось примерно 56-процентное повышение уровня кортизола по сравнению с контрольной группой, и практически у всех этих больных уровень кортизола превышал верхние значения референтных величин этого гормона. При этом необходимо отметить, что в группе со средним и низким уровнем тревожности достоверных отличий от контрольной группы содержания кортизола в крови выявлено не было.

В настоящее время однозначно доказана роль стресса в патогенезе неспецифического реактивного гепатита с соответствующим нарушением мембранных структур и функции клеток печени [12]. В связи с этим формирование анксиогенного стресса у больных ОВГ может быть основой утяжеления заболевания, в том числе и за счет нарушения структурно-функционального состояния мембранных структур клеток различных органов и тканей. Для подтверждения этого положения был проведен сравнительный анализ перекисной и осмотической резистентности эритроцитов в группах больных ОВГ с высоким и низким уровнем тревожности.

Полученные результаты позволили установить, что в объединенной группе больных с низким и средним уровнем тревожности наблюдалось снижение перекисной и осмотической резистентности эритроцитов, по сравнению с контрольной группой, на 16,5% и 19,3% соответственно, а в группе с высоким уровнем тревожности – на 35,1% и 40,2% соответственно. При этом важно отметить, что изучаемые показатели в группе больных со средним течением ОВГ и с высоким уровнем тревожности практически не отличались от аналогичных показателей группы больных с тяжелым течением ОВГ.

Таким образом, по результатам проведенного исследования можно сделать, по крайней мере, три вывода: во-первых, уровень продуктов липопероксидации в МЭ достоверно отражает тяжесть течения острого вирусного гепатита; во-вторых, структурно-функциональные нарушения клеточных и субклеточных мембран гепатоцитов больных ОВГ могут быть связаны с истощением антирадикальной защиты клетки; в-третьих, психоэмоциональное состояние больных ОВГ усугубляет негативные мембранотропные проявления вирусных гепатитов, что необходимо учитывать при лечении таких пациентов на всех стадиях заболевания.

Литература

1. Архипенко, Ю. В. Модификация ферментной системы транспорта Ca^{2+} в саркоплазматическом ретикулуме при перекисном окислении липидов: молекулярные механизмы изменений активности Са-АТФазы / Ю. В. Архипенко, В. Е. Каган, Ю. П. Козлов // Биохимия. – 1983. – Т. 48, вып. 3. – С. 433–441.
2. Владимиров, Ю. А. Роль нарушений свойств липидного слоя мембран в развитии патологических процессов / Ю. А. Владимиров // Пат. физиология и эксперим. терапия. – 1989. – № 4. – С. 7–19.

3. Волчегорский, И. А. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма / И. А. Волчегорский, И. И. Долгушин, О. Л. Колесников. – Челябинск : Изд-во ЧГПУ, 2000. – 32 с.
 4. Дудник, Л. Б. Гипербилирубинемия как фактор защиты липидов биологических мембран от перекисного окисления при остром вирусном гепатите и некоторых других патологических и физиологических состояниях / Л. Б. Дудник, А. Я. Майоре // Биологические мембраны и патология клетки. – Рига, 1986. – С. 32–38.
 5. Дудник, Л. Б. Пероксидное окисление липидов и его связь с изменением состава и антиокислительных свойств липидов при коматогенных формах острого вирусного гепатита В / Л. Б. Дудник, Л. М. Виксна, А. Я. Майоре // Вопросы мед. химии. – 2000. – № 6.
 6. Дядик, В. П. Перекисное окисление липидов и их обмен при вирусном гепатите В и циррозе печени / В. П. Дядик, В. И. Бычкова // Врачеб. дело. – 1986. – № 11. – С. 114–117.
 7. Меерсон, Ф. З. Адаптационная медицина: Концепция долговременной адаптации / Ф. З. Меерсон. – М. : Дело, 1993. – 138 с.
 8. Меерсон, Ф. З. Общий механизм адаптации и роль в нем стресс-реакции, основные стадии процесса / Ф. З. Меерсон. – М. : Наука, 1986. – 635 с.
 9. Никоноров, А. А. Стрессорные нарушения детоксикационной функции печени и их предупреждение : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Никоноров, А. А. – Челябинск, 1990. – 24 с.
 10. Никулина, М. А. Психосоматические аспекты вирусных гепатитов / М. А. Никулина, В. В. Шевченко, В. Г. Лычев // Дальневосточный журн. инфекционной патологии. – 2005. – № 7. – С. 121–122.
 11. Онищенко, Г. Г. Вирусные гепатиты В и С в России / Г. Г. Онищенко, И. В. Шахгильдян, М. И. Михайлов // Гепатиты В, С и D – проблемы диагностики, лечения и профилактики : тез. докл. V Рос. науч.-практ. конф. – М., 2003. – С. 230–235.
 12. Цейликман, В. Э. Стресс и неспецифический реактивный гепатит / В. Э. Цейликман, О. Б. Цейликман. – Челябинск : Изд-во ЮУрГУ, 2008 – 151 с.
 13. Hanin, Y. L. The development and validation of the Russian form of the State-Trait Anxiety Inventory / Y. L. Hanin, C. D. Spielberger // Cross-cultural anxiety. – Washington, 1983. – P. 15–26.
-