

Клиническая медицина. – 2015. - т.93, № 2. - с. 58-60

В.К. Макаров, П.В. Макаров

**РОЛЬ СОСТОЯНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ МЕМБРАН В
ДИФФЕРЕНЦИАЛЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКЕ САЛЬМОНЕЛЛЁЗНОГО И
ОСТРОГО АЛКОГОЛЬНОГО ГАСТРОЭНТЕРИТОВ**

ГБОУ ВПО Тверская ГМА Минздрава России, г. Тверь

Юридический адрес учреждения: 170100, г. Тверь, ул. Советская, д. 4

Для корреспонденции: Макаров Виктор Константинович makarov.tver@mail.ru

Makarov V.K., Makarov P.V.

**THE ROLE OF BIOLOGICAL MEMBRANES CONDITION IN DIFFERENTIAL
DIAGNOSTICS OF SALMONELLA AND ACUTE ALCOHOLIC
GASTROENTERITIS**

Tver State medical academy of Health Ministry, department of infectious diseases and
epidemiology, Russian Federation

Макаров Виктор Константинович (Makarov Viktor Konstantinovich),
makarov.tver@mail.ru

Макаров Павел Викторович (Makarov Pavel Viktorovich), global-create@yandex.ru

АННОТАЦИЯ

Клиническая значимость определения состояния биологических мембран в дифференциальной диагностике сальмонеллёзного и острого алкогольного гастроэнтеритов

В.К. Макаров, П.В. Макаров

Работа посвящена изучению влияния сальмонеллёзной инфекции и алкоголя на состояние биологических мембран. Для определения состояния мембран изучали фосфолипидные фракции сыворотки крови, так как известно, что фосфолипиды входят в состав мембран энteroцитов и, соответственно, всякое изменение содержания их на мемbrane приводит к изменению их содержания в крови. Исследовали показатели фосфолипидных фракций сыворотки крови у 50 здоровых лиц, 50 больных острым алкогольным гастроэнтеритом и 50 пациентов сальмонеллёзным гастроэнтеритом. Сальмонеллёз и алкоголь вызывают разно направленные изменения состояния биологических мембран. Механизм диареи у больных сальмонеллёзным и острым алкогольным гастроэнтеритом различен. Причина диареи при остром алкогольном гастроэнтерите - увеличение микровязкости биомембран, а при сальмонеллёзом гастроэнтерите – увеличение текучести биомембран энteroцитов. Это требует различных подходов к лечению данных патологических процессов. Значения коэффициента деструкции биомембран ниже 2,0 может служить дополнительным тестом для подтверждения алкогольной этиологии гастроэнтерита, а выше 3,0 для подтверждения сальмонеллёзной этиологии гастроэнтерита.

Ключевые слова: сальмонеллёз, алкоголь, гастроэнтерит, фосфолипиды

SUMMARY

Clinical significance of detection of biological membranes condition in differential diagnosis
of salmonellosis and acute alcoholic gastroenteritis

V.K. Makarov, P.V.Makarov

The work is devoted to study of influence of alcohol and salmonellas on a condition of biological membranes. For definition of a condition of membranes we studied of blood phospholipid fractions, as it is known, that phospholipids enter into structure of enterosites and accordingly any change of the contents on a membrane results change of the them contents in the blood. Parameters of blood phospholipid fractions at 50 healthy persons, 50 patients with acute alcoholic gastroenteritis and 50 patients with acute infectious gastroenteritis was investigated. Salmonellosis and alcohol causes different directional changes of a state of biological diaphragms. The mechanism of diarrhea for the patients with salmonellosis and acute alcoholic gastroenteritis is different.. A reason of diarrhea at acute alcoholic gastroenteritis - increase of microviscosity of biomembranes and at salmonellosis gastroenteritis - increase of fluctuation of enterocitic biomembranes. It requires the various approaches to treatment of the given pathological processes. Values of biomemeranes destruction coefficient below 2,0 can be for the padding test for confirmation alcoholic etiology of gastroenteritis and higher then 3,0 can for confirmation salmonellosis etiology of gastroenteritis.

Key words: salmonellosis, alcohol, gastroenteritis, phospholipids

Гастроэнтериты, вызванные различными бактериальными и вирусными агентами широко распространены во всех странах мира [1].

Выделяют инфекционный, алиментарный и острый токсический гастроэнтерит в результате употребления крепких алкогольных напитков [2], так называемый острый алкогольный гастроэнтерит. То есть, одним из важнейших этиологических факторов остого гастроэнтерита может быть алкогольная нагрузка или злоупотребление алкоголем [3].

Алкогольный гастроэнтерит характеризуется наличием тошноты, рвоты, болей в животе, повторным, обильным жидким стулом [4]. Лица с подобной симптоматикой очень часто госпитализируются в инфекционный стационар, где встает вопрос дифференциальной диагностики инфекционного гастроэнтерита (чаще всего сальмонеллёзного) и алкогольного гастроэнтерита.

Высокая алкогольная нагрузка приводит к дестабилизации клеточных и внутриклеточных мембран [5], является главной причиной заболеваемости и смертности в мире [6, 7].

Цель нашей работы заключалась в изучении клинической значимости определения состояния биологических мембран в дифференциальной диагностике сальмонеллёзного и остого алкогольного гастроэнтеритов.

Материалы и методы

Нами были исследованы показатели липидного спектра сыворотки крови у 50 здоровых лиц, 50 больных острым алкогольным гастроэнтеритом (ОАГЭ) и 50 пациентов гастроэнтеритом сальмонеллёзной этиологии средней степени тяжести, (СГЭ), вызванным *Sal. enteritidis*. Все больные с острым алкогольным гастроэнтеритом поступали в стационар после значительной алкогольной нагрузки в течение нескольких дней. Все обследованные лица были в возрасте от 20 до 60 лет.

Средний возраст больных сравниваемых групп был близким. Так, у больных СГЭ средний возраст составил $34,3 \pm 2,3$ года, у больных ОАГЭ – $37,3 \pm 1,5$ года. Большинство обследованных лиц во всех группах составляли лица мужского пола.

Для определения состояния мембран изучались фосфолипидные фракции сыворотки крови, так как известно, что фосфолипиды входят в состав клеточных мембран, в том числе энteroцитов, и соответственно всякое изменение содержания их на мемbrane приводит к изменению содержания их в сыворотке крови.

Липиды выделяли традиционным способом по Фолчу [8] и фракционировали модифицированным методом [9] с определением процентного содержания минорных липидных компонентов сыворотки крови одновременно с основными липидными фракциями с применением метода денситометрии и современного высокоточного денситометра Shimadzu CS–9000 (Япония).

Общие липиды определяли по Маршу [10]. Изучено относительное содержание следующих фракций общих липидов: общих фосфолипидов (ФЛ), свободного холестерина (СХ), триглицеридов (ТГ), эфиров холестерина (ЭХ), а также фракций общих фосфолипидов - суммарных лизофосфолипидов (ЛФЛ), сфингомиелина (СМ), фосфатидилхолина (ФХ), фосфатидилэтаноламина (ФЭ).

Результаты содержания каждого липида выражались в процентах относительно уровня общих липидов или общих фосфолипидов у каждого больного.

Деструкцию мембран определяли на основе разработанного В.К.Макаровым коэффициента гепатодеструкции - $\Phi X^2/CM \times LF$ [11]. В упрощённом виде - $\Phi X^2/CM \times LF$ (коэффициент деструкции биомембран). Поскольку основной процесс при СГЭ и ОАГЭ происходил в кишечнике, результаты нашего исследования отражали, в первую очередь, состояние биомембран энteroцитов.

Степень проницаемости мембран определяли по коэффициенту проницаемости $[CM]/[\Phi X]$, разработанному В.И. Гуриным [12]. Понижение значений данного

коэффициента указывало на уменьшение липидной «жидкостности» мембран, то есть на увеличение ее проницаемости. Для определения активности эндогенных фосфолипаз использовали коэффициент активности фосфолипаз $[ФХ]/[ЛФХ]$, предложенный Н.Е. Кучаренко и соавт. [13] в нашей модификации $[ФХ+ФЭ]/[ЛФЛ]$. Повышение его значений обратно пропорционально снижению активности фосфолипаз. Кроме того, применяли коэффициент вязкости биомембран, который представляет собой отношение свободного холестерина к общим фосфолипидам, из которых и состоят мембранны клеток $[СХ/ФЛ]$.

Все показатели пациентов проверялись на предмет выявления эмпирических функций их распределения и соответствие этих функций нормальной функции распределения (функция Гаусса). Для этой процедуры применялся критерий согласия Шапиро-Уилка, который применим при небольшом количестве измерений ($n<50$). Сравнение групп проводилось двумя способами: для нормально распределенных показателей применялся Т-критерий Стьюдента, а в случае аномальности функций распределения – U-критерий Манна-Уитни.

Результаты и их обсуждение

Исследование соотношений $[ФХ+ФЭ]/[ЛФЛ]$ показало, что у больных СГЭ, по сравнению со здоровыми лицами, наблюдались значительно более высокое его значение (табл. 1), а у пациентов с ОАГЭ – более низкое.

1

Соотношение $[СМ]/[ФХ]$ у больных СГЭ, оказалось достоверно более низким, а у больных ОАЭ более высоким по сравнению с нормой.

Коэффициент $[СХ]/[ФЛ]$ у больных с ОАГЭ был достоверно выше, чем у здоровых лиц, а у пациентов с СГЭ не отличался от нормы.

Выявлено почти в 3 раза более высокое значение соотношения $[ФХ+ФЭ]/[ЛФЛ]$ у больных СГЭ, по сравнению с пациентами с ОАГЭ. Цифровые значения соотношения $[СМ]/[ФХ]$ у больных СГЭ были достоверно ниже, чем у пациентов с ОАГЭ.

Соотношение [СХ]/[ФЛ] у больных ОАГЭ оказалось самым высоким, чем в других сравниваемых группах.

Цифровые значения коэффициента деструкции мембран ($\Phi X^2/CM \times LFX$) у больных СГЭ были в 3 раза выше, чем у здоровых лиц, то есть возрастали. Напротив, у больных ОАГЭ понижались ($P<0,001$).

Более высокие значения соотношения $[\Phi X+\Phi E]/[LF\Phi L]$ у больных СГЭ, в сравнении со здоровыми лицами и пациентами с ОАГЭ, указывают на значительное снижение активности эндогенных фосфолипаз, что приводит к накоплению на биологических мембранах энteroцитов лизофосфолипидов и к их деструкции. Это подтверждается и в 3 раза более высоким уровнем коэффициента деструкции энteroцитов. У пациентов с ОАГЭ наблюдался обратный процесс – значение соотношения $[\Phi X+\Phi E]/[LF\Phi L]$ самое низкое (указывает на повышение активности фосфолипаз), что ведёт к набуханию биомембран и из разрушению. Этим и объясняется более низкие значения коэффициента деструкции мембран у данной категории пациентов.

Уменьшение соотношения $CM/\Phi X$ показывает, что при СГЭ происходит увеличение «текучести», а значит и проницаемости, нестабильности биологических мембран. При ОАГЭ наблюдается обратная реакция в виде увеличения значения коэффициента $CM/\Phi X$, что отражает уменьшение текучести биологических мембран энteroцитов. Это может приводить к двухфазности мембранныго геля и расслоению биомембран. Увеличение соотношения $[СХ]/[ФЛ]$ под воздействием алкоголя у больных ОАГЭ указывает на образование двухфазной системы, то есть на увеличения микропропицаемости биомембран [3], их утолщению и разрушению в дальнейшем. Эти два процесса ведут к повышению проницаемости энteroцитов и диффузии жидкости в просвет кишечника.

Выводы

1. Сальмонеллёзная инфекция и острая алкогольная нагрузка вызывают разно направленные изменения состояния биологических мембран.
2. Механизм диареи у больных сальмонеллёзным и острым алкогольным гастроэнтеритом различен. Причина диареи при остром алкогольном гастроэнтерите - увеличение микровязкости биомембран, а при сальмонеллёзном гастроэнтерите – увеличение текучести биомембран энteroцитов. Это требует различных подходов к лечению данных патологических процессов.
3. Значение соотношения $[СХ]/[ФЛ]$ выше 0,8 и коэффициента $(ФХ^2/СМ \times ЛФХ)$ ниже 2,0 может служить дополнительным тестом для подтверждения алкогольной этиологии гастроэнтерита.
4. Значение соотношения $[ФХ+ФЭ]/[ЛФЛ]$ выше 2,0 и коэффициента $(ФХ^2/СМ \times ЛФХ)$ выше 3,0 может служить дополнительным тестом для подтверждения сальмонеллёзной этиологии гастроэнтерита.

К ст. В.К. Макарова и соавт. «Клиническая значимость определения состояния биологических мембран в дифференциальной диагностике сальмонеллётного и острого алкогольного гастроэнтеритов»

Список литературы

1. Воротынцева Н.В., Мазанкова Л.Н. Острые кишечные инфекции у детей. М.: Медицина; 2000: 480.
2. Комаров Ф.И., Гребенев А.Л. Болезни органов пищеварения. Справочник практического врача. 7-е изд. М.: Издательский Дом ОНИКС; 2000. гл. 11: 134-72.
3. Gracey M., Bobongie F. Hospitalization of Aboriginal adults for digestive disorders in Western Australia, 1989-91. *Gastroenterol. Hepatol.* 1995; 10(3): 313-18.
4. Бонитенко Ю.Ю., Ливанов Г.А., Бонитенко Е.Ю., Калмансон М.Л. Острые отравления алкоголем и его суррогатами (патогенез, клиника, диагностика, лечение). Пособие для врачей. С.-Пб.: Лань; 2000; 112.
5. Adachi J. Membrane disorder and free radical. *Nihon Hoigaku Zasshi.* 2000; .54 (3): 356-360.
6. Нужный В.П., Харченко В.И., Акопян А.С. Избыточное потребление алкоголя – весомый фактор риска болезней системы кровообращения и высокой смертности населения (обзор). *Терапевтический архив.* 1998;10: 57-4.
7. Ramaiah S., Rivera C., Arteel G. Early-phase alcoholic liver disease: an update on animal models, pathology, and pathogenesis. *J. Toxicol.* 2004; 23 (4): 217-31.
8. Folch J., Lees M., Stanley G.H.G. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 1957; 226: 497-09.
9. Макаров В.К., Рясенский Д.С. Фосфолипиды сыворотки крови и мембран лимфоцитов при остром вирусном гепатите В и токсическом гепатите. *Биомедицинская химия.* 2009; 55(4): 525-529.
10. Marsh J.B., Weinstein P.B. Single charring methods for determination of Lipids. *J. Lip.* 1966;.7: 574-76.

11. Макаров, В.К. Способ диагностики хронических заболеваний печени. Изобретения. Полезные модели. 2001; 14: 482.
12. Гурин В.И. Обмен липидов при гипертермии, гипотермии и лихорадке. Минск: 1986.
13. Кучаренко Н.Е., Васильев А.Н. Липиды. Киев: 1985.
14. Галлер Г., Ганефельд М., Ярoss В. Нарушения липидного обмена (диагностика, клиника, терапия). Перевод с нем. Ю.И. Коршиковой. М.: Медицина; 1979.

References

1. Vorotinseva N.V., Mazankova L.N. Acute intestinal infection for children. M.: medicine; 2000: 480 (in Russian).
2. Komarov F.I., Grebnev A.L. Illnesses of digestion organs. In: The quick reference for a practical doctor / Vorobyov A.I., "ed", M.: the publishing House ONIX; 2000: 134-172 (in Russian).
3. Gracey M., Bobongie F. Hospitalization of Aboriginal adults for digestive disorders in Western Australia, 1989-91. Gastroenterol. Hepatol. 1995; 10 (3): 313-18.
4. Bonitenko U.U., Livanons G.A., BonitenkoE.U., Kalmanson M.L. Acute poisonings with alcohol and its substitutes (pathogenesis, clinic, diagnostics, treatment). A manual for the doctors. S.-Pb.: Lan; 2000 (in Russian).
5. Adachi J. Membrane disorder and free radical. Nihon Hoigaku Zasshi. 2000; .54 (3): 356-360.
6. Nujnay V.P., Tharchenko V.I., Akopian A.S. Exuberant consumption of alcohol - powerful risk factor of illnesses of the system of a circulation of blood and high смертности of the population (browse). Terapevtichesky archive. 1998; 10: 57-64 (in Russian).

7. Ramaiah S., Rivera C., Arteel G. Early-phase alcoholic liver disease: an update on animal models, pathology, and pathogenesis. *J. Toxicol.* 2004; 23 (4): 217-31.
8. Folch J., Lees M., Stanley G.H.G. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 1957; 226: 497-09.
9. Makarov V.K., Riasensky D.S.. Phospholipids of blood and lymphositic membranes at acute virus hepatitis B and toxic hepatitis. *Biomedical chemistry.* 2009; 55 (4): 525-529 (in Russian).
10. Marsh J.B., Weinstein P.B. Single charring methods for determination of Lipids. *J. Lip.* 1966; 7: 574-76.
11. Makarov V.K. A way of diagnostics of chronic diseases of a liver. The inventions. Useful models. 2001; 14: 482 (in Russian).
12. Gurin V.I. Exchange of lipids at hypertermia, hypothermia and fever. Minsk: 1986 (in Russian).
13. Kucharenko N.E., Vasiliev A.N. Lipids. Kiev: 1985 (in Russian).
14. Galler G., Gannefeld M., Iaross V.. Violations lipids exchange (diagnostics, clinic, therapy). Translation by U.I. Korshikova. M.: medicine; 1979.

15. К ст. В.К. Макарова и соавт. «Клиническая значимость определения состояния биологических мембран в дифференциальной диагностике сальмонеллёзного и острого алкогольного гастроэнтеритов»

Таблица 1

Значения соотношений фракций фосфолипидов сыворотки крови у здоровых лиц, больных острым алкогольным и больных сальмонеллёзным гастроэнтеритами

Сравниваемые группы	n	Наименование коэффициентов			
		[ФХ+ФЭ]/[ЛФЛ] коэффициент активности фосфолипидов	[СМ]/[ФХ] коэффициент проницаемости биомембран	[СХ]/[ФЛ] коэффициент вязкости биомембран	[ФХ ² /СМх ЛФХ] коэффициент деструкции биомембран
Здоровые лица	50	1,7 ± 0,07	0,6±0,01	0,7 ±0,01	2,1±0,04
Больные острым алкогольным гастроэнтеритом (ОАГЭ)	50	1,5±0,04 ¹	0,7±0,02 ³	1,1±0,03 ³	1,4±0,03 ³
Больные сальмонеллёзным гастроэнтеритом (СГЭ)	50	3,9±0,1 ³	0,5±0,01 ³	0,7±0,02	6,4±0,08 ³
P ₁		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Примечание:

^{1,2,3} – достоверность различий в группах в сравнении со здоровыми лицами (1- P<0,05, 2 - P<0,01, 3 - P<0,001).

P₁ – достоверность различий между больными сальмонеллёзным гастроэнтеритом и острым алкогольным гастроэнтеритом;

В редакцию журнала
«Клиническая медицина»

Тверская государственная медицинская академия направляет статью заведующего кафедрой инфекционных болезней, доктора медицинских наук, профессора В.К. Макарова и соискателя П.В. Макарова и «Клиническая значимость определения состояния биологических в дифференциальной диагностике сальмонеллёзного и острого алкогольного гастроэнтеритов» с просьбой опубликовать её на страницах вашего журнала. Статья написана по материалам работы над диссертацией на соискание учёной степени **кандидата медицинских наук.**

Статья не содержит секретной информации и может быть опубликована в открытой печати.

Проректор по научной работе и
инновационной деятельности ТГМА

доцент

И.А. Жмакин

«____ » марта 2014 г.

