УДК 616.981.49+616.89-008.441.13:616.153.915]-07

В.К. Макаров, А.Е. Левенцова

ХАРАКТЕРИСТИКА СОСТОЯНИЯ КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН У БОЛЬНЫХ САЛЬМОНЕЛЛЕЗОМ, НЕ ЗЛОУПОТРЕБЛЯЮЩИХ И ЗЛОУПОТРЕБЛЯЮЩИХ АЛКОГОЛЕМ, И БОЛЬНЫХ АЛКОГОЛИЗМОМ

Кафедра инфекционных болезней и эпидемиологии
ГБОУ ВПО Тверская ГМА Минздрава России

Работа посвящена изучению характеристики состояния клеточных мембран у больных сальмонеллезом, не злоупотребляющих и злоупотребляющих алкоголем, в сравнении с больными алкоголизмом.

Для определения состояния мембран изучали фосфолипидные фракции сыворотки крови, так как известно, что фосфолипиды входят в состав мембран энтероцитов и, соответственно, всякое изменение содержания их на мембране приводит к изменению содержания их в крови. Были исследованы показатели липидного спектра сыворотки крови у 50 здоровых лиц, 50 больных алкоголизмом, 30 пациентов с сальмонеллезом, злоупотребляющих алкоголем, и 50 больных сальмонеллезом, не злоупотребляющих алкоголем.

Изменение в состоянии клеточных мембран у больных сальмонеллезом и алкоголизмом носит разнонаправленный характер. У больных сальмонеллезом происходит снижение активности эндогенных фосфолипаз и увеличение проницаемости клеточных мембран. У больных алкоголизмом – напротив, активность эндогенных фосфолипаз и вязкость клеточных мембран возрастают. На состояние клеточных мембран у больных сальмонеллезом оказывает влияние злоупотребление алкоголем, что необходимо учитывать в клинической практике.

Ключевые слова: *сальмонеллез, злоупотребление алкоголем, алкоголизм, клеточные мембраны, фосфолипиды.*

CHARACTERISTIC OF CELL MEMBRANES STATE IN THE PATIENTS WITH SALMONELLOSIS, NOT ABUSING AND ABUSING ALCOHOL, AND PATIENTS WITH ALCOHOLISM

V.K. Makarov, A.E. Leventsova

Tver State Medical Academy Department of infectious diseases and epidemiology

The investigation is devoted to studying of cell membranes state in the patients with salmonellosis, not abusing and abusing alcohol in comparison with alcoholic patients.

Serum phospholipid fractions were studied for determination of cell membranes state, as it is known, that phospholipids are the members of enterocyte membranes, therefore any change of their content in membrane results in changes of their content in the blood. The parameters of serum lipid spectrum were investigated in 50 healthy persons, 50 patients with alcoholism, 30 alcohol abusing patients with salmonellosis and 50 – not abusing alcohol patients with salmonellosis.

The change in a state of cell membranes in the patients with salmonellosis and alcoholism has alternative character. The patients with salmonellosis have decreasing activity of endogenic phospholipases and increasing – of permeability of cell membranes. On the contrary, the activity of endogenic phospholipases and viscosity of cell membranes increases in the alcoholic patients. Abusing alcohol exert influence on a state of cell membranes in the patients with salmonellosis. It is necessary to take this fact into consideration in clinical practice.

Key words: *salmonellosis, alcohol abusing, alcoholism, cell membranes, phospholipids.*

Сальмонеллез встречается во всех регионах мира [1] и занимает значительное место среди всего этиологического спектра диарейных заболеваний, оставаясь одной из актуальных проблем здравоохранения не только в России [2, 3]. Причем заболеваемость в РФ сальмонеллезом продолжает расти [4], нанося значительный экономический ущерб.

Алкоголь является главной причиной заболеваемости и смертности в мире [5], способствует восприимчивости человека к инфекционным заболеваниям [6] и приводит к дестабилизации клеточных и внутриклеточных мембран [7]. Однако влияние алкоголя на состояние биологических мембран у больных сальмонеллезом не изучено.

Липиды считаются одними из важнейших составляющих всех клеток человеческого организма [8]. Они обусловливают проницаемость клеточных мембран, обеспечивая тем самым нормальные процессы обмена в различных органах [9, 10].

Фосфолипиды составляют матрицу всех биологических мембран. Они обеспечивают их нормальную структуру и реализацию многочисленных функций клетки. В мембранах лимфоцитов фосфолипиды определяют видоспецифичность и регулируют межклеточные контакты. Они могут являться модуляторами в иммунном ответе, а именно, высвобождаясь с поверхности лимфоцитов, способны блокировать действие клеток-киллеров [11].

Жизненная потребность в фосфолипидах для активации мембранных белков показана экспериментально. После удаления связанных фосфолипидов посредством экстракции ацетоном или действием фосфолипаз активность мембранных белков может быть снова полностью восстановлена добавлением фосфолипидов [12].

Детальное изучение липидного спектра представляет несомненный интерес, в частности, исследование соотношений некоторых липидных показателей для характеристики состояния клеточных мембран у больных сальмонеллезом, не злоупотребляющих и злоупотребляющих алкоголем, в сравнении с больными алкоголизмом.

Цель работы заключалась в определении состояния клеточных мембран у больных сальмонеллезом, не злоупотребляющих и злоупотребляющих алкоголем, в сравнении с больными алкоголизмом на основе детального исследования липидного спектра сыворотки крови.

Материалы и методы

В формулировке диагноза заболеваний использовалась Международная статистическая классификация болезней и проблем, связанных со здоровьем, десятого пересмотра [МКБ 10].

Обследованные больные сформировали четыре группы. Группа I состояла из 50 психически и соматически здоровых людей, практически не принимавших спиртные напитки; группа II – из 50 больных гастроэнтеритическим вариантом гастроинтестинальной формы сальмонеллеза средней тяжести, вызванного *Sal. Enteritidis*, не злоупотребляющих алкоголем (А 02 по МКБ 10); группа III представлена 30 больными гастроэнтеритическим вариантом гастроинтестинальной формы сальмонеллеза средней тяжести, вызванного *Sal. Enteritidis*, злоупотребляющими алкоголем (А 02 + F 10.2 по МКБ 10); группа IV (контрольная) – состоит из 50 больных алкоголизмом, свободных от маркеров вирусных гепатитов (F 10.2 по МКБ 10), которые были выбраны для изучения влияния больших доз алкоголя (злоупотребления алкоголем) на состояние клеточных мембран. Для этой цели наиболее подходили больные алкоголизмом II стадии, так как эта стадия болезни кроме психической и физической зависимости от алкоголя характеризуется установившейся максимальной толерантностью, систематическим приемом больших доз алкоголя и соответствует стадии «синдрома зависимости от алкоголя» (МКБ 10 – F 10.2) [13].

Все обследованные лица были в возрасте от 20 до 60 лет. Забор крови для исследования липидного спектра у больных сальмонеллезом производился на 1–3-й дни болезни – в период максимальных клинических проявлений. В связи с тем, что обследованные лица употребляли различные спиртные напитки, для унификации результатов пользовались расчетами содержания 100% этанола с применением формулы Кольмана [14]: содержание этанола в граммах = А × В × С, где А – объем спиртного напитка в литрах, В – крепость спиртного напитка и С – плотность этанола. Под злоупотреблением алкоголем понимался прием более 80 граммов 100% этанола в сутки несколько раз в неделю или систематически [15].

Для определения состояния мембран изучались фосфолипидные фракции сыворотки крови, так как известно, что фосфолипиды входят в состав клеточных мембран (в том числе энтероцитов, гепатоцитов) и, соответственно, всякое изменение содержания их

на мембране приводит к изменению содержания их в сыворотке крови.

Липиды выделяли по Фолчу [16] и фракционировали модифицированным методом [17], позволяющим количественно определить минорные липидные компоненты сыворотки крови (например, лизопроизводные фосфолипидов) одновременно с основными липидными фракциями. Процентное содержание отдельных липидных фракций устанавливали денситометрически с использованием аппаратного денситометра Shimadzu CS–9000 [18].

Общие липиды определяли по Маршу [19]. 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).

Степень проницаемости мембран определяли по коэффициенту проницаемости [СМ]/[ФХ], разработанному В.И. Гуриным [20]. 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. [21] в нашей модификации [ФХ+ФЭ]/[ЛФЛ]. Повышение его значений обратно пропорционально снижению активности фосфолипаз. Кроме того, рассчитывали коэффициент вязкости биомембран, который представляет собой отношение свободного холестерина к общим фосфолипидам, из которых и состоят мембраны 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 используется при небольшом количестве измерений (n < 50). Сравнение групп проводилось двумя способами: для нормально распределенных показателей применялся Т-критерий Стьюдента, а в случае анормальности функций распределения – U-критерий Манна–Уитни.

Результаты и их обсуждение

Исследование соотношений [ФХ+ФЭ]/[ЛФЛ] показало, что у больных сальмонеллезом, как злоупотребляющих, так и не злоупотребляющих алкоголем, по сравнению со здоровыми лицами наблюдались достоверно (P < 0,001) более высокие их значения (табл. 1). Данный показатель у больных алкоголизмом оказался достоверно ниже, чем у здоровых лиц.

Соотношение [СМ]/[ФХ] у больных сальмонеллезом, не злоупотребляющих алкоголем, оказалось самым низким как в сравнении с нормой (P < 0,001), так и с больными сальмонеллезом, злоупотребляющими алкоголем (P < 0,001). У больных алкоголизмом этот коэффициент оказался самым высоким по сравнению с группами здоровых лиц (P < 0,001) и больных сальмонеллезом, злоупотребляющих алкоголем (P < 0,001). Величины соотношения сфингомиелина к фосфатидилхолину [СМ]/[ФХ] у больных сальмонеллезом, не злоупотребляющих алкоголем, были ниже, чем у пациентов с алкоголизмом и сальмонеллезом, злоупотребляющих алкоголем.

Соотношение [СХ]/[ФЛ] у больных алкоголизмом оказалось выше, чем в других сравниваемых группах. Однако у больных сальмонеллезом, злоупотребляющих алкоголем, данный показатель был более высоким (P < 0,001), чем у лиц с сальмонеллезом, не злоупотребляющих алкоголем.

Выявлены и достоверно более высокие значения соотношения [ФХ+ФЭ]/[ЛФЛ] у больных сальмонеллезом, не злоупотребляющих алкоголем, по сравнению со злоупотребляющими и пациентами с алкоголизмом (P < 0,001).

Таблица 1

Соотношения фракций фосфолипидов сыворотки крови у здоровых лиц, больных алкоголизмом и больных сальмонеллезом, злоупотребляющих и не злоупотребляющих алкоголем

Сравниваемые группы	n	Наименование коэффициентов		
		[ФХ+ФЭ]/[ЛФЛ] коэффициент активности фосфолипаз	[СМ]/[ФХ] коэффициент проницаемости биомембран	[СХ]/[ФЛ] коэффициент вязкости биомембран
Здоровые лица	50	1,7 ± 0,07	0,6 ± 0,01	0,7 ± 0,01
Больные алкоголизмом	50	1,3 ± 0,05[3]	0,8 ± 0,02[3]	1,0 ± 0,03[3]
Больные сальмонеллезом, злоупотребляющие алкоголем	30	2,3 ± 0,08[3]	0,6 ± 0,01	0,8 ± 0,03[3]
Больные сальмонеллезом, не злоупотребляющие алкоголем	50	3,9 ± 0,1[3]	0,5 ± 0,01[3]	0,7 ± 0,02
P_1		<0,001	<0,001	<0,001
P_2		<0,001	<0,001	<0,001

Примечание. [1, 2, 3] – достоверность различий в группах со здоровыми лицами (1 – P < 0,05; 2 – P < 0,01; 3 – P < 0,001); P_1 – достоверность различий между больными сальмонеллезом, злоупотребляющими и не злоупотребляющими алкоголем; P_2 – достоверность различий между больными сальмонеллезом, злоупотребляющими алкоголем, и больными алкоголизмом; n – число больных.

Соотношения [ФХ+ФЭ]/[ЛФЛ] у больных сальмонеллезом (как злоупотребляющих, так и не злоупотребляющих алкоголем), в сравнении со здоровыми лицами достоверно выше ($P < 0,001$), что указывает на снижение активности эндогенных фосфолипаз, способствующей накоплению на биологических мембранах лизофосфолипидов и их деструкции. В то же время у больных сальмонеллезом, злоупотребляющих алкоголем, по сравнению с незлоупотребляющими, показатель соотношения [ФХ+ФЭ]/[ЛФЛ] оказался ниже ($P < 0,001$), т. е. наблюдается менее заметное снижение активности фосфолипаз, хотя, как известно, под влиянием алкоголя происходит их активация [22]. Этим же может объясняться и самое низкое значение соотношения [ФХ+ФЭ]/[ЛФЛ] у больных алкоголизмом.

Уменьшение соотношения СМ/ФХ показывает, что сальмонеллезная инфекция вызывает увеличение «текучести», а значит и проницаемости, нестабильности биологических мембран.

Учитывая, что понижение показателей соотношения [СМ]/[ФХ] отражает увеличение проницаемости мембран, можно заключить, что у больных сальмонеллезом, злоупотребляющих алкоголем, проницаемость мембран меньше, чем у пациентов с сальмонеллезом, не злоупотребляющих алкоголем. То есть сальмонеллезная инфекция подавляет индуцируемую алкоголем активность фосфолипаз, что, несомненно, оказывает отрицательное действие на сами мембраны и может быть причиной повышения их проницаемости. Соответственно, снижение активности фосфолипаз у больных сальмонеллезом, злоупотребляющих алкоголем, является отражением доминирующей роли сальмонеллезной инфекции в развитии патологического процесса.

Увеличение соотношения [СХ]/[ФЛ] под воздействием алкоголя у больных алкоголизмом и сальмонеллезом, злоупотребляющих алкоголем, указывает на образование двухфазной системы, то есть на увеличение микровязкости биомембран [23]. Увеличение микровязкости мембран у больных сальмонеллезом, злоупотребляющих алкоголем, связано именно со злоупотреблением алкоголем, так как возраст пациентов с сальмонеллезом в обеих группах заметно не различался.

Выводы

1. Изменения в состоянии клеточных мембран у больных сальмонеллезом и алкоголизмом носят разнонаправленный характер. У больных сальмонеллезом происходит снижение активности эндогенных фосфолипаз и увеличение проницаемости клеточных мембран. У больных алкоголизмом, напротив, активность эндогенных фосфолипиаз и вязкость клеточных мембран возрастают.
2. На состояние клеточных мембран у больных сальмонеллезом оказывает влияние злоупотребление алкоголем, что необходимо учитывать в клинической практике.

Литература / References

1. *Langridge G.C., Nair S., Wain J.* Nontyphoidal Salmonella serovars cause different degrees of invasive disease globally // J. Infect. Dis. – 2009 Feb 15. – V. 199. – № 4. – P. 602–603. Comment on: J. Infect. Dis. – 2008 Jul 1. – V. 198. – № 1. – P. 109–114.

2. *Волжанин В.М., Ковеленов А.Ю.* Сальмонеллез. В кн.: Руководство по инфекционным болезням / Под ред. Ю.В. Лобзина. – С.Пб.: Фолиант, 2003. – С. 38–48.

Volzhanin V.M., Kovelenov A.Ju. Sal'monelljoz. V kn.: Rukovodstvo po infekcionnym boleznjam / Pod red. Ju.V. Lobzina. – S.Pb.: Foliant, 2003. – S. 38–48.

3. *Покровский В.И., Онищенко Г.Г., Черкасский Б.Л.* Эволюция инфекционных болезней в России в XX веке. – М.: Медицина, 2009. – 269 с.

Pokrovskij V.I., Onishhenko G.G., Cherkasskij B.L. Jevoljucija infekcionnyh boleznej v Rossii v XX veke. – M.: Medicina, 2009. – 269 s.

4. *Савинов В.С., Лыткина И.Н., Филатов Н.Н. и др.* Современная эпизоотолого-эпидемиологическая ситуация по сальмонеллезам в Москве // Инфекционные болезни. – 2011. – Т. 9. Прил. № 1. – С. 321–322.

Savinov V.S., Lytkina I.N., Filatov N.N. i dr. Sovremennaja jepizootologo-jepidemiologicheskaja situacija po sal'monellezam v Moskve // Infekcionnye bolezni. – 2011. – T. 9. Pril. № 1. – S. 321–322.

5. *Ramaiah S., Rivera C., Arteel G.* Early-phase alcoholic liver disease: an update on animal models, pathology, and pathogenesis // Int. J. Toxicol. – 2004. – V. 23. – № 4. – P. 217–231.

6. *Огурцов П.* Алкогольная ситуация в России и алкогользависимая патология // Врач. – 1998. – № 11. – С. 6–9.

Ogurcov P. Alkogol'naja situacija v Rossii i alkogol'zavisimaja patologija // Vrach. – 1998. – № 11. – S. 6–9.

7. *Adachi J.* Membrane disorder and free radical // Nihon Hoigaku Zasshi. – 2000. – Nov. V. 5. – № 4 (3). – P. 356–360.

8. *Щербакова М.Ю.* Нарушения липидного обмена // Педиатрия. – 2000. – № 4. – С. 76–80.

Shherbakova M.Ju. Narushenija lipidnogo obmena // Pediatrija. – 2000. – № 4. – S. 76–80.

9. *Crain R.C.* Phospholipid transfer proteins as of membrane structure and function // Subcell. Biochem. – 1990. – № 16. – P. 45–67.

10. *Комаров Ф.И., Коровкин Б.Ф., Меньшиков В.В.* Биохимические исследования в клинике. – Элиста: АПП «Джангар», 1999. – 250 с.

Komarov F.I., Korovkin B.F., Men'shikov V.V. Biohimicheskie issledovanija v klinike. – Jelista: APP «Dzhangar», 1999. – 250 s.

11. *Болдырев А.А.* Биологические мембраны. – М.: 1992. – 140 с.

Boldyrev A.A. Biologicheskie membrany. – M.: 1992. – 140 s.

12. *Болдырев А.А.* Введение в биохимию мембран. – М.: 1986. – 110 с.

Boldyrev A.A. Vvedenie v biohimiju membran. – M.: 1986. – 110 s.

13. *Попов Ю.В., Вид В.Д.* Современная клиническая психиатрия. – М.: Экспертное бюро, 1997. – С. 52–60.

Popov Ju.V., Vid V.D. Sovremennaja klinicheskaja psihiatrija. – M.: Jekspertnoe bjuro, 1997. – S. 52–60.

14. *Макаров В.К.* Особенности содержания иммуноглобулинов в сыворотке крови у бессимптомных носителей HBsAg больных алкоголизмом // Клиническая лабораторная диагностика. – 2004. – № 11. – С. 13–16.

Makarov V.K. Osobennosti soderzhanija immunoglobulinov v syvorotke krovi u bessimptomnyh nositelej HBsAg bol'nyh alkogolizmom // Klinicheskaja laboratornaja diagnostika. – 2004. – № 11. – S. 13–16.

15. *Gluckman S.J., Dvorak V.C., MacGregor R.R.* Host defenses during prolonged alcohol consumption in a controlled environment // Arch. Intern. Med. – 1977. – № 137. – P. 1539–1543.

16. *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. – V. 226. – P. 497–509.

17. *Каргаполов А.В.* Анализ липидного состава митохондриальных и эндоплазматических мембран с помощью метода

проточной горизонтальной хроматографии // Биохимия. – 1981. – № 4. – С. 691–698.

Kargapolov A.V. Analiz lipidnogo sostava mitohondrial'nyh i jendoplazmaticheskih membran s pomoshh'ju metoda protochnoj gorizontal'noj hromatografii // Biohimija. – 1981. – № 4. – S. 691–698.

18. *Макаров В.К.* Фосфолипидный спектр сыворотки крови в диагностике разных стадий комбинированного вирусно-алкогольного поражения печени // Биомедицинская химия. – 2004. – Т. 50. Вып. 50. – С. 498–501.

Makarov V.K. Fosfolipidnyj spektr syvorotki krovi v diagnostike raznyh stadij kombinirovannogo virusno-alkogol'nogo porazhenija pecheni // Biomedicinskaja himija. – 2004. – T. 50. Vyp. 50. – S. 498–501.

19. *Marsh J.B., Weinstein P.B.* Single charring methods for determination of Lipids // J. Lip. – 1966. – V. 7. – P. 574–576.

20. *Гурин В.Н.* Обмен липидов при гипертермии, гипотермии и лихорадке. Минск.: Беларусь, 1986. – 192 с.

Gurin V.N. Obmen lipidov pri gipertermii, gipotermii i lihoradke. Minsk.: Belarus', 1986. – 192 s.

21. *Кучаренко Н.Е., Васильев А.Н.* Липиды. – Киев, 1985. – 247 с.

Kucharenko N.E., Vasil'ev A.N. Lipidy. – Kiev, 1985. – 247 s.

22. *Марри Р., Греннер Д., Мейерс П., Родуэлл В.* Биохимия человека: пер. с англ. – М.: Мир, 1993. – Т. 1. разд. II. – С. 111–298.

Marri R., Grenner D., Mejers P., Rodujell V. Biohimija cheloveka: per. s angl. – M.: Mir, 1993. – T. 1. razd. II. – S. 111–298.

23. *Галлер Г., Ганефельд М., Яросс В.* Нарушение липидного обмена (диагностика, клиника, терапия): пер. с нем. Ю.И. Коршиковой. – М.: Медицина, 1979. – 335 с.

Galler G., Ganefel'd M., Jaross V. Narushenie lipidnogo obmena (diagnostika, klinika, terapija): per. s nem. Ju.I. Korshikovoj. – M.: Medicina, 1979. – 335 s.

Левенцова Анастасия Евгеньевна (контактное лицо) – ассистент кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии ТГМА. Тел. 8-920-687-70-67; e-mail: lev.ana.evg-69@mail.ru