

## Аннотация

### I. Паспортная часть

1. **Название:** Молекулярно-генетические и клинико-патофизиологические механизмы нарушений микроциркуляции при алкоголизме и алкогольных психозах с учетом прогнозирования тяжести алкогольной болезни мозга.
2. **Научная платформа:** психиатрия и зависимости.
3. **Руководитель проекта:** Сахаров Анатолий Васильевич; д.м.н., профессор кафедры психиатрии, наркологии и медицинской психологии ГБОУ ВПО ЧММА.

### II. Актуальность исследования

В настоящее время неблагоприятная демографическая ситуация в нашей стране обусловлена высокой смертностью населения, при этом около трети всех смертей в России в большей или меньшей степени связаны с алкоголем (Немцов А.В., 2003; Говорин Н.В., Сахаров А.В., 2012). Поэтому алкогольной тематике уделяется значительный интерес, особенно соматическим, неврологическим и психическим последствиям алкоголизации.

В последнее десятилетие укрепилось выделение такой самостоятельной нозологической формы, как «алкогольная болезнь», включающей 3 этапа развития хронической алкогольной интоксикации. Первый – стадия эпизодической алкогольной интоксикации, второй – стадия пьянства, третий – стадия алкоголизма и его осложнений (Моисеев В.С. и др., 1998; Пауков В.С., Угрюмов А.И., 1998; Пауков В.С., 2007). Т.е. зависимость от алкоголя стала рассматриваться в рамках более широкого понятия, которое включает в себя не только длительные повторяющиеся интоксикации этанолом и формирование зависимости от данного вещества, но и возникновение характерных структурных изменений в органах и системах организма, что сопровождается соответствующей клинической симптоматикой (Угрюмов А.И., 1992). При этом главной мишенью для алкоголя является центральная нервная система: острая или хроническая интоксикация вызывает структурные и функциональные нарушения мозга, а также приводит к органическим изменениям (Даренский И.Д., 2008). Поэтому также принято говорить об алкогольной болезни головного мозга, которая представляет собой церебральные нарушения вследствие злоупотребления алкоголем, характеризующиеся выраженным клиническим многообразием и проявляющиеся психопатологической и неврологической симптоматикой (Сиволоп Ю.П., 2006-2012). Основными клиническими

формами алкогольной болезни мозга являются когнитивные нарушения, алкогольные энцефалопатии и слабоумие, металкогольные психозы и судорожные припадки.

Стоит отметить, что кровеносные сосуды, особенно микроциркуляторное русло, страдают при злоупотреблении алкоголем в первую очередь, так как осуществляют транспорт алкоголя ко всем органам. Возникающие нарушения микроциркуляции, приводящие к структурным изменениям в органах при алкогольной болезни подробно описаны патологоанатомами (Пауков В.С. и др., 1998-2007). Глубокие и прогрессирующие изменения развиваются уже в стадии «пьянства» – происходит замедление скорости кровотока, острое повреждение эндотелия и распространение очагов фибриноидного некроза сосудистых стенок, развивается гипоксия (Шорманов С.В., 2004). В дальнейшем прогрессирует хроническая гипоксия, являющаяся стимулом для активации фибробластов и развития склеротических изменений в органах, происходит повреждение гематоэнцефалического барьера и прогрессирующая гибель нейронов. При алкоголизме морфологические изменения в подавляющем большинстве уже необратимы. Особенно выражены они в период развития алкогольного абстинентного синдрома и алкогольного делирия. В исследованиях сотрудников лаборатории биологии мозга Московского НИИ психиатрии (Узбеков М.Г. и др., 2006) установлены острые и хронические изменения сосудов при данных состояниях, которые свидетельствуют о тяжелых хронических нарушениях проницаемости сосудистых стенок.

Сформировавшись в последние годы представления о механизмах повреждающего действия алкоголя изложены в работах В.В. Афанасьева (2002). Описаны глубокие нарушения метаболизма (энергетического, жирового, белкового); нейромедиаторных взаимодействий; регуляции рецепторного аппарата клеток и их ферментативных систем. При этом продукты биотрансформации этанола (в том числе ацетальдегид) превосходят по токсичности исходное вещество. Они усугубляют нарушение энергетических процессов, вступая во взаимодействие с белками плазмы, форменными элементами крови, нарушают их структурную организацию и функциональную активность. Происходит нарушение микроциркуляции (системный капилляротоксикоз), повышается проницаемость гематоэнцефалического барьера, а также каскад метаболических расстройств, развитие гипоксиподобного состояния.

При острой алкогольной интоксикации описаны нарушения гемодинамики, наиболее тяжелой формой которых является экзотоксический шок (Билибин Д.П., Дворников В.Е., 1990). Совокупность нарушений микроциркуляции обуславливает развитие циркуляторной гипоксии, что определяет течение и исход шокового состояния (Лужников Е.А. и др., 2001). При синдроме отмены алкоголя с делирием также

установлены нарушения гемодинамики, подобные шоковому процессу. При этом хроническая алкогольная интоксикация может осложняться развитием шоковой реакции без предшествующих видимых соматических заболеваний (Галанкин Л.Н., Ливанов Г.А., 2004). Л.Н. Галанкин и соавт. (2004) описали нарушения микроциркуляции с помощью капилляроскопии сосудов конъюнктивы у больных с алкогольным делирием. Кроме того, состояние стресс-ответа организма на отмену алкоголя характеризуется резким усилением тонуса симпатoadреналовой системы, гиперфункцией надпочечников, нарастающим выбросом катехоламинов. Все это усугубляет кислородное голодание тканей, выброс активных веществ приводит к тотальной вазоконстрикции, нарушению микроциркуляции и, как следствие, к гипоксии мозга и других органов. Если эти проявления чрезмерны по силе или продолжительности, то происходят глубокие нарушения метаболизма, развиваются те или иные осложнения или смерть (Афанасьев В.В., 2002).

Несмотря на значимость представленной информации, точные патофизиологические механизмы нарушений микроциркуляции, повышения проницаемости гематоэнцефалического барьера, а также развития алкогольной болезни мозга и алкогольной висцеропатии при злоупотреблении спиртными напитками по-прежнему не установлены (Tijen Utkan et al., 2001). Имеющиеся публикации в отечественной и зарубежной литературе по этой проблеме единичны.

Так, при острой алкогольной интоксикации установлено повышение концентрации эндотелина-1 в плазме крови в 2 раза через пять часов после приема спиртного (Kaku B. et al., 1999), хотя этого не происходит при употреблении некоторых алкогольных напитков, например, красного вина (Charalambos Vlachopoulos et al., 2003; Kiviniemi et al., 2010). В тоже время низкие концентрации алкоголя вызывают увеличение выхода оксида азота (NO) из эндотелия сосудов за счет активации и экспрессии NO-синтазы (NOS), а применение высоких концентраций этанола или его хронический прием снижает синтез NO (Amel Karaa et al., 2005; Toda N., Ayajiki K., 2010; Rajesh K. Davda et al., 2014).

У больных алкоголизмом, в сравнении со здоровыми, зарегистрировано повышение в сыворотке крови молекул клеточной адгезии ICAM-1 и E-селектина, в то время как VCAM-1 было одинаковым в обеих группах (Sacanella F. et al., 1999; Bertola A. et al., 2013). В отечественных исследованиях при синдроме зависимости от алкоголя выявлено повышение уровня оксида азота и эндотелина-1 у 76,5 % пациентов, у 8,8 % больных одновременно снижение уровня оксида азота и эндотелина-1, у 5,9 % больных снижен уровень оксида азота и повышен эндотелин-1 (Корякин А.М. и др., 2011). В период алкогольной абстиненции выявлены нарушения в системе сосудисто-тромбоцитарного

гемостаза, выражающиеся в повышенной агрегации тромбоцитов (Gonzalez-Quintera A. et al., 1999).

В тоже время сформировалась гипотеза об алкогольной болезни как о нейроиммунопатологическом синдроме (Давыдова Т.В., 1994; Черенько В.Б., 1994; Бохан Н.А., 1997). В ряде работ было показано, что при хронической алкогольной интоксикации на фоне нейротенного иммунодефицита развивается аутоиммунное состояние с повышением уровня противомозговых антител в ответ на выброс аутоантигенов в результате тканевой деструкции (Давыдова Т.В., 1994; Даренский И.Д., 1998; Шорманов С.В., Шорманова П.С., 2006; Евсеев В.А., 2007). Проводились исследования по изучению роли аутоантител к белку S-100 при алкоголизме (Полетаева А.Б., 2003; Андрианов В.В., 2003; Эпштейн О.И., 2007). Так, по современным представлениям уже низкие концентрации алкоголя вызывают развитие воспалительного процесса в мозге и глиальные клетки повышают продукцию цитокинов и медиаторов воспаления, вовлекаются в механизмы повреждения мозга (Davis R.L. et al., 2002; Lee H et. Al., 2004; Blanco A.M., Guerri C., 2007).

В научных исследованиях, проведенных в Читинской государственной медицинской академии, было установлено следующее. Обнаружено, что во время делириозного помрачения сознания происходит повышение концентрации аутоантител к белку S-100 и отмечается дальнейший их рост после устранения болезненных расстройств. Аналогичные изменения наблюдаются и в ликворе на высоте алкогольного делирия (Цыбикова Е.А., 2008). Было выявлено, что у больных алкоголизмом с пароксизмальными судорожными расстройствами и типичным делирием в структуре синдрома отмены алкоголя содержание цилиарного нейротрофического фактора (CNTF) в крови повышается, а при тяжелых психозах – снижается. При этом содержание аутоантител к CNTF в крови и ликворе при алкоголизме зависит от остроты патологического процесса и давности органического процесса (Шаманская М.Г., 2009). Результаты другой работы (Березкин А.С., 2009) позволяют говорить о выраженном дисбалансе в системе перекисное окисление липидов / антиоксидантная защита. Усиленные свободнорадикальные процессы приводят к повышению проницаемости гематоэнцефалического барьера и образованию аутоантител к нейроспецифическим белкам. Ситуацию осложняет имеющаяся у больных выраженная недостаточность нейрорепарационных и нейропластических процессов, что подтверждается крайне низкой концентрацией нейротрофического фактора.

При этом работ по углубленному изучению данных аутоиммунных нарушений, процессов нейродеструкции-нейрорепарации при алкоголизме, особенно в связи с

нарушениями микроциркуляции на сегодня явно недостаточно. Перспективным направлением изучения патогенеза алкоголизма и алкогольных психозов является поиск специфических биологических маркеров, которые позволили бы прогнозировать исход заболевания, возможное развитие когнитивных нарушений или слабоумия, проявлений алкогольной висцеропатии. Исходя из вышеизложенного, данный вопрос вызывает не только теоретический интерес, но и весьма важен для клинической практики. Между тем, именно доказательство патогенетического воздействия хронической алкоголизации остается одним из перспективных направлений в таких исследованиях (Моисеев В.С. и др., 1998).

Таким образом, алкоголь-индуцированное повреждение эндотелия или отсутствие этого процесса может быть связано с синтезом или действием несколько маркеров, таких как оксид азота, кортизол, эндотелин-1, адгезивные молекулы, фактор некроза опухоли альфа, интерлейкин-6, С-реактивный белок и гемостатические факторы. При этом установлено, что существует генетическая и фенотипическая гетерогенность ответа на алкоголь (Paulo F.D. et al., 2007). Так, выявлено различие между представителями европейской и африканской расы в отношении последствий злоупотребления алкоголем (Fuchs et al., 2004; Steffens et al., 2006). В связи с этим, перспективным является поиск у больных алкоголизмом и алкогольными психозами полиморфизмов генов молекул, отвечающих за сосудистую регуляцию, таких как эндотелин-1 EDN1 (Lys198Asn), синтазы окиси азота NOS (C786T), эндотелиального фактора роста сосудов VEGFA (C634G), ангиотензиногена AGT (Met235Thr), молекулы межклеточной адгезии ICAM-1 (Lys469Glu и Gly241Arg), молекулы адгезии сосудистого эндотелия VCAM-1 (rs1041163 и rs3170794), Е-селектина sE-selectin (A561C). Подобных исследований еще не проводилось.

Следовательно, в настоящее время остаются не разработанными механизмы нарушений микроциркуляции при алкоголизме и алкогольных психозах, не проведено изучение генетического полиморфизма молекул сосудистой регуляции, не оценена их роль во взаимосвязи с процессами нейродеструкции-нейрорепарации, не определено их клинико-прогностическое значение для оценки развития и тяжести алкогольной болезни мозга. Решение указанных задач создаст перспективы для создания новых, патогенетически обоснованных подходов к лечению данной патологии.

### **III. Цель работы**

Изучение молекулярно-генетических и клинико-патофизиологических механизмов нарушений микроциркуляции при алкоголизме и алкогольных психозах с учетом прогнозирования тяжести алкогольной болезни мозга.



#### IV. Задачи исследования

1. Оценить состояние микроциркуляции у пациентов с алкогольной зависимостью (включая алкогольный абстинентный синдром и алкогольный делирий) методом лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) в динамике в процессе терапии.
2. Изучить уровень оксида азота (NO), концентрацию эндотелина-1 (EDN1), фактора фон Виллебранда (vWF), эндотелиального фактора роста сосудов (VEGFA), адгезивных молекул (ICAM-1, VCAM-1, sE-selectin) у больных алкоголизмом, в том числе в динамике при лечении.
3. Изучить генетический полиморфизм молекул сосудистой регуляции EDN1 (Lys198Asn), NOS (C786T), VEGFA (C634G), ICAM-1 (Lys469Glu и Gly241Arg), VCAM-1 (rs1041163 и rs3170794), sE-selectin (A561C) у больных алкоголизмом.
4. Сравнить содержание в плазме крови у пациентов с синдромом зависимости от алкоголя оксида азота (NO), эндотелина-1 (EDN1), фактора фон Виллебранда (vWF), эндотелиального фактора роста сосудов (VEGFA), адгезивных молекул (ICAM-1, VCAM-1, sE-selectin) с учетом генотипов молекул сосудистой регуляции и их сочетаний.
5. Исследовать агрегационную функцию тромбоцитов, изучить лимфоцитарно-тромбоцитарную адгезию у пациентов с алкогольной зависимостью.
6. Оценить показатели нейродеструкции и нейрорепарации (глиальный фибриллярный кислый протеин (GFAP), нейронспецифическая енолаза (NSE), мозговой нейротрофический фактор (BDNF)) у больных алкоголизмом (включая алкогольный абстинентный синдром и алкогольный делирий) в динамике при лечении.
7. Оценить вегетативный статус у больных алкогольной зависимостью, провести исследование когнитивных функций у пациентов, в том числе в динамике в процессе терапии.
8. Изучить взаимосвязи между состоянием микроциркуляции, эндотелиальными факторами, системой нейродеструкции-нейрорепарации и клинико-психопатологическими характеристиками заболевания.
9. Определить прогностическую роль изученных показателей в развитии нарушений микроциркуляции при алкоголизме с учетом тяжести алкогольной болезни мозга.

#### V. Объект исследования

1. Пациенты, госпитализированные в ГУЗ «Краевой наркологический диспансер» Забайкальского края с алкогольной зависимостью (F 10.2), включая алкогольный

абстинентный синдром (F 10.3xx) и алкогольный делирий различной степени тяжести (абортивный, типичный, тяжелопротекающий) (F 10.4x) (до и после терапии); в возрасте не старше 40 лет, не имеющие вирусных гепатитов, цирроза печени, заболеваний сердца, гипертоническую болезнь и симптоматические артериальные гипертензии, эндокринную патологию, злокачественные новообразования. ХОБЛ с дыхательной недостаточностью, хроническую почечную и печеночную недостаточность, воспалительные заболевания любой этиологии (острые, хронические в стадии обострения).

2. Группа контроля – здоровые лица.

## **VI. Методы исследования и используемые средства**

1. Оценка клинической картины, согласно критериям МКБ-10.
2. Исследование вегетативного статуса с помощью объективного осмотра, анкетирование с использованием вопросника Вейна А.М., с последующим расчетом вегетативных показателей: индекса Кердо и минутного объема крови непрямым способом Лилль-Питрандера и Цандера.
3. Исследование когнитивных функций при помощи Монреальской шкалы оценки когнитивных функций (MoCA). Она оценивает различные когнитивные сферы: внимание и концентрацию, исполнительные функции, память, язык, зрительно-конструктивные навыки, абстрактное мышление, счет и ориентацию.
4. Изучение микроциркуляции неинвазивным методом лазерной доплеровской флоуметрии при помощи лазерного анализатора кровотока «ЛАКК-02» с компьютерным интерфейсом (ППП «ЛАЗМА», Москва).
5. Исследование уровня оксида азота (NO), эндотелина-1 (EDN1), фактора фон Виллебранда (vWF), эндотелиального фактора роста сосудов (VEGFA), адгезивных молекул (ICAM-1, VCAM-1, sE-selectin) с помощью метода иммуноферментного анализа (ИФА).
6. Исследование агрегационной функции тромбоцитов с помощью двуканального лазерного анализатора агрегации тромбоцитов «Биола».
7. Изучение лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии по Витковскому Ю.А.
8. Исследование генетического полиморфизма молекул сосудистой регуляции EDN1 (Lys198Asn), NOS (C786T), VEGFA (C634G), ICAM-1 (Lys469Glu и Gly241Arg), VCAM-1 (rs1041163 и rs3170794), sE-selectin (A561C) методом аллель-специфической полимеразной цепной реакции (ПЦР) с электрофоретической детекцией среди представителей русской этнической группы Забайкальского края.

9. Изучение содержания глиального фибриллярного кислого протеина (GFAP), нейронспецифической еполазы (NSE), мозгового нейротрофического фактора (BDNF) с помощью метода ИФА.
10. Статистическая обработка полученных результатов с помощью пакета прикладных статистических программ Statistica-6.0 (StatSoft) и электронных таблиц Excel для Windows (Microsoft).

## **VII. Комплексирование с другими учреждениями**

1. ГУЗ «Краевой наркологический диспансер» Забайкальского края.
2. НИИ Молекулярной Медицины ГБОУ ВПО ЧГМА.

## **VIII. Годовые этапы исследования**

1. 2014-2015 год.
  - клиническое и лабораторно-инструментальное обследование пациентов, госпитализированных в отделения ГУЗ КНД согласно предполагаемым методам исследования.
  - начало статистического анализа собранных данных.
  - оформление и публикация печатных работ.
2. 2016 год.
  - Продолжение клинического и лабораторно-инструментального обследования пациентов и здоровых лиц согласно предполагаемым методам исследования.
  - статистический анализ собранных материалов.
  - оформление и публикация печатных работ.

## **IX. Научный коллектив**

Сахаров Анатолий Васильевич; д.м.н., профессор кафедры психиатрии, наркологии и медицинской психологии ГБОУ ВПО ЧГМА.

Говорин Николай Васильевич; д.м.н., профессор, заслуженный врач РФ, заведующий кафедрой психиатрии, наркологии и медицинской психологии ГБОУ ВПО ЧГМА.

Тарасова Ольга Александровна; к.м.н., ассистент кафедры психиатрии, наркологии и медицинской психологии ГБОУ ВПО ЧГМА.

Болванов Артур Иванович; клинический ординатор кафедры психиатрии, наркологии и медицинской психологии ГБОУ ВПО ЧГМА.

Гольгина Светлана Евгеньевна; клинический ординатор кафедры психиатрии, наркологии и медицинской психологии ГБОУ ВПО ЧГМА.



Ильяскина Елена Владимировна: клипический ординатор кафедры психиатрии, наркологии и медицинской психологии ГБОУ ВПО ЧГМА.

#### **X. Финансовая модель**

Планируемая потребность – 860.000 рублей на реактивы, 140.000 рублей – расходные материалы, накладные и общехозяйственные расходы.

#### **XI. Конкурентные преимущества проекта**

Приоритетным в работе должно стать комплексное изучение нарушений микроциркуляции при алкоголизме (включая алкогольный абстинентный синдром и алкогольный делирий) и их изменение в процессе терапии; а также исследование взаимосвязей между состоянием микроциркуляции, эндотелиальными факторами, системой нейродеструкции-нейрорегенерации и клинико-психопатологическими характеристиками заболевания. Изучение генетического полиморфизма молекул сосудистой регуляции позволит обнаружить те аллельные варианты, которые предрасполагают к развитию нарушений микроциркуляции при алкоголизме, повреждению гематоэнцефалического барьера и развитию алкогольной болезни мозга. Это определит прогностическую роль изученных показателей в развитии нарушений микроциркуляции при алкоголизме с учетом тяжести алкогольной болезни мозга, и будет способствовать разработке патогенетически обоснованных принципов терапии данного заболевания.

#### **XII. Инновационность**

Решение запланированных задач откроет перспективы для создания новых, патогенетически обоснованных подходов к лечению алкоголизма и алкогольных психозов; полученные специфические биологические маркеры позволят прогнозировать исход заболевания, возможное развитие когнитивных нарушений или слабоумия.

#### **XIII. Информация о публикациях и грантах**

**Список работ, опубликованных по теме исследования за последние 3 года:**

1. Сахаров А.В. Алкоголизация населения и смертность от соматических заболеваний в Забайкальском крае // Неврологический вестник, Т. XLIV, Вып. 2. – Казань, 2012. – С. 95-97.
2. Сахаров А.В., Говорин Н.В. Диагностика алкогольных расстройств в соматическом стационаре: методические рекомендации. – Чита: РИЦ ЧГМА, 2012. – 42 с.

3. Сахаров А.В., Говорин П.В. Гендерные различия лиц с алкогольной зависимостью, госпитализированных в наркологический стационар по поводу синдрома отмены // Сибирский вестник психиатрии и наркологии. – 2014. – № 1 (82). – С. 28-32.

4. Сахаров А.В., Говорин П.В., Дымбрылова Ц.Ц. Течение корсаковского психоза в зависимости от варианта предшествующего синдрома отмены алкоголя // Наркология. – 2014. – № 8. – С. 58-61.

5. Сахаров А.В., Говорин П.В., Бодванов А.И. Состояние микроциркуляции крови у больных алкоголизмом с несложненным синдромом отмены алкоголя // Вопросы наркологии. – 2014. – № 4. – С. 64-69.

6. Сахаров А.В., Говорин П.В., Викулова Е.А. Состояние когнитивных функций у больных алкоголизмом при разных вариантах синдрома отмены алкоголя // Наркология. – 2014. – № 9.

**Гранты:** Подана заявка на грант Президента РФ 2015.

д.м.н., профессор кафедры  
психиатрии, наркологии и  
мед. психологии ЧитГМА



/ А.В. Сахаров /