

Динамика клинико-биохимических показателей крови больных алкоголизмом в период абстиненции и формирования ремиссии

ВОСТРИКОВ В.В.
ПАВЛЕНКО В.П.
ШАБАНОВ П.Д.

к.м.н., зав. отделением Ленинградского областного наркологического диспансера, Санкт-Петербург
к.м.н., ассистент кафедры психиатрии Военно-медицинской академии им. С.М.Кирова, Санкт-Петербург
д.м.н., профессор, зав. кафедрой фармакологии
Военно-медицинской академии им. С.М.Кирова, Санкт-Петербург

У больных алкоголизмом в период абстиненции и в состоянии ремиссии выявляются устойчивые и повторяющиеся биохимические признаки заболевания: снижение содержания ГАМК, умеренные колебания активности МАО-В и уровней аутоантител к NMDA-рецепторам и их субъединице NR2A в сыворотке крови. Степень биохимических изменений у больных алкоголизмом зависит от состояния пациента и времени воздержания от употребления алкоголя. При алкогольном абстинентном синдроме изменения более выражены, чем в процессе формирования ремиссии. Перенесенный острый психоз или судорожные припадки более значимо сказываются на изменениях исследованных показателей. В процессе становления ремиссии, охватывающем около 1 года, изменения в системе ГАМК, МАО-В, а также аутоантител к глутаматным рецепторам сохраняются, что создает предпосылки для лабораторного использования этих показателей как биохимических маркеров состояния пациента.

Нейробиологические исследования алкогольной зависимости затрагивают в основном молекулярные, клеточные и поведенческие аспекты действия этанола на головной мозг. Доказано, что даже небольшие дозы этанола изменяют специфическую активность регуляторных белков мембран, участвующих в передаче нервного импульса в ряде нейромедиаторных систем, таких, как дофамин-, ГАМК-, глицин-, глутаматергических, в последнем случае в их эффект вовлекаются N-метил-D-аспаратный (NMDA) подтип глутаматных рецепторов [1, 2, 7, 8, 18]. Нейромедиаторные системы также активно задействованы в формировании и поддержании патологической зависимости и развитии толерантности.

Анализ результатов нейробиологических исследований позволяет сделать вывод о принципиальном единстве центральных механизмов зависимости от этанола и опиатов [3, 9, 11, 13]. Значительная роль в патогенезе как алкоголизма, так и других видов наркомании (например, опиоидной) отводится различным нарушениям именно нейробиологических процессов [2, 10, 15, 17, 19]. Учитывая, что изменения нейромедиации являются основным звеном формирования зависимости, можно предположить, что именно среди этих систем и на этом уровне следует вести поиск нарушений, которые можно квалифицировать как своеобразные биохимические маркеры зависимости. Поиск таких маркеров традиционно ведется среди четырех основных нейромедиаторных систем: дофамин-, опиоид- [3, 10, 12], ГАМК- [15, 16] и глутаматергической [4, 7, 14]. Несмотря на интенсивные исследования в области поиска нейробиологических и молекулярных коррелятов действия наркотических средств, до сих пор нет достаточно простых, объективных и легко воспроизводимых тестов для оценки состояния пациента в той или иной стадии заболевания алкогольной зависимостью.

Целью настоящего исследования стало выяснение роли основных нейромедиаторных систем (дофамин-, ГАМК-, глутамат- и опиоидергической) в патогенезе алкогольной зависимости в остром периоде и в состоянии ремиссии у человека.

Материал и методы исследования

Было обследовано 117 больных алкоголизмом, госпитализированных в клинику Ленинградского областного наркологического диспансера в 1995—2003 гг. В исследование были включены пациенты мужского пола в возрасте от 18 до 44 лет. Контрольную группу составили 58 здоровых испытуемых, мужчин в возрасте 30—35 лет, не употребляющих транквилизаторов, наркотических и седативных средств, не злоупотребляющих алкоголем и опиатами и не имеющих в анамнезе черепно-мозговых травм (ЧМТ).

Исследования проводили в острый период (состояние абстиненции) и в период ремиссии. В группы больных алкоголизмом и наркоманией были включены пациенты с алкогольным абстинентным синдромом (ААС) средней степени тяжести. Состояние ремиссии констатировали на основании отсутствия в крови и моче алкоголя, каталитических данных и бесед с родственниками. Также в группу исследуемых включали пациентов, направленных на обследование в связи с призывом в ряды Вооруженных сил РФ (направление военкомата), на период обследования не получившие лечения.

Методы клинического обследования больных алкоголизмом

Для постановки клинического диагноза у больных анализировали анамнестические сведения (анамнез жизни, перенесенные и сопутствующие заболевания, наркологический анамнез) и результаты объективного осмотра (неврологический и соматический статусы, осмотр терапевта и невропатолога). Всем больным проводили стандартное клинико-лабораторное обследование: клинический и биохимический (активность аланин- и аспартатаминоотрасфераз, содержание мочевины, С-реактивного белка) анализы крови, общий анализ мочи и кала. Данные перенесенного гепатита подтверждались выявлением носительства австралийского антигена (HBsAg). Для исключения острой патологии сердечно-сосудистой системы регистрировали ЭКГ. Больным алкоголизмом проводили психологическое обследование по тесту мотиваций по-

ребления алкоголя. Для стандартизации оценки анамнестических данных, состояния больного и результатов обследования применяли "Карту осмотра наркологического больного", разработанную в Ленинградском областном наркологическом диспансере. Здесь же указывали на день исследования показатели гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК), активность моноаминоксидазы типа В (МАО-В), уровень титра аутоантител к глутаматным рецепторам. Исследование соматического состояния, биохимических показателей и уровня титра аутоантител проводили на 1-, 5-, 10-, 20- и 30-й дни после поступления и у пациентов в состоянии ремиссии. Указанные параметры регистрировали непосредственно перед забором анализа крови из локтевой вены утром, натощак.

Из исследования исключали пациентов с психотическими заболеваниями, не связанными с наркологической патологией, и пациентов с острым соматическим состоянием (острый инфаркт миокарда, инсульт, острое состояние после ЧМТ, грипп, острая респираторно-вирусная инфекция и т.п.).

Характеристика групп больных алкоголизмом

В процессе обследования на основании наркологического анамнеза и психологического тестового обследования (тест мотивации потребления алкоголя), устанавливали диагноз и стадию заболевания. В группы исследования методом случайной выборки отбирали больных II стадией алкоголизма (с сформированной зависимостью по МКБ-10), которые были разделены на несколько подгрупп:

- 1) общая (сводная) группа больных алкоголизмом;
- 2) больные алкоголизмом в ремиссии:
 - имеющие в анамнезе психозы;
 - имеющие в анамнезе судорожные припадки;
- 3) больные алкоголизмом в ААС;
- 4) больные алкоголизмом в ААС с психотическими проявлениями.

Группы больных статистически достоверно не различались между собой по возрасту, длительности заболевания и алкогольных эксцессов (запоев), длительности светлых промежутков, давностью формирования абстинентного синдрома и толерантности. С первого дня поступления все больные в состоянии ААС получали стандартную детоксикационную терапию.

Сроки забора материала на исследование

Для исследования показателей уровня аутоантител к глутаматным рецепторам у пациентов и в контрольной группе забирали около 1 мл крови из вены, центрифугировали при комнатной температуре и получали сыворотку, которую хранили при температуре -20 — -70 С до времени анализа.

Биохимические методы исследования обмена нейромедиаторов и уровня аутоантител к NMDA-рецепторам

Определение концентрации ГАМК проводили на спектрофлуориметре "Люминал" при использовании волн 380 и 450 нм на основании оценки концентрации образования флуоресцентного продукта между ГАМК и нингидрином при щелочном pH в присутствии глутаминовой кислоты [6, 7]. Для определения моноаминоксидазной активности тромбоцитов (МАО-В) сначала выделяли взвесь тромбоцитов. Определение активности МАО-В тромбоцитов проводили по методу О. Н. Волошиной и Т. А. Москвитиной [6, 7]. Уровень аутоантител к глутаматным рецепторам определяли с помощью набора "Эпитест" (Россия) согласно инструкции. Набор реагентов теста предназначен для полуколичественного иммуоферментного определения содержания аутоантител к синтетическому фрагменту глутаматсвязывающего белка (ГМБ) головного мозга человека в сыворотке крови. Сорбция синтетического фрагмента ГМБ на поверхности полистиролового планшета позволяет избирательно извлекать аутоантитела из сыворотки крови. Образовавшийся комплекс антиген—антитело выявляется с помощью вторых антител против иммуноглобулинов человека, конъюгированных с пероксидазой. Уровень аутоантител к ГМБ оценивается по изменению окраски субстратной смеси, регистрируемой с помощью спектрофотометра вертикального сканирования при длине волны 492 нм [7].

Результаты и их обсуждение

В первой серии исследований оценивали биохимические показатели крови больных алкоголизмом в острой стадии заболевания (ААС) и в ремиссии. Данные представлены в табл. 1.

Таблица 1

Содержание ГАМК, активность МАО-В и уровень аутоантител к NMDA-рецепторам у больных алкоголизмом в разные сроки ААС и периода становления ремиссии

Показатель	Содержание ГАМК, нмоль (n=19)	Активность МАО-В (n=27)	Уровень аутоантител к глутаматным рецепторам (n=16)	Уровень аутоантител к NR2A-субъединице (n=18)
Контроль, n=29 (здоровые добровольцы)	52,6 1,1	84,5 3,2	0,49 0,02	0,16 0,01
1-й день	38,1 3,1***	74,7 3,4	0,5 0,06	0,14 0,02
5-й день	42,0 4,4*	77,9 2,9	0,5 0,05	0,14 0,02
10-й день	38,7 4,1**	82,8 3,8	0,5 0,04	0,14 0,02
20-й день	38,7 3,5***	83,5 4,4	0,43 0,07	0,14 0,02
30-й день	40,4 2,2***	81,7 3,3	0,41 0,07	0,14 0,02
40-й день	44,2 8,0	81,4 3,4	0,56 0,21	0,14 0,02
45-й день	45,8 11,5	81,8 3,3	Нет	Нет

Примечание. * — p<0,05; ** — p<0,01; *** — p<0,001 по отношению к контрольной группе.

Из табл. 1 видно, что в наибольшей степени меняется содержание ГАМК в крови. В острый период ААС и в период становления ремиссии содержание нейромедиатора уменьшается на 50—30%, восстанавливаясь до контрольных значений лишь к 40—45-му дню. Другие исследованные показатели при этом существенно не меняются. Наиболее стабильными были уровни аутоантител к глутаматным рецепторам и их субъединице NR2A. В активности MAO-B отмечена лишь тенденция (недостовверная статистически) к снижению активности фермента в первую неделю ААС.

Если у больных в период ААС развивался острый психоз, проявлявшийся главным образом галлюцинаторным синдромом, то уровень ГАМК снижался существенно (как правило, более чем в 2 раза, а на 3-й день — более чем в 3 раза), оставаясь сниженным в течение всего периода наблюдения (1,5 мес). Активность MAO-B менялась незначительно с общей тенденцией к снижению. Только на 30-й день регистрировали умеренное повышение ак-

тивности фермента. Уровни аутоантител к NMDA-рецепторам не менялись. При этом уровни аутоантител к субъединице NR2A глутаматного рецептора умеренно снижались, что указывает на их меньшую стабильность при хронической алкогольной интоксикации, сопровождающейся галлюцинозом.

Таким образом, в целом картина изменений при алкоголизме, осложненном острым психозом, совпадает с таковой при ААС, однако степень этих изменений более выражена у психотических больных.

В период становления ремиссии (в наших исследованиях этот период изучали от 1 до 13 мес.) отмечали более мозаичное изменение исследованных показателей. Так, наиболее лабильным показателем остается содержание ГАМК, которое в течение всего периода наблюдений (более 1 года) у больных алкоголизмом было пониженным. Степень этого понижения составляла от 15 до 40% от уровня здоровых добровольцев (табл. 2).

Таблица 2

Содержание ГАМК, активность MAO-B и уровень аутоантител к NMDA-рецепторам у больных алкоголизмом в период становления ремиссии

Время ремиссии, мес	Содержание ГАМК, нг/мл	Активность MAO-B	Уровень аутоантител к глутаматным рецепторам	Уровень аутоантител к NR2A-субъединице
Контроль, n=27 (здоровые добровольцы)	57,5 12,1	84,5 3,2	0,49 0,02	0,16 0,01
1 мес	35,6 2,6***	79,9 2,4	0,51 0,08	0,16 0,02
1,5 мес	37,7 4,7**	81,2 2,6	0,50 0,12	0,15 0,03
2 мес	38,8 4,9**	79,9 3,8	0,52 0,09	0,18 0,03
2,5 мес	46,1 4,9	98,8 10,2	0,52 0,05	0,08 0,05*
3 мес	33,2 4,4***	76,1 4,9	0,60 0,07	0,24 0,05
3,5 мес	37,5 6,6**	87,1 4,7	0,51 0,04	0,12 0,03
4 мес	37,7 16,8**	78,4 10,9	0,57 0,05	0,11 0,04
5 мес	36,4 9,8**	71,8 6,1	0,49 0,20	0,13 0,02
5,5 мес	40,7 10,2*	69,7 10,5	0,36 0,10*	0,20 0,05
6 мес	46,4 11,1	80,9 8,0	0,48 0,03	0,19 0,07
7 мес	34,7 2,9*	95,1 21,6	0,57 0,29	0,22 0,23
8 мес	48,6 6,6	83,3 3,9	0,67 0,2	0,17 0,09
9 мес	46,4 10,2	73,6 11,0	0,58 0,30	0,24 0,12
10 мес	36,0 28,2	87,2 15,1	0,55 0,33	0,23 0,11
10,5 мес	55,4 8,6	63,5 8,7	0,31 0,07*	0,24 0,05
12 мес	55,7 3,0	77,2 0,0	0,42 0,13	0,24 0,10
12,5 мес	48,9 5,9*	80,2 2,9	0,25 0,10**	0,05 0,03**
13 мес	43,2 23,3	89,3 10,5	0,33 0,20	0,09 0,06
Всего, n=117	42,9 3,8*	80,6 1,6	0,56 0,05***	0,16 0,01

Примечание. * — p<0,05; ** — p<0,01; *** — p<0,001 по отношению к контрольной группе.

Таблица 3

Содержание ГАМК, активность MAO-B и уровень аутоантител к NMDA-рецепторам у больных алкоголизмом, перенесших в анамнезе алкогольный психоз или приступы судорожных припадков, в период формирования ремиссии

Показатель	Содержание ГАМК, нг/мл	Активность MAO-B, нмоль/мл/ч	Уровень аутоантител к глутаматным рецепторам	Уровень аутоантител к NR2A-субъединице
Контроль, n = 39 (здоровые добровольцы)	52,6 1,1	84,5 3,2	0,49 0,02	0,16 0,01
Больные с острым психозом в анамнезе, ремиссия 4–5 мес., n = 26	34,6 2,6**	79,1 3,1	0,43 0,05	0,14 0,01
Больные с судорожными припадками в анамнезе, ремиссия 1,5–2 мес., n = 9	20,0 8,5***	74,8 25,9	0,84 0,18*	0,16 0,09

Примечание. * – p<0,05; ** – p<0,01; *** – p<0,001 по отношению к контрольной группе.

Приблизительно в диапазоне 10–25% колебалась активность MAO-B, что указывает на относительно стабильный характер этого показателя. Напротив, уровень аутоантител к NMDA-рецепторам несколько повышался (с 0,49 0,02 у здоровых испытуемых до 0,56 0,05 у больных алкоголизмом, n=117, p<0,001). При этом в процессе становления ремиссии регистрировали как повышение (по основным исследуемым срокам), так и умеренное снижение (5,5 мес., 10,5–13 мес.) показателя, т.е. динамика изменений была разнонаправленной. В противоположность этому, средний уровень аутоантител к субъединице NR2A глутаматного рецептора не менялся, хотя в определенные периоды становления ремиссии (2,5 мес., 3,5–5 мес. и особенно 12,5–13 мес.) уровень аутоантител был существенно ниже, чем в контроле, в другие же периоды (3 мес., 5,5–7 мес., 9–12 мес.) он повышался.

У этих пациентов в процессе формирования ремиссии (2–5 мес.) было отмечено уже наблюдавшееся нами явление снижения содержания ГАМК в крови. Уровень ГАМК при этом снижался вдвое у пациентов с острым психозом в анамнезе и в 2,5 раза с судорожными припадками. При этом, если другие показатели в группе больных с психозом не менялись, то у пациентов с припадками в анамнезе уровень аутоантител к NMDA-рецепторам повышался почти вдвое. Это соответствует результатам и других исследователей [5, 7], которые регистрировали повышение активности глутаматергической системы у лиц, страдающих эпилепсией или иными судорожными припадками.

Весьма любопытные данные были получены при изучении больных алкоголизмом, перенесших в анамнезе алкогольный психоз или приступы судорожных припадков (табл. 3).

Таким образом, у больных алкоголизмом отмечены достаточно устойчивые и повторяющиеся биохимические признаки заболевания: это снижение содержания ГАМК, умеренные колебания активности MAO-B и уровней аутоантител к NMDA-рецепторам и их субъединице NR2A в сыворотке крови. При этом степень изменений зависит от состояния пациента и времени воздержания от употребления алкоголя. При ААС изменения более выражены, чем в процессе формирования ремиссии. Перене-

сенный острый психоз или судорожные припадки более значимо сказываются на изменении исследованных показателей.

И, наконец, в процессе становления ремиссии, охватывающем около 1 года, изменения в системе ГАМК, MAO-B, а аутоантител к глутаматным рецепторам сохраняются, что создает предпосылки для лабораторного использования этих показателей как биохимических маркеров состояния пациента.

Список литературы

1. Анохина И.П. Роль опиатной системы в механизмах формирования алкогольной зависимости// *Вопр. наркологии.* — 1989. — № 3. — С. 3–11.
2. Анохина И.П. Биологические механизмы зависимости от психоактивных веществ// *Вопр. наркологии.* — 1995. — № 2. — С. 27 — 31.
3. Анохина И.П. Наследственная предрасположенность к злоупотреблению психоактивными веществами// *Психиатр. и психофармакотерапия.* — 2001. — Т. 3, № 3. — С. 59–65.
4. Белозерцева И.В., Беспалов А.Ю. Канальные блокаторы NMDA-рецепторного комплекса и толерантность к анальгетическому эффекту морфина у мышей// *Экспериментальная и клиническая фармакология болеутоляющих средств.* — СПб.: СПбГМУ, 1998. — С. 34–42.
5. Беспалов А.Ю., Звартау Э.Э. *Нейропсихофармакология антагонистов NMDA-рецепторов.* — СПб.: Невский диалект. — 2000. — 297 с.
6. Востриков В.В. Активность MAO-B, уровни ГАМК и аутоантител к глутаматным и опиатным рецепторам в крови при медикаментозном лечении больных алкоголизмом и наркоманией: Автореф. дисс. на соискание учен. степени к.м.н. — СПб., 2004. — 24 с.
7. Дамбинова С.А., Изыкенова Г.А., Сиренко В.В. и др. Фармакологическая характеристика, иммунохимическая идентификация и исследование локализации квисквалатных рецепторов головного мозга крысы и человека// *Журн. эволюц. биохим. и физиол.* — 1992. — Т. 28, № 2. — С. 201–210.
8. Драволина О.А., Беспалов А.Ю., Звартау Э.Э. Подкрепляющие свойства опиатов: нейробиология и нейрофармакология// *Героиновая наркомания: актуальные проблемы. Сб. науч. трудов/ Под ред. Э.Э. Звартау.* — СПб.: СПбГМУ, 2002. — С. 5–33.
9. Иванец Н.Н., Винникова М.А. *Героиновая зависимость.* — М.: Медпрактика-М, 2001. — 128 с.

10. Шабанов П.Д. Основы наркологии. — СПб.: Лань, 2002. — 560 с.
11. Шабанов П.Д., Калишевич С.Ю. Биология алкоголизма. — СПб.: Лань, 1998. — 272 с.
12. Шабанов П.Д., Лебедев А.А., Мещеров Ш.К. Дофамин и подкрепляющие системы мозга. — СПб.: Лань, 2002. — 208 с.
13. Шабанов П.Д., Штакельберг О.Ю. Наркомании: патопсихология, клиника, реабилитация. — СПб.: Лань, 2000. — 368 с.
14. He X.P., Patel M., Whitney K.D. et al. Glutamate receptor GluR3 antibodies and death of cortical cells// *Neuron*. — 1998. — Vol. 20, № 1. — P. 153—163.
15. Koob G.F. Drug abuse and alcoholism. Overview// *Adv. Pharmacol.* — 1998. — Vol. 42. — P. 969—977.
16. Koob G.F., Maldonado R., Stimus L. Neuronal substrates of opiate withdrawal// *Trends Neurosci.* — 1992. — Vol. 15. — P. 186—191.
17. Koob G.F., Nestler E.J. Neurobiology of drug addiction// *J. Neuropsych. and Clin. Neurosci.* — 1997. — Vol. 9, №3. — P. 482—429.
18. Le A.D., Kiiama K., Cunningham C.L. et al. Neurobiological processes in alcohol addiction// *Alcohol. Clin. Exp. Res.* — 2001. — Vol. 25, Suppl. 5. — P. 144—151.
19. Morrow A.L., VanDoren M.J., Penland S.N., Matthews D.B. The role of GABA-ergic neuroactive steroids in ethanol action, tolerance and dependence// *Brain Res. Rev.* — 2001. — Vol. 37, № 1—3. — P. 98—109.

DYNAMICS OF CLINICAL AND BIOCHEMICAL BLOOD INDICES OF ALCOHOLIC PATIENTS IN WITHDRAWAL PERIOD AND IN THE PROCESS OF REMISSION FORMATION

- VOSTRIKOV V.V.** PhD (Pharmacology, Narcology), Chief of Division, Leningrad Regional Narcology Dispensary, St.Petersburg
- PAVLENKO V.P.** PhD (Narcology), Assistant Professor, Dept. of Psychiatry, Military Medical Academy, St.Petersburg
- SHABANOV P.D.** MD, PhD (Pharmacology), Head, Dept. of Pharmacology, Military Medical Academy, St.Petersburg

The stable and repeated biochemical signs of the disease (GABA contents decrease, middle variety of MAO-B activity and autoantiseria to NMDA receptors and their sub-unit NR2A) are revealed in the blood serum of alcoholic patients in withdrawal period and in the process of remission formation. The degree of biochemical changes of the patients depends on both the patient stage and time of the last alcohol intake. The changes are more significant in the withdrawal period than in the process of remission formation. The acute psychosis or seizures in anamnesis shift the indices studied to the side of severity of disease. In the process of remission formation within 1 year, the changed GABA contents, MAO-B activity and autoantiseria to NMDA receptors are persisting than shows on the laboratory significance of these biochemical indices for alcohol dependence diagnostics.