

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК  
СИБИРСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ  
ТОМСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР  
ГУ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ  
ПСИХИЧЕСКОГО ЗДОРОВЬЯ

---

Н. А. Бохан, С. А. Иванова, С. С. Теровский,  
М. О. Абушаева, В. В. Сафиуллина, Н. М. Скрипка,  
Н. М. Ракитина, О. Ю. Федоренко, Г. П. Ляшенко

# **Применение цитофлавина в терапии абстинентного синдрома у больных алкоголизмом**

**Пособие для врачей**

Санкт-Петербург, Томск  
2006

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК  
СИБИРСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ  
ТОМСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР  
ГУ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ  
ПСИХИЧЕСКОГО ЗДОРОВЬЯ

---

**Н. А. Бохан, С. А. Иванова, С. С. Теровский,  
М. О. Абушаева, В. В. Сафиуллина, Н. М. Скрипка,  
Н. М. Ракитина, О. Ю. Федоренко, Г. П. Ляшенко**

# **Применение цитофлавина в терапии абстинентного синдрома у больных алкоголизмом**

**Пособие для врачей**

Санкт-Петербург, Томск  
2006

**Бохан Н. А., Иванова С. А., Сафиуллина В. В., Абушаева М. О., Скрипка Н. Н., Теровский С. С., Ракитина Н. М., Федоренко О. Ю., Ляшенко Г. П.** Применение цитофлавина в терапии абстинентного синдрома у больных алкоголизмом: Пособие для врачей. — СПб, Томск, 2006. — 32 с.

В пособии, на примере абстинентного синдрома у больных алкоголизмом, изложен метод совершенствования терапии путем применения нейрометаболического протектора с антиоксидантными свойствами — «Цитофлавина». Установлено, что использование «цитофлавина» у больных алкогольной зависимостью позволяет существенно снизить степень неспецифических изменений при хронической алкогольной интоксикации — свободнорадикальных нарушений, эндотоксикоза, показателей запрограммированной гибели клеток периферической крови. Показана высокая клиническая эффективность цитофлавина при купировании основных проявлений абстинентного синдрома. Терапевтические эффекты развиваются на фоне нормализации биохимических, метаболических и гормональных процессов в организме.

Данная методика может быть использована в лечебном процессе в наркологических отделениях.

Пособие разработано в ГУ НИИ психического здоровья Томского научного центра СО РАМН (директор — академик РАМН В. Я. Семке, главный врач клиники — Заслуженный врач РФ Л. П. Якутенок)

Одобрены Проблемной комиссией 56.13 «Основные психические заболевания и наркология» научного совета по медицинским проблемам Сибири, Дальнего Востока и Крайнего Севера РАМН и МЗСР РФ от 21 марта 2006 года.

Рецензент: зав. кафедрой психиатрии, наркологии и психотерапии Сибирского государственного медицинского университета, доктор медицинских наук, профессор П. П. Балашов

Изготовлено ООО «Тактик-Студио».

Подписано в печать 13.03.2007.

Формат 60×88<sup>1</sup>/<sub>16</sub>. Бумага офсетная. Печать офсетная.

Гарнитура Minion. Усл. печ. л. 2.

Тираж 5000 экз.

© Коллектив авторов, 2006

© «Тактик-Студио» —

дизайн, оформление

## Авторы

*Бохан Николай Александрович* — доктор медицинских наук, профессор, Заслуженный деятель науки РФ, руководитель отделения аддитивных состояний клиник ГУ НИИ психического здоровья ТНЦ СО РАМН

*Иванова Светлана Александровна* — доктор медицинских наук, руководитель лаборатории клеточных и молекулярно-биологических исследований ГУ НИИ ПЗ ТНЦ СО РАМН.

*Теровский Станислав Станиславович* — кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточных и молекулярно-биологических исследований ГУ НИИ ПЗ ТНЦ СО РАМН

*Абушаева Марина Олеговна* — аспирант ГУ НИИ ПЗ ТНЦ СО РАМН

*Сафиуллина Валентина Владимировна* — аспирант ГУ НИИ ПЗ ТНЦ СО РАМН

*Скрипка Наталья Николаевна* — младший научный сотрудник отделения аддитивных состояний клиник ГУ НИИ ПЗ ТНЦ СО РАМН

*Ракитина Наталья Михайловна* — младший научный сотрудник лаборатории клеточных и молекулярно-биологических исследований ГУ НИИ ПЗ ТНЦ СО РАМН

*Федоренко Ольга Юрьевна* — кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории клеточных и молекулярно-биологических исследований ГУ НИИ ПЗ ТНЦ СО РАМН

*Ляшенко Галина Пантелеевна* — кандидат медицинских наук, заведующая отделением аддитивных состояний клиник ГУ НИИ ПЗ ТНЦ СО РАМН

На пособие для врачей «ПРИМЕНЕНИЕ ЦИТОФЛАВИНА В ТЕРАПИИ АБСТИНЕНТНОГО СИНДРОМА У БОЛЬНЫХ АЛКОГОЛИЗМОМ», составленные профессором Н.А. Боханом, д.м.н. С.А. Ивановой, к.м.н. С.С. Теровским, аспирантом М.О. Абушаевой, аспирантом В.В. Сафиуллиной, м.н.с. Н.Н. Скрипкой, м.н.с. Н.М. Ракичиной, к.м.н. О. Ю.Федоренко, к.м.н. Г.П. Ляшенко

Высокий уровень потребления алкогольных напитков, увеличение числа больных алкоголизмом, отрицательное влияние злоупотреблением алкоголем на здоровье населения выдвинули проблему алкоголизма в число важнейших, имеющих медицинское, социальное и биологическое значение. Невершенство лекарственной терапии аддиктивных расстройств делает необходимым изыскание и разработку новых, более эффективных фармакологических средств профилактики и лечения аддикций. Представляется перспективным использование препаратов, обладающих особыми нейропротекторными свойствами, оказывающих влияние на основные биологические процессы в организме и позволяющих существенно повысить качество лечения больных. Это обуславливает научную и практическую значимость пособий для врачей, касающихся вопросов терапии абстинентных расстройств при алкоголизме.

Рецензируемое пособие построено по классическому структурному принципу. В пособии представлен метод терапии абстинентного синдрома при алкоголизме с включением препарата с антиоксидантным действием. Во введении нашла отражение актуальность исследуемой проблемы. Представлены показания к применению нейрометаболического протектора цитофлавина и противопоказания. Далее подробно описывается материально-техническое обеспечение метода с указанием конкретных лабораторных методов оценки биохимических показателей и обоснованием использования препарата в процессе купирования абстинентного синдрома. Основная часть

пособия содержит оценку эффективности данного метода, основанную на описании результатов исследования, полученных в результате клинической апробации данного метода.

Представленное пособие по применению метаболитического цитопротектора цитофлавина в купировании абстинентного синдрома направлено на совершенствование методов терапии и объективизацию проводимого лечения на основе клинических и биохимических показателей.

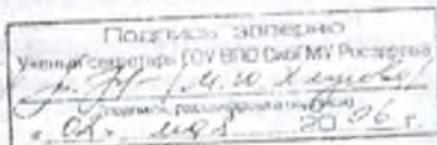
Таким образом пособие для врачей «ПРИМЕНЕНИЕ ЦИТОФЛАВИНА В ТЕРАПИИ АБСТИНЕНТНОГО СИНДРОМА У БОЛЬНЫХ АЛКОГОЛИЗМОМ», составленное профессором Н.А. Балашовым, д.м.н. С.А. Ивановой, к.м.н. С.С. Теровским, аспирантом М.О. Абушевой, аспирантом В.В. Сафиуллиной, м.н.с. Н.М. Скрипкой, м.н.с. Н.М. Ракитиной, к.м.н. О.Ю. Федоренко, к.м.н. Г.П. Лишенко имеют несомненную научно-практическую значимость для врачей-наркологов, психиатров, токсикологов, а также врачей общей практики и могут быть рекомендованы к печати.

Рецензент:

зав. кафедрой психиатрии, наркологии и психотерапии Сибирского государственного медицинского университета, доктор медицинских наук, профессор

Н.П. Балашов

Подпись проф. Н.П. Балашова заверяю  
Ученый секретарь СибГМУ





**РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК  
СИБИРСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ  
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ПСИХИЧЕСКОГО ЗДОРОВЬЯ  
ТОМСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА**

Директор - академик РАН, профессор, доктор медицинских наук, заслуженный деятель науки РФ  
**Валентин Яковлевич СЕМКЕ**

Россия, 634014, г. Томск, пос.  
Сосновый бор

Тел.: (3822) 72-43-79, факс: (3822)  
72-44-25

E-mail: [redo@mail.tomsknet.ru](mailto:redo@mail.tomsknet.ru)

23 05 06 № 211  
На № \_\_\_\_\_ от \_\_\_\_\_

**ВЫПИСКА**

*ИЗ ПРОТОКОЛА №5 Ученого Совета ГУ НИИ психического здоровья ТНЦ  
СО РАМН*

от 19 мая 2006 года

*Председатель - академик РАМН, профессор В.Я. Семке*

*Секретарь - к.м.н. Казенных Т.В.*

*Присутствовало 20 членов Ученого совета.*

**СЛУШАЛИ:** об пособии для врачей Н.А. Бохана, С.А. Ивановой, С.С. Теровского, М.О. Абушаевой, В.В. Сафиуллиной, Н.Н. Скрипка, Н.М. Ракитиной, О.Ю. Федоренко, Г.П. Ляшенко «Применение цитофлавина в терапии абстинентного синдрома у больных алкоголизмом».

**ПОСТАНОВИЛИ:**

Отметить высокую научно-практическую значимость пособия для широкого круга специалистов, в первую очередь, психиатров, наркологов, врачей биологических специальностей, занимающихся проблемой реабилитации больных алкоголизмом. Представить пособие в Проблемную комиссию ПК 56.13. для утверждения. Рекомендовать пособие для врачей Н.А. Бохана, С.А. Ивановой, С.С. Теровского, М.О. Абушаевой, В.В. Сафиуллиной, Н.М. Скрипка, Н.М. Ракитиной, О.Ю. Федоренко, Г.П. Ляшенко «Применение цитофлавина в терапии абстинентного синдрома у больных алкоголизмом» для утверждения МЗсоцразвития РФ.

Директор ГУ НИИ ПЗ ТНЦ СО РАМН  
академик РАМН



*Семке* В.Я.Семке

Ученый секретарь, к.м.н.

*Казенных* Т.В.Казенных

# I. Введение

Высокий уровень потребления алкогольных напитков, увеличение числа больных алкоголизмом, отрицательное влияние злоупотребления алкоголем на здоровье населения выдвинули проблему алкоголизма в число важнейших, имеющих медицинское, социальное и биологическое значение (Бохан Н. А., 2002).

При хроническом поступлении в организм алкоголь влияет практически на все органы и системы, среди которых на первом месте находятся нервная, эндокринная и иммунная, осуществляющие координацию функций в организме (Анохина И. П., Иванец Н. Н., Дробышева В. Я., 1998 Семке В. Я. с соавт., 2003). Механизмы нарушения функционирования гомеостатических систем при алкоголизме связаны как с воздействием этанола на клетки, с изменением метаболических и энергетических процессов на молекулярно-биохимическом уровне, так и с нарушением центральной регуляции функций.

Важное значение придается роли перекисного окисления липидов (ПОЛ) при алкогольной аддикции. ПОЛ играет важную роль в регуляции проницаемости клеточных мембран, состояния окислительного фосфорилирования клетки. В нормальной ткани постоянно протекает процесс липидной пероксидации, его интенсивность находится в обратной зависимости от активности естественных антиоксидантных систем. Избыточное образование активных форм кислорода может быть причиной повреждения и гибели клетки (Владимиров Ю. А., Арчаков А. И., 1975). Антиоксидантные системы необходимы для сохранения активности ПОЛ на стационарном уровне в условиях значительных изменений активности образования радикалов. Действие внешних прооксидантов, недостаток поступления облигатных антиоксидантов и активация эндогенной генерации активных форм кислорода приводит к напряжению механизмов антиоксидантной защиты и развитию

окислительного стресса, который может проявляться на клеточном, тканевом и организменном уровне (Болдырев А. А., 2001).

В реализации механизмов адаптации организма к воздействию различных стрессогенных и других факторов особое значение имеет апоптоз. Апоптоз — форма запрограммированной клеточной гибели — является необходимым компонентом жизнедеятельности организма и участвует в поддержании клеточного гомеостаза. В клетках присутствует генетическая программа и готовый механизм реализации гибели, в то время как индукторы апоптоза деблокируют эту программу и механизм (Барышников А. Ю., Шишкин Ю. В., 2002; Ярилин А. А., 1998). В условиях длительной алкоголизации продукты метаболизма этанола могут повреждать любые органы и ткани из-за их мембранотропности и способности изменять ключевые звенья клеточного метаболизма, что приводит к повышенной гибели различных клеток (Прокопьева В. Д., 2003; Halliwell, D. B., Gutteridge J. M., 1999). Этанол выступает в качестве индуктора апоптоза, и при развитии алкогольной зависимости наблюдается усиление гибели иммунокомпетентных клеток (Freund G., 1994; Olney J. W., 2001).

Для хронической алкогольной аддикции характерен сдвиг гормонального баланса и длительное повышение уровня глюкокортикоидов, что может быть приравнено к состоянию сильного длительного стресса (Adinoff B., 1998; Munro C. A., 2005). В последнее время пристальное внимание уделяется нейростероидам, в частности дегидроэпиандростерону (ДГЭА), который обладает нейропротективным и стресспротективным действием и вовлечен в патофизиологические процессы при алкоголизме (Purdy R. H., 2005). Как кортизол, так и ДГЭА участвуют в осуществлении регуляции процессов апоптоза и уровня окислительного стресса в организме.

Несовершенство лекарственной терапии аддиктивных расстройств делает необходимым изыскание и разработку новых, более эффективных фармакологических средств профилактики и лечения аддикций.

Представляется перспективным использование препаратов, обладающих особыми нейропротекторными свойствами, оказывающих влияние на основные биологические процессы в организме и позволяющих существенно повысить качество лечения больных.

## **II. Показания и противопоказания к применению метода**

### **2.1. Показания к применению нейрометаболического протектора цитофлавина**

Абстинентный синдром при алкогольной зависимости.

### **2.2. Противопоказания**

Индивидуальная непереносимость препарата.

## **III. Материально-техническое обеспечение метода**

### **3.1. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты**

Свободнорадикальное окисление оценивали по состоянию перекисного окисления липидов в реакции с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-активные продукты или концентрация малонового диальдегида) и активности каталазы в сыворотке крови и эритроцитах (Камышников В. С., 2000). Интегральную оценку антиоксидантных свойств сыворотки

крови определяли в тесте индуцированной хемилюминесценции. Хемилюминесценцию сыворотки крови оценивали на сцинтилляционном счетчике RackBeta 1211 фирмы LKB (Finland).

### **3.2. Методы оценки тяжести эндогенной интоксикации**

Уровень эндогенной интоксикации оценивали по спектру среднемолекулярных пептидов в сыворотке крови.

### **3.3. Методы определения гемолитической устойчивости эритроцитов**

Состояние эритроцитов оценивали методом спонтанного гемолиза, колориметрически, по концентрации гемоглобина в супернатанте инкубационной среды. Проводили исследование как терапевтического действия цитофлавина, так и непосредственного влияния исследуемого препарата на эритроциты в условиях *in vitro*.

### **3.4. Методы оценки апоптоза лимфоцитов и нейтрофилов периферической крови**

Лимфоциты выделяли из гепаринизированной крови общепринятым методом на градиенте плотности Ficoll-Paque («Pharmacia», Швеция). Оценку содержания клеток с маркером апоптоза проводили косвенным иммунофлуоресцентным методом с использованием моноклональных антител к антигену CD95 (Fas-рецептор) (ОО «Сорбент», Москва). Морфологические изменения нейтрофилов и лимфоцитов, характерные для апоптоза, оценивали методом световой микроскопии в мазках крови. Подсчитывали количество клеток с признаками апоптоза в процентах от доли нейтрофилов или лимфоцитов в общей лейкоцитарной формуле. Для исследования влияния цитофлавина на клетки перифе-

рической крови *in vitro* проводили инкубацию клеток с препаратом в течение 4 часов.

### **3.5. Методы определения концентрации гормонов**

Концентрацию кортизола и ДГЭА в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа с использованием наборов «Алкор-Био».

### **3.6. Терапия абстинентного алкогольного синдрома у больных алкоголизмом**

В процессе лечения всем больным проводится обследование: общие анализы крови и мочи, биохимический анализ крови (сахар, белок, билирубин, печеночные ферменты), электрокардиограмма (ЭКГ), эхоэнцефалограмма (ЭЭГ), реография (РЭГ).

Терапия абстинентного синдрома при алкогольной зависимости традиционно включает мероприятия по детоксикации и восстановлению постоянства внутренней среды организма, купированию вегетативных, диссомнических, аффективных и токсических проявлений этанола.

Стандартная медикаментозная терапия абстинентного синдрома включает дифференцированное назначение следующих основных групп препаратов: препараты для купирования патологического влечения к алкоголю, общеукрепляющие препараты, ноотропы.

### **3.7. Обоснование применения цитофлавина в комплексной терапии абстинентного синдрома**

Препарат «Цитофлавин» (производства НТФФ «Полисан») представляет собой сбалансированный комплекс из двух метаболитов (янтарная кислота, рибоксин) и двух коферментов-витаминов — никотиамида (витамин РР) и рибофлавина мононуклеотида (витамин В<sub>2</sub>).

Цитофлавин обладает антигипоксическим и антиоксидантным действием, оказывая положительный эффект на процессы энергообразования в клетке, уменьшая продукцию свободных радикалов и восстанавливая активность ферментов антиоксидантной защиты (Ливанов Г. А., Батоцыренов Б. В., Глушков С. И. и др., 2004; Суслина З. А., Танащян М. М., Смирнова И. Н. и др., 2002). Так, в биофармацевтических исследованиях установлено, что цитофлавин улучшает окислительный метаболизм в условиях ишемии, препятствуя резкому снижению уровня АТФ, стимулирует активность аденилатциклазы, что позволяет осуществлять анаэробный метаболизм глюкозы без образования лактата (Федин А. И., Румянцева С. А., Пирадов М. А. и др., 2005). Препарат активизирует внутриклеточный синтез нуклеиновых кислот, сохраняя аппарат рибосом, ферментативные процессы цикла Кребса, способствует утилизации глюкозы, синтезу и внутриклеточному накоплению аденозинтрифосфата (АТФ) и других макроэргов; обладает антигипоксическими свойствами, улучшает оксигенацию крови, ограничивает зону ишемического повреждения и стимулирует репаративные процессы (Бульон В. В., Хныченко Л. С., Сапронов Н. С., 2000).

Основным активатором перекисных процессов в организме является кислород, поступающий из внешней среды. Приблизительно 80–95% (в зависимости от вида ткани) кислорода поступает в дыхательную цепь митохондрий, а остальная часть используется для активации перекисных процессов, необходимых для нормальной жизнедеятельности клетки. Любой дисбаланс в сторону перекисных процессов при нарушении нормального переноса электронов по дыхательной цепи (отравление ядами, солями тяжелых металлов, длительная алкоголизация) часто ведет к активации перекисного окисления липидов, белков в мембранах и в дальнейшем к гибели клеток.

Янтарная кислота, входящая в состав цитофлавина, является центральным субстратом цикла Кребса и может включаться в этот цикл (в ионизированной форме), преодолевая клеточные и митохондриальные

мембраны. Сукцинат обладает антиоксидантными и цитопротекторными свойствами. Превращение сукцината в организме связано с продукцией энергии, необходимой для обеспечения жизнедеятельности. При воздействии агрессивного фактора на любую из систем организма поддержание функций обеспечивается за счет окисления янтарной кислоты. Мощность системы энергопродукции сукцината обеспечивается за счет окисления янтарной кислоты.

Антиоксидантное действие рибоксина реализуется целым рядом взаимосвязанных метаболических путей: активацией синтеза НАД в митохондриях из никотинамида, где рибоксин выступает в качестве донора рибозы; стимуляцией анаэробного гликолиза с образованием лактата и НАД<sup>+</sup>; ингибированием фермента ксантиноксидазы и подавлением радикальных процессов.

Рибофлавин (витамин В<sub>2</sub>) является профактором для основных коферментов дыхательной цепи: флавиномононуклеотида (ФМН) и флавинадениндинуклеотида (ФАД). У рибофлавина установлено прямое антигипоксическое действие, связанное с увеличением активности флавинредуктаз и восстановлением уровня АТФ, и антиоксидантные свойства, обусловленные восстановлением окисленного глутатиона.

Никотинамид (витамин РР) — активная составляющая коферментов дегидрогеназ НАДН и НАДФН. Никотинамид активирует НАД-зависимые ферменты клеток, в том числе антиоксидантные системы убихиноновых оксиредуктаз, защищающих мембраны клеток от разрушения радикальными частицами. Никотинамид также является селективным ингибитором фермента поли-АДФ-рибозилсинтетазы, приводящего к дисфункции внутриклеточных белков и последующему апоптозу клеток.

Таким образом, все компоненты препарата цитофлавин являются индукторами основных метаболических путей в клетках, активаторами энергообразующих процессов, способствующих утилизации свободного кислорода, тем самым снижая уровень перекисных процессов.

Механизмы лечебного действия янтарной кислоты, рибоксина, никоти-  
намида и рибофлавина делают перспективным использование препара-  
та в комплексной терапии абстинентного синдрома.

## IV. Описание метода

Лекарственный препарат цитофлавин применяется в комплексном  
лечении алкогольного абстинентного синдрома у больных алкоголиз-  
мом для коррекции нарушений, носящих неспецифический характер, а  
именно нарушений процессов свободнорадикального окисления, анти-  
оксидантной защиты, эндотоксикоза, процессов запрограммированной  
гибели клеток периферической крови; для повышения активности де-  
токсикации, что, в свою очередь, приводит к уменьшению вегетатив-  
ных, диссомнических, аффективных и токсических проявлений отмены  
этанола.

Препарат рекомендуется применять с момента поступления боль-  
ных в клинику. Оценку эффективности терапии следует проводить под  
контролем динамики клинической картины редукции абстинентного  
синдрома, функционального состояния ЦНС, биохимических показа-  
телей, выраженности показателей оксидативного стресса, процессов  
запрограммированной клеточной гибели и динамики гормональных  
показателей.

Забор крови для исследований производится из локтевой вены, ут-  
ром, натощак, при поступлении пациентов в клинику для проведения  
терапии и через 10 дней терапии.

Цитофлавин рекомендуется вводить внутривенно капельно по  
10,0 мл на 400 мл физиологического раствора 2 раза в сутки в течение  
5 дней.

## **V. Возможные осложнения при использовании метода и пути их профилактики**

Возможно развитие аллергических реакций при индивидуальной непереносимости компонентов препарата (янтарной кислоты, рибоксина, никотинамида и рибофлавина)

Профилактика: сбор аллергологического анамнеза у пациента перед проведением терапии.

## **VI. Эффективность использования метода**

Исследование проведено у 125 больных алкоголизмом в возрасте 25–60 лет, проходивших курс лечения в отделении аддиктивных состояний клиники ГУ НИИ психического здоровья ТНЦ СО РАМН. Данное заболевание классифицируется как психические и поведенческие расстройства в результате употребления алкоголя (F10). Включение пациентов в исследование проводилось с учетом этических норм после тщательной оценки соответствия пунктам критериев включения по протоколу испытания. Включение больных в основную группу и в группу сравнения производилось с помощью таблицы случайных чисел (присвоение включаемому в исследование больному номера из таблицы с последующим включением в ту или иную группу в зависимости от полученного номера).

Проводилась стандартизация основной и контрольной групп по полу, возрасту, стадии и длительности заболевания, тяжести актуального состояния. Критериями включения больных в основную группу и в

группу сравнения являлись: пребывание в состоянии алкогольного абстинентного синдрома и добровольное согласие на участие в исследовании. Критериями исключения из исследования были: возраст старше 60 лет; наличие эндогенных заболеваний, эпилепсии, декомпенсированных форм психопатий; отказ больного от участия в исследовании.

У наблюдаемых пациентов полностью сформировались первичное патологическое влечение к алкоголю, утрата количественного контроля, максимальная толерантность к алкоголю (составлявшая на момент обследования от 0,5 до 1,0 л водки в сутки), развернутый абстинентный синдром. Отрицательные социальные последствия характеризовались нарушением семейных отношений, снижением профессиональных навыков. Длительность заболевания у обследуемых пациентов составила от 5 до 25 лет. Абстинентный синдром протекал с соматовегетативными, неврологическими и психопатологическими симптомами.

Основная группа пациентов (95 человек) получала цитофлавин в качестве основной терапии, дополнительно назначались только психотропные препараты для коррекции расстройств сна. 30 пациентов составили группу сравнения и получали традиционную медикаментозную терапию. Средний возраст пациентов на день обследования составил  $37,7 \pm 2,5$  года в основной группе (в группе сравнения —  $38,6 \pm 2,6$ ).

Контрольную группу для биологического обследования составили 30 психически и соматически здоровых лиц, соответствующих по полу и возрасту обследуемым группам больных.

Оценка клинической симптоматики и выраженности патологического влечения производилась с использованием клинической шкалы, разработанной в отделении аддиктивных состояний ГУ НИИ ПЗ ТНЦ СО РАМН. Оценка эффективности проводилась по шкалам редукции симптомов синдрома отмены.

Клиническая характеристика алкогольного абстинентного синдрома в основной группе и в группе сравнения включала в себя соматовегетативные, неврологические и психопатологические проявления. В

первый день абстиненции ведущие вегетативные проявления наблюдались у всех больных, гипертензия в 50% случаев, гипергидроз в 41%, тахикардия в 58% случаев. Астеническая симптоматика выявлена у 83% обследованных пациентов. Диссомнические нарушения присутствовали в виде нарушения засыпания, поверхностного сна, бессонницы, кошмарных сновидений, при этом превалировало раннее пробуждение (83,3%), затем — трудности засыпания (50,0%). Ведущим аффективным расстройством в исследуемых группах являлась дисфория и депрессивная симптоматика. Группа токсических эффектов представлена тремя основными симптомокомплексами — цереброваскулярными, кардиоваскулярными (кардиалгии, аритмии) и неврологическими расстройствами.

Препарат цитофлавин наиболее эффективно воздействует на соматовегетативные проявления алкогольного абстинентного синдрома, высокоэффективен по сравнению с традиционной медикаментозной терапией в редуцировании цефалгических и астенических расстройств. Так, после полного курса терапии цитофлавином в 100% случаев редуцируются цефалгия, гипергидроз, тошнота, рвота, внутренняя дрожь, нормализуется сон. Динамика аффективных проявлений дисфорического характера и диссомнических расстройств сопоставима с таковой при традиционной терапии. Неврологическая симптоматика остается в ряде случаев на том же уровне, что и до начала терапии. Клинически значимые побочные явления за все время наблюдения за пациентами как в основной группе, так и в группе сравнения не наблюдались.

По результатам биохимических анализов у больных алкоголизмом в исследуемых группах выявлено увеличение билирубина и активности трансаминаз, что свидетельствует о поражении функции печени. В группе больных, получавших цитофлавин, после терапии наблюдается достоверное снижение содержания билирубина (общий билирубин — до терапии  $14,90 \pm 1,055$  мкмоль/л, после терапии  $8,12 \pm 0,84$  мкмоль/л,  $p < 0,05$ ; прямой билирубин — до терапии  $5,80 \pm 0,72$  мкмоль/л, после терапии

2,59 ± 0,58 мкмоль/л,  $p < 0,05$ ). Активность АСТ и АЛТ имела тенденцию к снижению. В группе сравнения на 10-й день после начала терапии достоверных изменений в биохимическом статусе не выявлено.

В эритроцитах больных алкоголизмом в состоянии острого абстинентного синдрома обнаружено увеличение концентрации ТБК-активных продуктов (малонового диальдегида) по сравнению с контрольной группой (рис. 1). В процессе используемых схем терапии выявлено достоверное снижение ТБК-активных продуктов в эритроцитах пациентов: в группе с применением цитофлавина содержание МДА до терапии составило  $59,50 \pm 3,17$  мкмоль/л, после терапии  $47,26 \pm 2,79$  мкмоль/л (в контроле  $38,71 \pm 1,17$  мкмоль/л,  $p < 0,01$ ), в группе сравнения отмечено снижение уровня малонового диальдегида с  $55,59 \pm 12,09$  мкмоль/л до  $45,30 \pm 5,62$  мкмоль/л.

Концентрация МДА в сыворотке крови больных алкоголизмом была также выше по сравнению с контрольной группой. Динамика содержания МДА в сыворотке крови пациентов в процессе терапии представлена на рис. 2.

При поступлении пациентов в клинику каталазная активность сыворотки крови была повышена:  $93,78 \pm 10,19$  мкат/л в основной группе и  $87,24 \pm 24,64$  мкат/л в группе сравнения, в норме  $56,61 \pm 3,63$  мкат/л ( $p < 0,01$ ). После лечения в группе больных, получающих цитофлавин, активность каталазы в сыворотке крови снизилась до  $61,79 \pm 6,89$  мкат/л ( $p < 0,05$ ), в группе сравнения до  $56,83 \pm 5,12$  мкат/л ( $p < 0,05$ ), различий с показателями контрольной группы у обеих групп пациентов после лечения не выявлено.

Динамика концентрации малонового диальдегида как показателя перекисного окисления липидов и каталазной активности в исследуемых группах имеет одинаковую направленность и не зависит от применяемых схем терапии. Данные показатели отражают снижение активности свободнорадикального окисления на момент выхода пациентов из состояния абстинентного синдрома.

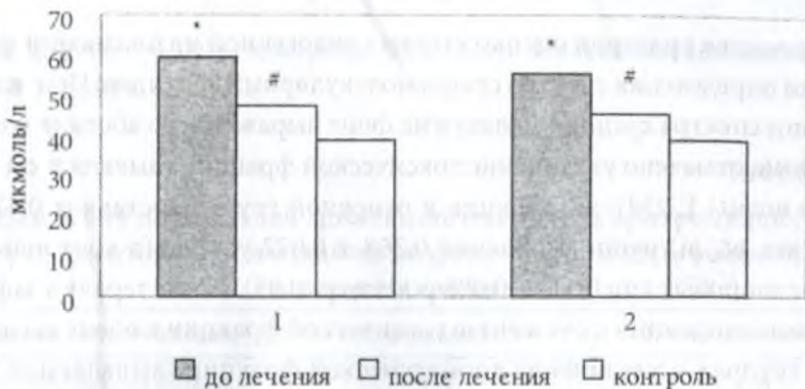


Рис. 1. Содержание малонового диальдегида в эритроцитах у больных алкоголизмом основной группы (1), группы сравнения (2) и здоровых лиц

Примечание: \* — достоверные изменения на уровне  $p < 0,05$  по сравнению с контролем; # — между группами пациентов до и после лечения.

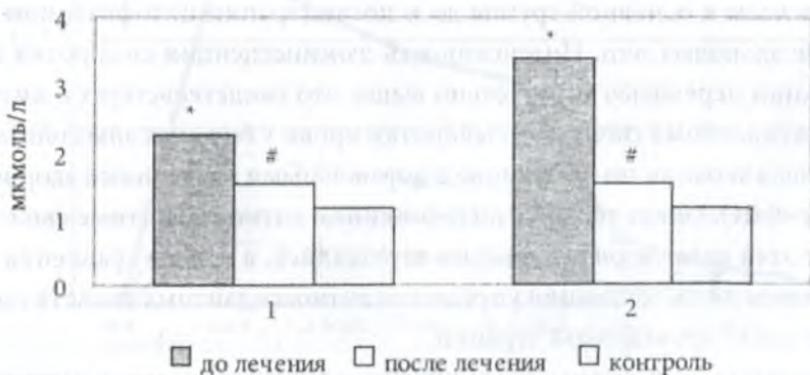


Рис. 2. Содержание малонового диальдегида в сыворотке крови у больных алкоголизмом основной группы (1), группы сравнения (2) и здоровых лиц

Примечание: \* — достоверные изменения на уровне  $p < 0,05$  по сравнению с контролем; # — между группами пациентов до и после лечения.

В качестве критерия оценки степени эндогенной интоксикации проводили определения спектра среднемолекулярных пептидов. При исследовании спектра средних молекул на фоне выраженного абстинентного синдрома отмечено увеличение токсической фракции (выявляемой при длине волны E 254): экстинкция в основной группе составила  $0,376 \pm 0,014$  усл. ед., в группе сравнения  $0,368 \pm 0,022$  усл. ед. (в контрольной группе здоровых лиц  $0,311 \pm 0,008$  усл. ед.,  $p < 0,05$ ). После терапии зафиксирована тенденция к снижению токсической фракции в обеих исследуемых группах и увеличение ароматической фракции (выявляемой при длине волны E 280).

Интегральная оценка состояния антиоксидантных систем сыворотки крови оценивалась в тесте индуцированной хемилюминесценции. Индукция образования активных форм кислорода проводилась добавлением перекиси водорода в сыворотку крови. Интенсивность хемилюминесценции обратно пропорциональна активности антиоксидантных систем. На рис. 3 показаны среднестатистические графики больных алкоголизмом в основной группе до и после терапии цитофлавином и в группе здоровых лиц. Интенсивность люминесценции сыворотки при индукции перекисью значительно выше, что свидетельствует о низких антиоксидантных свойствах сыворотки крови у больных алкоголизмом до начала терапии по сравнению с нормальными значениями здоровых лиц ( $p < 0,01$ ). После терапии цитофлавином антиоксидантные свойства сыворотки пациентов достоверно улучшились, в группе сравнения наблюдалась лишь тенденция улучшения антиоксидантных свойств сыворотки после проведенной терапии.

Нами был исследован спонтанный гемолиз эритроцитов у пациентов в динамике фармакотерапии и исследовано влияние цитофлавина на этот показатель *in vitro*. В группе пациентов с алкоголизмом процент гемолиза составил  $12,51 \pm 7,34$  (в контрольной группе —  $3,34 \pm 0,84\%$ ). После проведения комплексного лечения с использованием цитофлавина наблюдалась отчетливая направленность к нормализации показателя

спонтанного гемолиза эритроцитов с соответствующим снижением его до  $5,76 \pm 2,84\%$  (табл. 1).

Таблица 1

**Динамика показателей спонтанного гемолиза эритроцитов (%) у пациентов с алкоголизмом на фоне терапии цитофлавином и в группе сравнения**

Больные алкоголизмом	До терапии	После терапии
Основная группа больных	$12,51 \pm 7,34$	$5,76 \pm 2,84^*$
Группа сравнения	$16,15 \pm 3,85$	$10,25 \pm 1,25^*$

Примечание: достоверность различия по непараметрическому критерию Вилкоксона,

\* —  $p < 0,05$  (по сравнению с показателями до терапии).

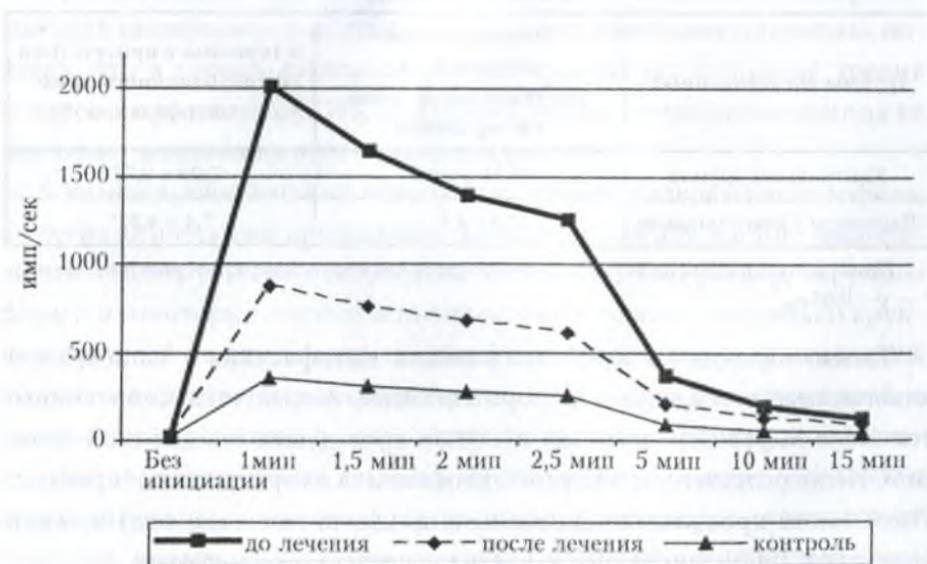


Рис. 3. Способность сыворотки крови снижать индуцированную хемиплюмисценцию у больных алкоголизмом в динамике терапии цитофлавином и у здоровых лиц

В группе сравнения, где пациенты получали стандартную фармакотерапию, также наблюдалось статистически значимое снижение показателей гемолиза у пациентов с алкоголизмом ( $10,25 \pm 1,25\%$ ), тогда как до терапии этот показатель составил  $16,15 \pm 3,85\%$ .

Позитивное влияние тестируемого препарата на гемолитическую стабильность эритроцитов наблюдалось в условиях *in vitro*, что проявлялось достоверным снижением процента гемолиза при добавлении в инкубационную среду цитофлавина по сравнению с аналогичными показателями проб без тестируемого препарата (табл. 2).

Таблица 2

**Влияние цитофлавина на показатели спонтанного гемолиза (%) в условиях *in vitro* в контрольной группе и у пациентов с алкоголизмом**

Группы обследованных	% гемолиза при отсутствии в инкубационной среде цитофлавина	% гемолиза в присутствии в инкубационной среде цитофлавина
Контрольная группа	$3,34 \pm 0,84$	$2,09 \pm 0,77^*$
Пациенты с алкоголизмом	$12,51 \pm 5,34$	$7,4 \pm 4,82^*$

*Примечание:* достоверность различия по непараметрическому критерию Вилкоксона, \* —  $p < 0,05$ .

Таким образом, на фоне применения цитофлавина у пациентов с алкоголизмом тенденция к нормализации показателей спонтанного гемолиза выражена ярче, чем в случае проведения стандартной терапии. Непосредственное влияние цитофлавина на эритроциты (пробы *in vitro*) также проявляется снижением процента гемолиза, подтверждая мембраностабилизирующее действие исследуемого препарата.

На следующем этапе исследования проведена оценка влияния терапии цитофлавином на процессы запрограммированной клеточной гибели лимфоцитов и нейтрофилов в клинике и в экспериментальных пробах *in vitro*. Оценивалась экспрессия FAS-рецептора как показателя

готовности клетки уйти в апоптоз и непосредственная программа реализации клеточной гибели.

Содержание в кровотоке лимфоцитов, экспрессирующих рецепторы готовности к Fas-зависимому апоптозу, при алкоголизме существенно превышает аналогичный показатель в группе контроля, что отражает процессы активации лимфоцитов (у больных алкоголизмом составляет  $17,42 \pm 1,98\%$ , в группе здоровых лиц  $11,67 \pm 0,35\%$ ,  $p < 0,05$ ). Исследование влияния цитофлавина *in vitro* на экспрессию рецептора CD95 показало, что препарат не оказывает влияния на клетки здоровых доноров, а в группе больных алкоголизмом происходит статистически значимое снижение показателя апоптоза лимфоцитов до значений нормы ( $9,66 \pm 1,74\%$ ).

Сравнительный анализ двух групп больных алкоголизмом, принимающих цитофлавин или стандартную медикаментозную терапию, показал, что в первой группе пациентов происходит снижение уровня экспрессии рецептора CD95, а во второй группе проводимая терапия не оказывает влияния на этот показатель (рис. 4).

В мазках крови больных обнаружены сегментоядерные нейтрофилы с морфологическими признаками, характерными для клеток, подвергшихся апоптозу. Такие нейтрофилы имели меньший размер, округлую форму, в некоторых случаях в цитоплазме выделялось несколько крупных вакуолей на одном полюсе. Морфологическая картина изменений ядерного вещества выражалась в уменьшении ядра с конденсацией и грануляцией хроматина по периметру его границы. Уровень спонтанного апоптоза нейтрофилов в мазках, приготовленных сразу после взятия крови, у больных алкоголизмом до лечения достоверно отличался от значений, наблюдаемых у здоровых лиц ( $2,32 \pm 1,22$  и  $0,38 \pm 0,16\%$  соответственно,  $p < 0,05$ ).

В лимфоцитах, которые подвергались апоптозу, происходила деградация ядерного материала, наблюдалась фрагментация хроматина на несколько частей. Число лимфоцитов с фрагментированным ядром

также превышало значения, наблюдаемые у здоровых лиц ( $1,63 \pm 0,58$  и  $0,92 \pm 0,20\%$ ), однако полученные результаты не были статистически достоверны.

Инкубация клеток *in vitro* с цитофлавином вызывала снижение содержания апоптозных нейтрофилов, но повышала число лимфоцитов с фрагментированным ядром (табл. 3).

### CD95

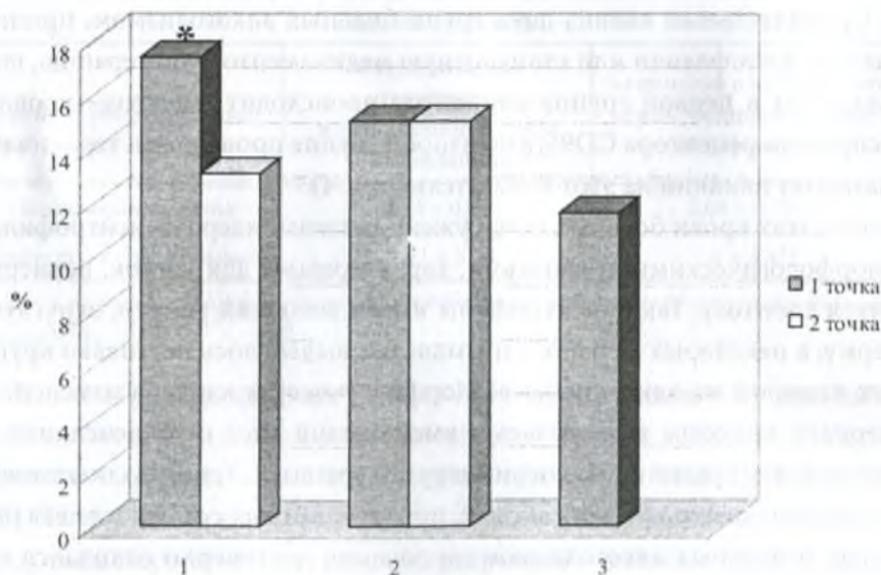


Рис. 4. Динамика экспрессии рецептора CD95 у больных алкоголизмом в зависимости от проводимой терапии

Примечание: 1 — пациенты, получающие цитофлавин; 2 — группа сравнения; 3 — контроль; \* —  $p < 0,05$  по сравнению с контролем.

Таблица 3

### Спонтанный и стимулированный апоптоз нейтрофилов и лимфоцитов больных алкоголизмом

Условия опыта	Доля нейтрофилов с признаками апоптоза, %		Доля лимфоцитов с фрагментированным ядром, %	
	Больные алкоголизмом	Здоровые лица	Больные алкоголизмом	Здоровые лица
Без инкубации	2,32 ± 1,22*	0,38 ± 0,16	1,63 ± 0,80*	0,92 ± 0,20
Инкубация с цитофлавином	1,62 ± 1,05	0,00# ± 0,00	7,23 ± 4,27#	1,69 ± 0,63

Примечание: \* —  $p < 0,05$  по сравнению со здоровыми лицами; # —  $p < 0,05$  по сравнению со спонтанным апоптозом.

У больных алкоголизмом после терапии цитофлавином наблюдали тенденцию к снижению содержания в крови лимфоцитов и нейтрофилов с морфологическими признаками апоптоза (табл. 4). В группе больных алкоголизмом, получающих стандартную медикаментозную терапию, также не обнаружено достоверных различий в содержании клеток крови с признаками апоптоза до и после терапии.

Таблица 4.

### Динамика апоптоза нейтрофилов и лимфоцитов у пациентов, получающих цитофлавин, и в группе больных со стандартной медикаментозной терапией

	Основная группа		Группа сравнения	
	Апоптозные нейтрофилы, %	Лимфоциты с фрагментированным ядром, %	Апоптозные нейтрофилы, %	Лимфоциты с фрагментированным ядром, %
До терапии	2,32 ± 1,22*	1,63 ± 0,80*	1,64 ± 0,80	3,39 ± 0,54*
После терапии	0,91 ± 0,61	1,40 ± 0,66	0,29 ± 0,20	1,87 ± 0,57
Контроль	0,38 ± 0,16	0,92 ± 0,20	0,38 ± 0,16	0,92 ± 0,20

Примечание: \* —  $p < 0,05$  по сравнению со здоровыми лицами.

При определении концентрации гормонов в основной группе обследованных больных на фоне выраженного абстинентного синдрома выявлена тенденция к увеличению уровня кортизола в сыворотке крови до  $528,00 \pm 65,19$  нмоль/л (табл. 5). При анализе распределения обследованных лиц в зависимости от концентрации кортизола индивидуальные значения колебались от 225 до 871 нмоль/л. Большая часть больных имели значения от 400 до 700 нмоль/л, в то время как в группе психически и соматически здоровых лиц средние значения составили  $445,13 \pm 21,45$  нмоль/л. Уровень ДГЭА-сульфата у больных алкоголизмом статистически не отличался от показателей в группе психически и соматически здоровых лиц.

Таблица 5

**Динамика некоторых показателей гормональной системы у больных алкоголизмом в процессе фармакотерапии абстинентного синдрома**

Показатели	Контроль	Больные алкоголизмом			
		До лечения (основная группа)	После лечения (основная группа)	До лечения (группа сравнения)	После лечения (группа сравнения)
Кортизол (нмоль/л)	$445,13 \pm 21,4$	$528,00 \pm 65,19$	$471,20 \pm 51,85$	$417,66 \pm 27,8$	$680,50 \pm 99,5^* p$
ДГЭА (мкг/мл)	$2,33 \pm 0,14$	$2,62 \pm 0,59$	$1,65 \pm 0,32$	$1,74 \pm 0,68$	$1,59 \pm 0,81$

*Примечание.* \* p — достоверность уровня различий результатов в группе больных до и после терапии.

В динамике терапии концентрация кортизола в группе больных, получающих цитофлавин, имела тенденцию к снижению, а в группе сравнения наблюдалось статистическое повышение данного показателя.

Анализируя результаты проведенного исследования, можно говорить, что клиническая эффективность терапии абстинентного синдрома с применением цитофлавина сопоставима со стандартной медикаментозной терапией при купировании основных проявлений алкогольного

абстинентного синдрома (вегетативных, аффективных, диссомнических, церебральных и др. расстройств).

У больных алкоголизмом в состоянии абстинентного синдрома выявлено наличие биохимических изменений, связанных с оксидативным стрессом. У больных наблюдалась активация свободнорадикального окисления, что проявлялось в повышении содержания продуктов перекисного окисления липидов, активности каталазы в сыворотке крови и эритроцитах и снижении антиоксидантных свойств плазмы крови. Активация свободнорадикального окисления в сочетании с экзогенной интоксикацией продуктами алкоголя дает возможность развития псевдообмена белков с наработкой среднемолекулярных пептидов и развитием эндогенной интоксикации.

В процессе как терапии с использованием цитофлавина, так и стандартной медикаментозной терапии наблюдается нормализация показателей, характеризующих оксидативный стресс: снижение продуктов ПОЛ в эритроцитах и в сыворотке, каталазной активности и уровня эндотоксикоза. Антиоксидантные свойства сыворотки крови в большей степени улучшаются в основной группе больных, получающих цитофлавин.

Дестабилизирующее действие свободных радикалов, образующихся в ходе окисления этанола, и последующее перекисное окисление мембранных липидов и белков приводит к повышению чувствительности клеточных популяций к различным воздействиям и повышенной гибели клеток. На модели спонтанного гемолиза эритроцитов показано, что цитофлавин обладает мембраностабилизирующим эффектом, проявляющимся как *in vivo* в динамике фармакотерапии больных, так и *in vitro* при непосредственной инкубации клеток с препаратом.

Терапия цитофлавином также приводит к положительной динамике экспрессии рецептора CD95 на лимфоцитах больных алкоголизмом, отмечается тенденция к нормализации содержания нейтрофилов и лимфоцитов с морфологическими признаками апоптоза. В экспериментальных

пробах с иммунокомпетентными клетками показано, что на лимфоциты цитофлавин оказывает неоднозначное воздействие: с одной стороны, снижается экспрессия FAS-рецептора, что свидетельствует о снижении готовности клеток к апоптозу, но с другой стороны, повышается количество лимфоцитов с фрагментированными ядрами. Апоптоз нейтрофилов при инкубации с цитофлавином *in vitro* снижается.

Существенным компонентом комплексного клинического действия цитофлавина является его стресспротективное воздействие, направленное на снижение концентрации кортизола в сыворотке крови.

## Выводы

1. Результаты клинического и биологического исследования терапевтических возможностей цитофлавина при купировании алкогольного абстинентного синдрома позволяют сделать заключение о препарате цитофлавин как эффективном средстве терапии абстинентных расстройств у больных алкоголизмом в наркологической практике.
2. Использование цитофлавина в терапии алкогольного абстинентного синдрома легкой и средней степени тяжести позволяет существенно повысить дифференцированность и эффективность лечения.
3. Воздействуя на различные уровни патологического процесса, терапия цитофлавином значительно облегчает течение и ускоряет купирование абстинентного состояния. Клинические эффекты развиваются на фоне многоуровневой нормализации биохимических, метаболических, гормональных процессов в организме.

# Список литературы

1. Анохина И. П., Иванец Н. Н., Дробышева В. Я. Основные достижения в области наркологии, токсикомании, алкоголизма // Вестник РАМН. 1998. № 7. С. 29–37.
2. Афанасьев В. В. Цитофлавин в интенсивной терапии: Пособие для врачей. СПб.: Б. И., 2005. 36 с.
3. Барышников А. Ю., Шишкин Ю. В. Иммунологические проблемы апоптоза. М.: Эдиториал, 2002. 320 с.
4. Болдырев А. А. Окислительный стресс и мозг // Соросовский образовательный журнал. 2001. № 7 (4). С. 21–28.
5. Бохан Н. А. Реабилитация в наркологии: региональные проблемы и новые технологии. В кн: Реабилитация в наркологии. Томск, 2002. С. 8–15.
6. Бульон В. В., Хныченко Л. С., Сапронов Н. С. Коррекция последствий постишемического реперфузионного повреждения головного мозга цитофлавином // Бюлл. эксперим. биологии и медицины. 2000. № 129 (2). С. 149–151.
7. Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биомембранах. М.: Медицина, 1975. 176 с.
8. Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике. МН.: Беларусь, 2000. С. 953 с.
9. Ливанов Г. А., Батоцыренов Б. В., Глушков С. И. и др. Применение цитофлавина при токсической и постишоксической энцефалопатии: Пособие для врачей. СПб., 2004. 44 с.
10. Прокотьева В. Д. Молекулярные механизмы влияния этанола и его метаболитов на клеточные мембраны *in vitro* и *in vivo*: Автореф. дис... д-ра биол. наук. Томск, 2003; 46 с.
11. Семке В. Я., Ветлугина Т. П., Невидимова Т. И., Иванови С. А., Бохан Н. А. Клиническая психонейроиммунология. Томск: Раско, 2003. 300 с.

12. Суслина З. А., Танашиян М. М., Смирнова И. Н. и др. Антиоксидантное и нейротрофическое действие цитофлавина при хронических цереброваскулярных заболеваниях // Вестник СПб. гос. Мед. Академ. 2002. № 3. С. 110–114.

13. Федин А. И., Румянцева С. А., Пирадов М. А. и др. Эффективность нейрометаболического протектора цитофлавина при инфарктах мозга // Вестник СПб. гос. Мед. Академ. 2005. № 1. С. 13–19.

14. Ярилин А. А. Апоптоз. Природа феномена и его роль в целостном организме // Патол. физиол. эксп. терап. 1998. № 2. С. 38–48.

15. Adinoff B., Iranmanesh A., Veldhuis J., Fisher L. Disturbances of the stress response: the role of the HPA axis during alcohol withdrawal and abstinence. *Alcohol. Health. Res. World.* 1998. N 22 (1). P. 67–72.

16. Freund G. Apoptosis and gene expression: perspectives on alcohol-induced brain damage. *Alcohol.* 1994. N 11. P 385–387.

17. Halliwell D. B., Gutteridge J. M. C. *Free Radicals in Biology and medicine.* Oxford University Press, 1999. 936 p.

18. Olney J. W., Wozniak D. F., Jevtovic-Todorovic V., Ikonomidou C. Glutamate signaling and the fetal alcohol syndrome. *Ment. Retard. Dev. Disabil. Res. Rev.* 2001. N 7. P. 267–275.

19. Purdy R. H., Valenzuela C. E., Janak P. H., Finn D. A., Biggio G., Backstrom T. Neuroactive steroids and ethanol. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 2005 Jul. N 29 (7). P. 1292–1298.

20. Munro C. A., Oswald L. M., Weerts E. M., McCaul M. E., Wand G. S. Hormone responses to social stress in abstinent alcohol-dependent subjects and social drinkers with no history of alcohol dependence. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 2005 Jul. N 29 (7). P 1133–1138.

# Оглавление

I. Введение .....	7
II. Показания и противопоказания к применению метода .....	9
III. Материально-техническое обеспечение метода .....	9
IV. Описание метода .....	14
V. Возможные осложнения при использовании метода и пути их профилактики .....	15
VI. Эффективность использования метода .....	15
Выводы .....	28
Список литературы .....	29