

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ НАРКОЛОГИИ**

На правах **рукописи**

УДК 547.466+577.164.14:613.816

ШЕЙБАК Владимир Михайлович

**ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ АМИНОКИСЛОТНОГО
ДИСБАЛАНСА, НАРУШЕНИЯ МЕТАБОЛИЗМА
КОФЕРМЕНТА А
И ИХ КОРРЕКЦИЯ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ
АЛКОГОЛИЗМЕ**

14.00.45 - наркология

03.00.04 - биохимия

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Москва 1998

Работа выполнена в Гродненском **государственном медицинском институте** Министерства здравоохранения республики Беларусь и Институте биохимии **НАН** Беларуси

Научные консультанты:

доктор медицинских наук, профессор **В.В.Лелевич**
доктор медицинских наук, член-корреспондент РАМН,
заслуженный деятель науки РФ, профессор **Л.Ф.Панченко**

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, академик РАМН,
профессор Берсзов **Т.Т.**
доктор биологических наук Медведев **А.Е.**
доктор медицинских наук, профессор **Узбеков М.Г.**

ВЕДУЩАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ - Институт питания РАМН

Защита состоится "_____" _____ 1998 г. в "_____"
часов на заседании Диссертационного **совста** (Д 074.50.01) при
НИИ наркологии Минздрава России по адресу: 121921, Москва,
Малый Могильцевский пер. д.3

Автореферат разослан "_____" _____ 1998 г. с диссертацией можно ознакомиться в библиотеке НИИ наркологии Минздрава **России**

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат биологических наук

О.Ф.Львова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы диссертации. Алкоголизм является важной медико-социальной проблемой. В соответствии с данными ВОЗ он вышел на 3-е место среди других групп заболеваний, что обуславливает необходимость дальнейшего **проведения** широкого круга научных **исследований**. Изучение биологических основ алкоголизма позволит создать научную основу для **целенаправленной** разработки **медицинских** методов терапии и профилактики этого **заболевания**.

Несмотря на то, что влияние алкоголя на клеточные мембраны и ферментативные **реакции**, в которых он участвует, достаточно интенсивно исследуется, многие детали его патогенного действия до настоящего времени не выяснены (И.П.Анохина, **Н.Н.Иванец**, 1992, **Л.Ф.Панченко**, 1994, **Н.Tonnesen**, 1992). Особое значение при **этом** имеет установление биохимических механизмов формирования заболевания и возникающих патологических изменений внутренних органов, в первую очередь **печени**. Классический спектр алкогольной болезни печени включает жировое **перерождение** (стеатоз), алкогольный гепатит и цирроз. Развитие цирроза печени обусловлено не только нарушениями метаболизма в этом **органе**; но и прямым фибропластическим действием этанола (**В.В.Серов**, 1989, **В.С.Моисеев**, 1990).

Разработка этой проблемы особенно актуальна для **Беларуси**, поскольку в регионах, **пострадавших** от аварии на **ЧАЭС**, отмечен особенно **значительный** рост психической дезадаптации и уровня потребления наркотических веществ (**В.В.Филипенко**, 1994; **В.В.Лелевич**, **В.М.Шейбак** 1994). Кроме того, учитывая возможность усугубления соматических нарушений, необходимо проведение комплексных исследований по изучению совместного влияния инкорпорированных радионуклидов и этанола на обмен веществ.

Превращения практически всех свободных аминокислот в **тканях**.

Список сокращений: ААК - ароматические аминокислоты, АОА - антиокислительная активность, АРУЦ - аминокислоты с разветвленной углеводородной цепью, ЗА - заменимые аминокислоты, НА - незаменимые аминокислоты, КоА - кофермент А, ПВ - **предпочитающие** воду животные, ПЭ - **предпочитающие** этанол

животные, ПАК - пантотеновая кислота, ПАКСа - пантотенат кальция, ФПАКСа - фосфопантотенат кальция, ПЛ - пантеол, ПТ - пантетин, ФПН - фосфопантетенн проходят стадии образования соответствующих ацилпроизводных КоА. Так, метаболизм АРУЦ (лейцин, изолейцин, валин) приводит к образованию ацетил-, пропионил- или сукцинил-КоА. Концентрации КоASH и ацил-КоА, через соответствующие дегидрогеназы кетокислот, контролируют многочисленные реакции катаболизма АРУЦ, серосодержащих и ароматических аминокислот, а также соответствующих кетокислот. Кроме того, ряд аминокислот (метионин, цистеин, серин) непосредственно участвуют в синтезе коферментных производных ПАК - ФПН, дефосфо-КоА и КоА (A.Meister, 1965).

Этанол нарушает обмен аминокислот как вследствие гиперпродукции НАДН, так и путем конкуренции аминокислот с ацетальдегидом и ацетатом за места связывания на ферментах, рецепторных и транспортных белках. Влияние хронического потребления этанола на всасывание аминокислот, их транспорт и метаболизм представляет большой теоретический и практический интерес. Результаты изменений в плазме и тканях концентрации аминокислот могут объяснить или внести вклад в понимание механизма развития печеночной энцефалопатии, повышение продукции коллагена, изменение содержания нейротрансмиттеров [C.S. Lieber, 1989; Ю.М.Островский, 1988; К.Цацаниди, 1994]. Хроническое потребление алкоголя приводит к снижению уровня КоА в тканях. Основным механизмом при этом, по-видимому, является прямое ингибирующее действие образующихся ацетальдегида, ацетата и ацетил КоА на ферменты синтеза КоASH (J.Iannucci et al., 1982; J.Robishaw & J.Neely, 1985).

Использование природных биологически активных соединений в общих схемах лечения больных алкоголизмом в настоящее время является во многом эмпирическим и до сих пор не основано на глубоком понимании метаболизма этих соединений. Пока немногочисленны научно обоснованные рекомендации по выбору оптимальных аминокислотных композиций для лечения больных алкоголизмом. Изучение аминокислотного спектра в плазме крови и ткани печени в динамике ежедневного поступления в организм этанола, кроме того, может внести вклад в расшифровку механизма формирования толерантности к алкоголю. Тесно сопряжены с этой

проблемой исследования уровней свободных аминокислот и структуры аминокислотного фонда в тканях в условиях развития алкогольного абстинентного синдрома, введения с целью коррекции аминокислотных смесей при хронической алкогольной интоксикации, а также изучение изменений аминокислотного обмена в динамике после прекращения хронической алкоголизации [Ю.М.Островский, 1989; C.S.Lieber, 1991].

Все вышеизложенное доказывает актуальность **предпринятого** исследования для более глубокого понимания механизма формирования нарушений, имеющих место при острой алкогольной интоксикации, развитии толерантности к этанолу, алкогольном **поражении** печени, а также выяснения длительности сохранения изменений, возникших в **организме животных** в результате поступления этанола и возможности их коррекции биологически активными соединениями природного происхождения.

Связь работы с крупными научными программами. Выполненное исследование является частью разрабатываемой сотрудниками Филиала Всесоюзного научного центра **наркологии** МЗ СССР темы: "Изучение биохимических механизмов патогенеза алкоголизма (**наркоманий**) и последствий алкогольной интоксикации. **Создание** новых лечебных и **профилактических** средств на основе природных соединений" номер госрегистрации **01.9.0.003870**, а также сотрудниками лаборатории медико-биологических проблем наркологии Гродненского государственного медицинского **института** тем: "Клинико-эпидемиологический **анализ** наркологических заболеваний и разработка эффективных методов их диагностики и лечения", номер госрегистрации - 1993284 и "Социально-эпидемиологический анализ наркологических заболеваний в республике Беларусь, разработка новых методов их профилактики и лечения", номер госрегистрации - **1994401**.

Проведенное исследование направлено на создание теоретических основ для разработки новых лекарственных препаратов направленного действия на основе производных пантотената - союзная научно-техническая проблема 0.43.01 "Изыскать новые, более эффективные лекарственные средства, разработать и освоить технологические процессы **производства** препаратов и их **лекарственных форм**", а также аминокислот в соответствии с Постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 21.01.92 г., решений

комиссии по науке и научно-техническому прогрессу Верховного Совета Республики Беларусь N 435/08 от 23 января 1991 г. и Министерства здравоохранения Республики Беларусь N06-10, 431 от 10 февраля 1992 г. по производству медпрепаратов на основе аминокислот, а также является фрагментом комплексной республиканской межотраслевой программы 43.01р. "Создать новые эффективные лекарственные препараты" (раздел VI).

ЦЕЛЬ И ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЯ

Целью настоящей работы явилось выяснение закономерностей нарушений обмена свободных аминокислот в тканях, а также возможности их коррекции, с учетом состояния внутриклеточной структуры фонда кофермента А при различных проявлениях экспериментального алкоголизма: - острой и хронической алкогольной интоксикации, повышении толерантности к алкоголю, синдроме отмены этанола.

Для реализации поставленной цели планировалось решить следующие задачи:

- изучить закономерности формирования структуры фонда кофермента А и пула свободных аминокислот в тканях при острой алкогольной интоксикации;

- исследовать особенности формирования фонда свободных аминокислот в тканях животных при повышении толерантности к этанолу;

- определить закономерности формирования аминокислотного фонда в тканях при поражении печени этанолом и галактозаминоном;

- на основе применения методов статистического анализа и математического моделирования определить степень выраженности аминокислотного дисбаланса в тканях животных при хронической алкогольной интоксикации и поступлении С пищей радионуклидов;

- выявить особенности формирования аминокислотного фонда в тканях животных и содержание КоА в печени в динамике алкогольного абстинентного синдрома;

- провести анализ фонда свободных аминокислот в плазме крови и ткани печени предпочитающих воду или этанол живот-

ных в динамике отмены этанола после хронической алкогольной интоксикации;

- выявить и обосновать целесообразность коррекции метаболического дисбаланса, вызванного поступлением в организм этанола, введением производных **пантотеновой** кислоты, аминокислотных смесей и других биологически активных природных соединений.

НАУЧНАЯ НОВИЗНА ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

В работе впервые проведено исследование изменений фонда свободных аминокислот в тканях и биогенеза КоА при экспериментальном алкоголизме. Предложена концепция формирования нарушений обмена свободных аминокислот, биотрансформации КоА и изменения процессов ацилирования в тканях **при** алкогольной интоксикации. Впервые **показана** зависимость формирования фонда свободных аминокислот тканей от обеспеченности организма животных пантотеновой кислотой.

Получены новые данные о влиянии производных пантотеновой кислоты, обладающих витаминной активностью, на **аминокислотный** баланс в плазме крови и ткани печени, а также функциональную активность коры надпочечников. Доказано улучшение процессов метаболической адаптации при назначении животным предшественников кофермента А.

Помимо общих закономерностей воздействия **производных** витамина на пул свободных аминокислот, впервые выявлены **индивидуальные** особенности влияния **отдельных** производных пантотената на уровень свободных аминокислот в **тканях**.

Впервые доказано, что одним из компонентов механизма гепатопротекторного **действия** **производных пантотената** является нормализация аминокислотного баланса в плазме крови и ткани печени.

Впервые выявлено снижение уровня КоА и активности **N**-ацетилтрансферазы в печени, а также наличие аминокислотного дисбаланса в тканях животных при алкогольном абстинентном синдроме.

Впервые обнаружено, что в составе спиртового экстракта солянки холмовой (**салсоколлин**) содержатся свободные аминокислоты, которые вносят существенный вклад в нормализацию амино-

кислотного баланса в тканях при ее использовании для лечения алкогольного абстинентного синдрома.

Впервые показано, что более низкая концентрация фракции **длинноцепочечных** ацил-КоА наблюдается у крыс предпочитающих этанол, по сравнению с **с** предпочитающими воду.

Новыми являются данные о влиянии полиглюкина и **реопо-**лиглюкина на алкогольную мотивацию, что сопровождается одновременным изменением концентраций свободных аминокислот в ткани печени.

Выявлены существенные различия в аминокислотных **пулах** плазмы крови и **ткани** печени предпочитающих этанол и предпочитающих воду животных после **хронической** алкогольной интоксикации, продолжающейся в **течение 6** месяцев. Различия в концентрациях свободных аминокислот в тканях этих групп животных сохраняются на протяжении 2,5 месяцев после прекращения поступления в организм этанола.

Впервые показано, что хроническая алкогольная **инток**сикация и одновременная **инкорпорация** радионуклидов усиливает аминокислотный дисбаланс в тканях животных.

Доказана быстрая утилизация в тканях экзогенно вводимых аминокислот в условиях хронической алкогольной интоксикации, которая сопровождается торможением процессов **перекисного** окисления **липидов** и способствует нормализации аминокислотного баланса.

ПРАКТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты работы, кроме **теоретического**, имеют и **практи-****ческое** значение, так как восполняют отсутствие сведений о взаимоотношении процессов формирования фонда свободных аминокислот в тканях животных, метаболизма производных пантотената и этанола на этапах реализации биологического действия этанола. Обнаружено, что общие закономерности воздействия производных пантотената на фонд свободных аминокислот, заключаются в **одно-**направленном изменении преимущественно концентраций **амино**кислот с разветвленной углеводородной **цепью** и ароматических аминокислот.

Доказано влияние производных пантотената на формирование фонда свободных аминокислот в тканях как в нормальных условиях, так и при патологических состояниях. Экспериментально показаны элементы гепатопротекторного действия производных пантотената при токсических поражениях печени, связанные с нормализацией аминокислотного баланса в тканях, а также выяснены механизмы влияния производных пантотената на функциональную активность коры надпочечников, что позволяет рекомендовать эти препараты для дальнейших испытаний, в том числе и при поражениях печени вирусного и токсического генеза.

Впервые показано, что инкорпорация радионуклидов животными приводит к аминокислотному дисбалансу в тканях, который усиливается при одновременном поступлении в организм этанола.

Важное теоретическое и практическое значение имеют данные о сохранении аминокислотного дисбаланса в плазме крови и ткани печени животных перенесших хроническую алкогольную интоксикацию в течение 2,5 месяцев после отмены этанола, что указывает на необходимость целенаправленной коррекции имеющих место нарушений метаболизма у больных алкоголизмом. Исследование механизмов формирования аминокислотного дисбаланса в плазме крови и ткани печени при хронической алкогольной интоксикации позволяет рекомендовать в качестве средств метаболитной терапии производные пантотеновой кислоты, содержащие свободные аминокислоты природные биологически активные соединения, а также аминокислотные смеси. Сравнительное изучение последних указывает на преимущества использования для этих целей "Полиамин".

Теоретические и практические результаты работы обосновывают применение существующих искусственных смесей аминокислот и создают теоретическую основу для составления новых композиций, содержащих биологически активные соединения природного происхождения, с целью направленной коррекции нарушений метаболизма у больных алкоголизмом.

ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ ДИССЕРТАЦИИ, ВЫНОСИМЫЕ НА ЗАЩИТУ

1. Острая алкогольная интоксикация приводит к снижению соотношения длинноцепочечные ацил-КоА/общий КоА, а также уменьшает количество предшественников биосинтеза КоА в печени.

2. Повышение толерантности животных к этанолу сопровождается прогрессивным снижением аминокислотного пула в плазме крови, увеличением относительного количества заменимых аминокислот, а также уменьшением соотношения аминокислоты с разветвленной углеводородной цепью/ароматические аминокислоты, что является следствием увеличения транспорта аминокислот в печень и свидетельствует о существовании аминокислотного дисбаланса в организме.

3 Формирование фонда свободных аминокислот в плазме крови и печени зависит от обеспеченности организма животных **пантотеновой** кислотой. Назначение пантотената кальция и **пантенола** при токсических поражениях печеночной ткани, вызванном введением этанола **и/или** галактозамина сопровождается уменьшением аминокислотного дисбаланса в плазме крови и ткани печени **животных**.

4. Животные, предпочитающие этанол, отличаются от особей предпочитающих воду по содержанию **некоторых** свободных аминокислот, а также более низкой концентрацией длинноцепочечных ацил-КоА. Хроническая алкогольная интоксикация у животных с исходно различной алкогольной мотивацией ведет к возникновению аминокислотного дисбаланса в плазме крови и печени различной степени выраженности: в плазме крови животных предпочитающих этанол имеют место более низкие концентрации метионина и его метаболитов, а также гликогенных аминокислот, **по** сравнению с уровнями этих соединений в плазме крови животных предпочитающих воду.

5. **Инкорпорация** радионуклидов приводит к развитию аминокислотного дисбаланса в тканях (главным образом, вследствие уменьшения концентраций незаменимых **аминокислот**), который усиливается в условиях хронической алкогольной **интоксикации**.

АПРОБАЦИЯ РАБОТЫ

Основные положения работы представлены в материалах и обсуждены на: Всесоюзном симпозиуме "Биохимия алкоголизма" (Гродно, 1980), республиканской конференции "Патогенетическая терапия вирусных гепатитов и их исходов" (Гродно, 1982), на IV Всесоюзном семинаре "Развитие общей теории функциональных систем" (Суздаль, 1982), 17-ой Конференции Европейского биохимического общества (Берлин, 1986), Всесоюзной конференции "Особенности липидного обмена в условиях Сибири и Дальнего Востока с учетом бытовых и пищевых факторов" (Чита, 1987), Всесоюзной конференции "Фармакологическая коррекция гипоксических состояний" (Гродно, 1991), IV, V и VI Конгрессах Европейского общества по биомедицинским исследованиям алкоголизма (Генуя, 1993; Штуттгарт, 1995, Стокгольм, 1997), конференции "Новые достижения в лечении алкоголизма" (Триест, 1993), международной конференции "Проблемы алкоголя и других наркотиков в период социально-экономических преобразований" (Киев, 1993), 38 и 41-ой международных конференциях "Предупреждение и лечение алкоголизма" (Прага, 1994, 1996), Беларусских симпозиумах гепатологов (Гродно, 1994, 1996), Республиканском съезде психиатров и наркологов Республики Беларусь (Минск, 1994), международных симпозиумах "Витамины и здоровье населения Беларуси и смежных регионов" (Гродно, 1995) и "Аминокислоты и их производные" (Гродно, 1996).

ОПУБЛИКОВАННОСТЬ РЕЗУЛЬТАТОВ

По материалам диссертации опубликовано 75 работ, из них 4 монографии, 35 статей и 1 авторское свидетельство.

ОБЪЕМ И СТРУКТУРА ДИССЕРТАЦИИ

Диссертационная работа состоит из введения, литературного обзора, описания материалов и методов, 5 -ти глав результатов собственных исследований, заключения, выводов и списка литературы. Работа изложена на 312 страницах машинописного текста и

содержит 47 рисунков и 74 таблицы. Список литературы включает 149 отечественных и 287 иностранных источников.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Экспериментальные модели и методы исследования.

В опытах использовано 1320 беспородных белых крыс массой 140-220 г, полученных из питомника РАМН "Рапполово", а также 40 мышей линии C57B1 и 80 мышей с генетически детерминированным гиперлипогенезом и гипергликемией линии C57B1/KsI (db/db), полученных из вивария НИИ эндокринологии и обмена веществ МЗ Украины и содержащихся на стандартном рационе со свободным доступом к воде.

Острую алкогольную интоксикацию моделировали однократным введением животным внутривентально 25% раствора этанола в дозах 1,5-4,5 г/кг массы. Курсовое назначение этанола осуществляли путем ежедневного введения животным 25% раствора алкоголя внутривентально (4,5 г/кг массы) с декапитацией через 1, 4, 7 и 10 суток при экспозиции на 1 или 24 ч, а также внутривентально (3,5 г/кг массы) с декапитацией в момент просыпания или через 24 ч после 1, 4, 7 и 10 суток от начала введения [Ю.А.Тарасов, 1988].

Отбор животных на ПВ или ПЭ производили в условиях свободного выбора между 5% раствором этанола и водой [Ю.М.Островский, 1980]. Полисахариды (полиглюкин или реополиглюкин) вводили ПВ и ПЭ животным четырехкратно внутривентально через сутки в дозе 3 мл/кг массы. Животных декапитировали через 24 ч после последней инъекции. После отбора крыс на группы ПВ и ПЭ моделировали хроническую алкогольную интоксикацию путем предоставления им 15% раствора этанола в качестве единственного источника питья в течение 6 месяцев. Среднесуточное потребление этанола составляло 6-6,5 г/кг массы. Декапитацию осуществляли непосредственно по окончании алкоголизации, через 1 и 7 суток, 1 и 2,5 месяца.

Моделирование алкогольного или токсического поражения печени осуществляли введением: а) внутривентально 25% раствора этанола в дозе 7 г/кг массы в течение 14 суток [А.Х.Абдрашитов, 1984], б) внутривентально галактозамина гидрохлорида в дозах

0,9 и 1,8 ммоль/кг массы [K.Decker, 1973], в) комбинированное поражение этанолом и галактозамином - 25% раствор этанола внутрижелудочно в дозе 7,5 г/кг массы в течение 1,5 месяцев, затем однократно внутривенно галактозамин гидрохлорид в дозе 400 мг/кг массы. В последнем эксперименте часть животных в течение 5 суток получала ПЛ в дозе 150 мг/кг массы или ПАКСа - 180 мг/кг массы. Декапитацию крыс осуществляли через 24 ч после последнего введения вышеуказанных соединений.

Предшественники биосинтеза КоА животным вводили: а) однократно подкожно - ПАКСа, ФПАКСа и ПЛ в дозе 100 мг/кг массы эквимолярно ПАКСа на 6 ч, б) ежедневно подкожно в течение 10 суток - ПАКСа, ФПАКСа, ПТ, цистеин в дозе 30 мг/кг массы эквимолярно ПАКСа, в) интактным и ПАК-дефицитным животным ПАКСа и/или цистеин однократно на 1 ч в дозе 30 мг/кг массы эквимолярно ПАКСа, г) животным с генетически детерминированной активацией липогенеза ПТ или ФПАКСа внутримышечно в течение 10 суток в дозе, эквимолярной 30 мг/кг массы ПАКСа. Производные ПАК назначали в дозах, которые соответствуют 1/20-1/50 LD50, рассчитанной в токсикологических экспериментах для ПАКСа [А.Г.Моиссенко, 1983].

Гипо- и гиперкортицизм воспроизводили путем двусторонней адреналэктомии, однократного п/к введения АКГГ (2 ЕД/100 г) на 1,2,4 и 6 ч, а также жесткой фиксацией крыс различной продолжительности (от 1 до 72 ч). Производные ПАК вводили животным с различным исходным функциональным состоянием коры надпочечников в витаминной (3,3 мг/кг массы) или терапевтической (30 мг/кг массы) дозах эквимолярно ПАКСа.

Влияние инкорпорации радионуклидов на исследуемые показатели определяли после скармливания животным зерна с их повышенным содержанием. Содержание радионуклидов в используемом в эксперименте корме (зерно-овес) было следующим: в контроле - цезий-137 - 44,2 Бк/кг, стронций-90 - 1,7 Бк/кг; в опыте - цезий-137 - 445,5 Бк/кг, стронций-90 - 15,5 Бк/кг зерна. Через 1 месяц суммарное накопление радионуклидов в подопытной и контрольной группах крыс различалась почти в 10 раз и составила 82,3±7,2 Бк/кг в подопытной группе, против 6,7±2,03 Бк/кг в контрольной группе. Хроническую алкогольную интоксикацию в этих условиях осуществляли путем предоставления животным в

качестве единственного источника жидкости 15% раствора этанола (потребление этанола составило 4,5 г/кг массы/сутки).

Алкогольный абстинентный синдром моделировали методом **интрагастральных** интубаций по **Maichrowich** в модификации **А.Х.Абдрашитова** (1983). Крысам внутривентрикулярно вводили 25% раствор этанола в дозе 5 г/кг массы в 2 раза в сутки с интервалом 12 ч на протяжении 5,5 суток. Животных **декапитировали** через 3 ч, 1, 3 и 7 суток после последнего введения этанола. Спиртовой экстракт солянки **холмовой (салсоколлин)** вводили 2 раза в сутки в **течение** всего срока моделируемого алкогольного абстинентного синдрома (7 суток) в дозе 100 мг/кг массы.

Ампинозоли "Альвезин", "Левамин" и "Полиамин" вводили после 7 месяцев хронической алкогольной интоксикации, вызванной потреблением 15% раствора этанола в качестве **единственного** источника питья, **внутрибрюшинно** в дозе 15 мл/кг массы на срок 1 и 24 ч.

Свободные аминокислоты и их производные определяли в хлорнокислых экстрактах **одноколоночным** методом **ионообменной** хроматографии на автоматическом анализаторе аминокислот **AAA-T-339M ("Микротехна", ЧСФР)** [Дж.Бенсон, Дж.Петерсон, 1974]. **КоASH** и **ацетил-КоА** определяли методом высоко-эффективной жидкостной хроматографии на колонке **Separon 5C-X-C** градиентным элюированием [В.М.Шейбак, Е.М.Дорошенко, 1991]. Определение фракций фонда КоА в **печени** (свободный КоА, кислоторастворимый КоА, короткоцепочечные ацил-КоА, длинноцепочечные ацил-КоА) производили после их дифференцированной экстракции **ферментативным** методом с использованием препарата 2-оксоглутаратдегидрогеназы [Williamson J.R., Corkey B.E., 1969], либо фосфотрансацетилазы [McDougal D.B., Dargatzis R.V., 1979]. Содержание КоА и предшественников его биосинтеза находили по реакции ацетилирования ариламина [А.Г.Моисеенок, 1979]. Активность **Н-ацетилтрансферазы** определяли по методу D.Evans (1989) в собственной модификации. Активность ацетил-КоА-синтетазы определяли как описано в работе С.Н.Омельянчик (1988). Интенсивность процессов перекисного окисления липидов оценивали по общей антиокислительной активности (АОА) и содержанию в тканях гидроперекисей липидов [Ю.А.Владимиров, 1973], концентрации малонового диальдегида [Н.Ф.Стальная, Т.Г.Гаришвили 1977], а

также уровню токоферола в плазме крови [Р.Ч.Черняускене, 1984]. Концентрацию 11-ОКС в плазме крови и ткани надпочечников измеряли флуориметрически [И.Я.Усватова, 1968]. Митохондриальное соотношение свободных НАД/НАДН оценивали расчетным путем на основании глутаматдегидрогеназной реакции [Н.И.Великий, 1987]. Математическая обработка данных проводилась на ПЭВМ IBM-AT-386 по программам для медико-биологических исследований из пакета BMDP [Dixon W., 1977].

НАРУШЕНИЯ МЕТАБОЛИЗМА КОА И ОБМЕН СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ ПРИ ОСТРОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Однократное назначение этанола в зависимости от дозы (1,5-4,5 г/кг массы) и времени после его введения (0,5-24 ч) различным образом влияет на общее содержание КоА и, соответственно, структуру фонда КоА в ткани печени. Однако, во всех исследованных экспериментальных ситуациях имеет место снижение соотношения ДЦА КоА/общий КоА. Одновременно, при острой алкогольной интоксикации повышается скорость метаболизма ацетата, о чем свидетельствует активация N-ацетилтрансферазы и ацетил-КоА-синтетазы на 45% и 33% соответственно, через 30 мин после введения этанола в дозе 3,5 мг/кг массы.

Предварительное курсовое введение производных ПАК до инъекции этанола, помимо предупреждения влияния последнего на структуру фонда КоА в печени, оказывает воздействие и на активность ферментов, утилизирующих ацетат - ацетил-КоА синтетазу и N-ацетилтрансферазу. Последнее во многом определяется индивидуальной структурой вводимых соединений. Так, если после назначения ПЛ не изменяется активность исследованных ферментов, то курсовое введение ПАКСа предупреждало увеличение активности N-ацетилтрансферазы, а ФПАКСа - ацетил-КоА синтетазы. Вместе с тем, однократное введение этанола в дозе 4,5 г/кг массы снижает интенсивность ацетилирования сульфадимезина в организме животных, а предварительное курсовое назначение витаминных предшественников КоА препятствует этому. Однако, это не только не предотвращает наблюдаемое снижение соотношения ДЦА-

КоА/общий КоА, но даже приводит к его дальнейшему уменьшению. Анализ структуры фонда КоА в ткани печени после курсового введения производных ПАК и острой алкогольной интоксикации обнаруживает значительное уменьшение суммарного уровня КоА и предшественников его биосинтеза. В наибольшей степени оно имеет место в группе крыс, получавших ФПАКСа (снижение на 45%), и превышает значения, полученные после введения этанола ($p < 0,02$). Это обусловлено снижением концентраций ФПН и дефосфо-КоА, вследствие накопления КоА5Н и ацетил-КоА, приводящему к торможению начальных этапов биосинтеза КоА5Н по типу обратной связи [Fisher M., 1986]. Таким образом, поступление этанола в организм животных приводит к уменьшению активного пула SH-метаболитов КоА, что, с одной стороны, может способствовать активации их синтеза [J. Neely, 1986], а с другой, вследствие связывания ацетальдегида с функционально активными группами КоА-зависимых ферментов, тормозит синтез коферментных форм ПАК [J. Bode, 1970]. Высокая толерантность к этанолу (низкая продолжительность этанол-индуцированного сна) характеризуется более высокой скоростью биосинтеза ацетил-КоА (активность N-ацетилтрансферазы в печени более чем в 2 раза превышает таковую у долго спящих животных), что в условиях острой алкогольной интоксикации может быть одной из причин, приводящих к большей степени ингибирования реакций биосинтеза кофермента [E. Brass, 1992]. Обнаруженное нами изначально низкое содержание ДЦА-КоА в печени ПЭ крыс является регуляторным механизмом активации липогенеза и более активного использования ацетата этими животными для синтеза жирных кислот [М.И. Селевич, 1997]. Последнее обстоятельство подчеркивает важную роль собственно структуры внутрипеченочного фонда КоА в печени животных. Активная утилизация ацетата приводит к увеличению в печени этих животных концентраций заменимых аминокислот (аланин, глутамат, глутамин, глицин), что, вероятно обусловлено ингибированием их дальнейшего катаболизма, вследствие высокого содержания ацетил-КоА.

Модуляция количества потребляемого алкоголя или воды животными с различной исходной мотивацией введением полисахаридов сопряжена с колебаниями в печени концентраций незаменимых аминокислот. Так, после назначения полиглюкина у ПЭ в 3,6

раза снижается потребление воды при неизменном потреблении этанола, тогда как у ПВ животных в 2 раза уменьшается потребление 5% раствора этанола. У ПЭ крыс после введения реополиглюкина в условиях свободного выбора на 38% снижается потребление этанола. Анализ фонда свободных аминокислот и их производных в печени показывает, что после назначения полисахаридов изменяются, главным образом, концентрации валина, лейцина, **изолейцина**, а также **таурина**. Кроме того, следует отметить, наблюдаемое в печени ПЭ животных после введения реополиглюкина, повышение содержания тирозина, фенилаланина и гистидина. Изначально **различное** соотношение **АРУЦ/ААК** (у ПЭ - 1,44; у ПВ - 1,57) увеличивалось в подопытных группах после введения реополиглюкина (соответственно, до **2,16** и **2,06**).

Выявленные метаболические эффекты после курсового введения полисахаридов свидетельствуют о возможности воздействия этими соединениями на метаболизм свободных аминокислот в тканях, в частности в печени, и предполагает возможность влияния колебаний в метаболизме незаменимых и **ароматических аминокислот** на центральные механизмы формирования предпочтения у крыс с различным уровнем алкогольной мотивации.

Острая алкогольная интоксикация (**4,5 г/кг** массы) ведет к заметному обеднению аминокислотного пула плазмы крови уже через 1 ч. Снижение общего содержания свободных аминокислот **составляет** до 60% от контрольного уровня. В аминокислотном пуле плазмы крови увеличивается относительное количество ЗА. В наибольшей степени (до 80% от контрольных значений) уменьшаются концентрации ПА треонина, валина, лейцина, **изолейцина**, метионина, фенилаланина и лизина, а среди ЗА - серина, глицина и **глутамина**. Одновременно отмечается увеличение поступления аминокислот в ткани. Так, в печени общее содержание свободных аминокислот возрастает на 41% с преимущественным повышением уровней НА - треонина, лизина и тирозина, ЗА - серина, глутамата, глутамина и **орнитина**, а также фосфоэтаноламина и **этанолamina** (в среднем на 70-180%). При этом соотношение **ЗА/НА** снижается. Через 24 ч после введения наркотической дозы этанола в плазме крови продолжает иметь место снижение концентраций свободных аминокислот. Общая направленность этих изменений указывает на активацию процессов деградации свободных аминокислот и **повы-**

шение активности ферментов цикла мочевинообразования. Это также подтверждается разнонаправленными изменениями уровней таурина и фосфоэтанолamina, которые являются маркерами активации катаболических процессов в организме [Л.И.Нефедов и соавт. 1993].

ОБМЕН СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ В ПЕРИОД ПОВЫШЕНИЯ ТОЛЕРАНТНОСТИ К АЛКОГОЛЮ

Анализ пула свободных аминокислот и их производных в плазме крови в условиях ежедневного внутрижелудочного поступления этанола в дозе 4,5 г/кг массы обнаруживает снижение концентраций большинства определяемых нами соединений. Этот эффект регистрируется уже через 60 мин и сохраняется на протяжении всего периода введения алкоголя (10 суток). Обеднение аминокислотного фонда при этом составляет до 38-64% от уровня контрольных значений. В плазме крови повышается относительное содержание ЗА. Соотношение АРУЦ ААК через 60 мин после поступления этанола в организм на протяжении 7 суток регистрируется ниже контрольных значений, однако после 10-ой инъекции оно достоверно повышается. В печени, напротив, отмечается повышение концентраций свободных аминокислот, что, вероятно, обусловлено воздействием этанола на мембранные транспортные системы, обеспечивающие поступление аминокислот в ткани [H.Christensen, 1979].

Обеднение аминокислотного пула плазмы крови сохраняется у животных и через 24 ч после поступления в организм алкоголя. При этом, в еще большей степени увеличивается относительное количество ЗА. Вместе с тем, уже через сутки после введения этанола обнаружена выраженная тенденция увеличения концентраций большинства аминокислот до уровня контрольных значений, а через 24 ч после 10-ой инъекции этанола в плазме крови достоверно снижено содержание только НА - лизина, треонина, фенилаланина, а также конечного продукта деградации метионина - таурина. Отмена этанола в течение 7 суток практически полностью нормализует общее содержание свободных аминокислот в плазме крови. Однако, концентрации ряда НА (треонина, фенилаланина и лизина)

остаются ниже контрольных значений и, вследствие этого, соотношения ЗА/НА и АРУЦ/ААК регистрируются выше, чем в контрольной группе **животных**.

Острая алкогольная интоксикация приводит через 1 ч к увеличению общего количества свободных аминокислот в печени при одновременном повышении доли НА, в частности, лизина, треонина и фенилаланина. Одновременно значительно (почти в 3 раза) снижается количество **аланина**. Аналогичные изменения в спектре свободных аминокислот печени регистрируются в течении всего эксперимента (10 суток) через 1 ч **после введения** этанола. Через 24 ч в этой ткани сохраняется повышенное количество свободных аминокислот и увеличивается соотношение **ЗА/НА**. Кроме того, повышается концентрация гистидина и снижается уровень изолейцина. Вышеуказанные изменения в аминокислотном фонде печени наблюдаются на протяжении всего периода введения этанола на сроке 24 ч, однако, к 10 суткам происходит уменьшение концентраций гистидина и аланина. Через 7 суток после прекращения поступления этанола в организм животных не **обнаружено** полной нормализации показателей фонда свободных аминокислот в печени (сохраняются повышенными уровни **этанолamina** и фосфоэтанолamina, а также снижены концентрации гистидина и таурина).

Несмотря на полученные нами убедительные доказательства глубоких нарушений обмена свободных аминокислот в условиях алкогольной интоксикации, оставалось неясным имеют ли место подобного рода изменения в условиях слабой **алкоголизации**, когда отсутствует наркотический эффект. В следующей серии экспериментов животным внутрижелудочно вводили в течение 7 суток этанол в дозе **1,5 г/кг** массы, которая была разделена на 2 приема с интервалом 12 ч. Определения концентраций свободных **аминокислот** показали, что в плазме крови через 12 ч после последнего введения алкоголя на 13% снижено общее содержание свободных аминокислот, в 1,8 раза повысилось соотношение ЗА/НА, а соотношение АРУЦ/ААК снизилось с 2,20 до 2,09. Несмотря на относительно небольшую дозу вводимого этанола и отсутствие наркотического эффекта, обнаружено снижение уровней большинства из определяемых нами свободных аминокислот. Амплитуда этого снижения составляла **21-78%**. В наибольшей степени в плазме крови снижался уровень НА и среди них - фенилаланина, метионина, ли-

зина и гистидина (на 51-78%). В ткани печени увеличивается количество ЗА (главным образом, аланина и глицина), происходят разнонаправленные изменения концентраций таурина и фосфоэтаноламина, а также на 39% падает уровень лизина. В миокарде последствия слабой алкоголизации проявлялись снижением концентраций **изолейцина**, гистидина и **орнитина** (на 28%, 38% и 80%, соответственно). Вместе с тем, гораздо большие изменения отмечены нами в скелетных мышцах. На фоне достаточно значительного уменьшения концентраций основных гликогенных аминокислот - глицина, аланина и глутамина (на 23-45%), повышаются уровни незаменимых аминокислот - валина, метионина, фенилаланина, а также цистсиновой кислоты и этаноламина. На 23% снижается концентрация гистидина. Общая направленность **выявленных** изменений совпадает с полученными нами ранее данными и подтверждает наличие в этих условиях активации катаболических процессов, в частности, деградацию белковых молекул.

Ежедневное введение этанола в дозе 3,5 г/кг массы **внутрибрюшинно** на протяжении 10 суток изначально низкотолерантным к алкоголю животным приводит к **уменьшению продолжительности этанол-индуцированного сна** в среднем со 185 мин после первой инъекции до 36 мин после 10-го введения. Определение концентраций свободных аминокислот в плазме крови в момент просыпания животных и через 24 ч после первой инъекции показало, что, при одинаковом суммарном **уровне** свободных аминокислот, через сутки снижаются соотношения ЗА/НА и АРУЦ/ААК, уменьшаются концентрации практически всех ЗА, за исключением аланина, уровень которого был выше, **ЧСМ** в **момент** пробуждения. Концентрации НА - треонина, валина, метионина, фенилаланина и лизина, **напротив**, были выше, чем по окончании наркотического сна. **Курсовое** поступление этанола приводит к снижению суммарного аминокислотного пула плазмы крови на 30-35%, по сравнению с однократным его введением, при определении в момент пробуждения. Снижается относительное количество ЗА и повышается доля ароматических аминокислот. Вместе с тем, через 24 ч после введения этанола, уже после 7-ой инъекции суммарный пул свободных аминокислот увеличивается на 18%, а после 10-ой - на 45%. Одновременно повышается соотношение ЗА/НА (с 2,98 до 3,88) и падает соотношение АРУЦ/ААК с 3.53 до 2,08 (рис.1). Уровень аланина

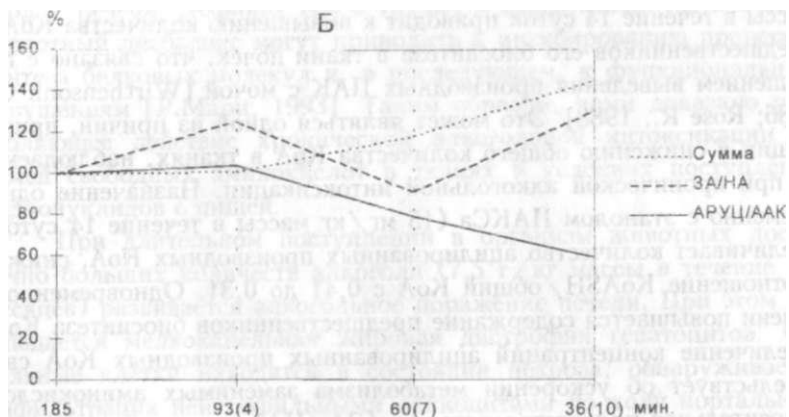
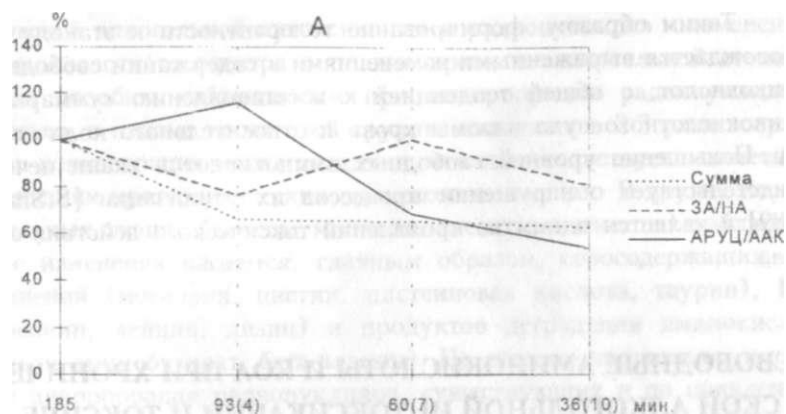


Рис.1. Изменение структуры аминокислотных пулов плазмы крови регистрируемые в момент пробуждения животных (А) и через 24 ч (Б) в динамике введения наркотической дозы этанола 3,5 г/кг массы (по оси абсцисс - время сна, в скобках - число введений этанола).

на сроке 24 ч прогрессивно увеличивается и достигает максимальных значений на 7-10 сутки.

Таким образом, формирование толерантности к этанолу сопровождается выраженными изменениями в содержании свободных аминокислот, с общей тенденцией к **восстановлению** суммарного аминокислотного пула плазмы крови и относительного количества ЗА. Повышение уровней свободных аминокислот в ткани **печени** свидетельствует о нарушении процессов их утилизации [S.Shaw, 1989] и является одним из проявлений токсического действия этанола.

СВОБОДНЫЕ АМИНОКИСЛОТЫ И КОА ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ И ТОКСИЧЕСКОМ ПОРАЖЕНИИ ПЕЧЕНИ

Поступление в организм животных этанола в дозе 7 г/кг массы в течение 14 суток приводит к повышению количества КоА и предшественников его биосинтеза в ткани почек, что связано с повышением выведения производных ПАК с мочой [Wirthensonh O, 1986; Rose R., 1988]. Это может являться одной из причин, приводящих к снижению общего количества КоА в тканях, наблюдаемого при хронической алкогольной интоксикации. Назначение одновременно с этанолом ПАКСа (15 мг/кг массы в течение 14 суток) увеличивает количество **ацилированных** производных КоА, снижая соотношение **КоASH/общий КоА** с 0,41 до 0,31. Одновременно в печени повышается содержание предшественников биосинтеза КоА. Увеличение концентраций ацилированных производных КоА свидетельствует об ускорении метаболизма заменимых аминокислот, относительное количество которых (**ЗА/НА**) в печени при хронической алкогольной интоксикации повышается (14,4v0,96 против 9v0,69 в контрольной группе, $p<0,05$).

Хроническая алкогольная интоксикация в течение 1 месяца (4,5 г/кг массы/сутки) приводит к обеднению пула свободных аминокислот в плазме крови при увеличении относительного количества ЗА и падении соотношения АРУЦ/ААК. Инкорпорация радионуклидов также сопровождается аналогичными изменениями в плазме крови. Кроме того, в плазме крови этой группы крыс отме-

чено снижение концентраций **треонина**, тирозина и **фенилаланина**, а также серина и **пролина**. При воздействии обоих факторов хронической алкогольной интоксикации и радионуклидов - изменения аминокислотного спектра в плазме крови в значительной степени были подобны наблюдаемым при инкорпорации **радионуклидов**. Однако, в плазме крови этой группы животных в 2-3 раза возросла концентрация **метилгистидина**, что свидетельствует о заметной активации протеолитических процессов в мышцах. В других исследованных тканях (печень, миокард, скелетные мышцы) наблюдаемые изменения касаются, главным образом, серосодержащих соединений (метионин, цистин, цистеиновая кислота, таурин), **НА** (треонин, лейцин, лизин) и продуктов деградации аминокислот (**альфа-аминобутират**, бета-аланин). По **степени** нарушения, в случае инкорпорации **радионуклидов**, существующих и по появлению новых высокодостоверных корреляционных связей между определяемыми показателями ($r > 0,75$) исследованные ткани располагаются в **следующем** убывающем порядке: скелетные мышцы **>** миокард **>** **печень**. Дефицит **НА** в тканях и выявленный нами аминокислотный дисбаланс могут приводить к **ингибированию** процессов синтеза белковых молекул и, в последующем, к функциональным нарушениям [Р.Мари, 1993]. Таким образом, нами доказано усугубляющее действие хронической алкогольной интоксикации на обмен свободных **аминокислот** в тканях в условиях поступления радионуклидов с пищей.

При длительном поступлении в организм животных достаточно больших количеств алкоголя (7,5 г/кг массы в течение 1,5 месяцев) развивается алкогольное поражение печени. При этом наблюдается **мелкокапельная** жировая дистрофия гепатоцитов. Отдельные клетки **находятся** в состоянии некроза, обнаруживается инфильтрация **нейтрофильными** лейкоцитами по ходу портальных трактов. На этом фоне в плазме крови увеличивается уровень свободных аминокислот. При этом заметно повышается доля **ЗА** и уменьшается соотношение **АРУЦ/ААК**. В печени нарушения аминокислотного спектра носят более выраженный

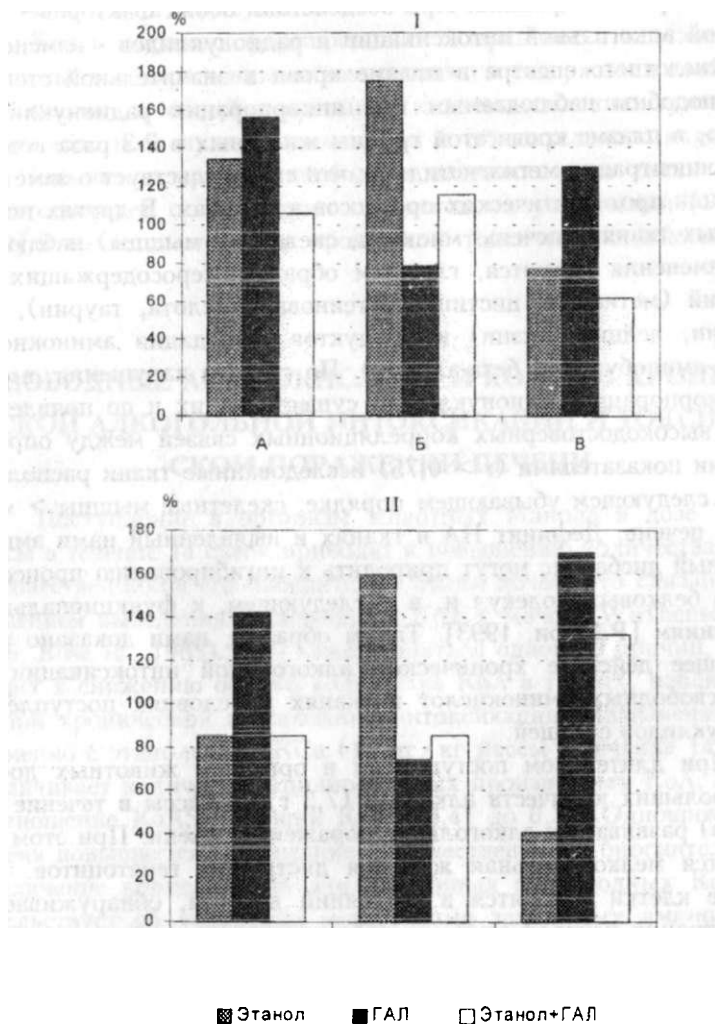


Рис.2. Изменения общего содержания аминокислот (А), соотношения заменимые/незаменимые (Б) и разветвленные/ароматические аминокислоты (В) в плазме крови (I) и печени (II) крыс с токсическим поражением печени этанолом и /или галактозамином (100% - контроль).

характер и проявляются общим снижением суммарного количества аминокислот, увеличением содержания ЗА и падением соотношения АРУЦ/ААК (рис.2). Эти изменения отличаются от нарушений, наблюдаемых при остром гепатите, вызванном введением в организм животных галактозамина. После введения этого гепатотоксина в печени также уменьшалось количество КоА и предшественников его биосинтеза. В митохондриях печени дозозависимо снижается количество короткоцепочечных ацил-КоА и повышается уровень ДЦА-КоА, что в свою очередь ингибирует КоА-зависимые ферменты (особенно, пируватдегидрогеназу с $11 \pm 0,5$ до $8 \pm 0,7$ нмоль декарбоксилированного пирувата/мг белка, $p < 0,05$). Увеличение количества ДЦА-КоА в митохондриях свидетельствует о замедлении процесса их внутримитохондриального окисления, одной из причин которого может быть ингибирование галактозамином карнитин-пальмито-илтрансферазы. При остром токсическом повреждении печени биосинтез КоА из ПАК нарушается в результате снижения активности пантотснаткиназы из-за развивающегося в гепатоцитах энергетического дефицита [Аджапаров Д., 1989]. О нарушении метаболизма свободных аминокислот и развитии деструктивных процессов свидетельствует резкое повышение их общего содержания в плазме крови и ткани печени. Через 24 ч после введения галактозамина наблюдается уменьшение соотношения ЗА/НА и увеличение соотношения АРУЦ/ААК как в плазме крови, так и в ткани печени. Значительное увеличение концентраций НА - треонина, лейцина, изолейцина, частично незаменимой - гистидина, а также повышение содержания других свободных аминокислот в печени тоже является свидетельством энергетического дефицита в гепатоцитах [K.Decker, 1974]. Дополнительное назначение галактозамина на фоне алкогольного поражения печени проявляется усилением аминокислотного дисбаланса как в плазме крови, так и в ткани печени. При этом, в плазме крови животных происходит увеличение концентраций тирозина и орнитина, а также снижение содержания лизина. В печени животных резко возрастают уровни метионина, лейцина, лизина и тирозина.

Экспериментальное повреждение печени можно рассматривать как гепатотропную модель, при которой развивается функциональная недостаточность ПАК с последующим нарушением метаболизма КоА и снижением интенсивности процессов ацилирова-

ния. Уменьшению содержания общего КоА сопутствует падение количества предшественников биосинтеза кофермента. Причем подобные изменения нами отмечены как в цельной ткани печени, так и в митохондриальной фракции.

СВОБОДНЫЕ АМИНОКИСЛОТЫ, КОА И КОА- ЗАВИСИМЫЕ РЕАКЦИИ ПРИ АЛКОГОЛЬНОМ АБСТИ- НЕНТНОМ СИНДРОМЕ И В ОТДАЛЕННЫЕ СРОКИ ПОСЛЕ ПРЕКРАЩЕНИЯ ПОСТУПЛЕНИЯ АЛКОГОЛЯ В ОРГАНИЗМ

Алкогольный абстинентный синдром у животных развивается на фоне **гипсертрофии** надпочечников и повышении в них содержания **кортикостерона**. В надпочечниках **увеличиваются** концентрации **фосфостаноламина** (на 42-53%) и таурина (почти в 2 раза). К **7 суткам** абстиненции происходит уменьшение содержания гликогенных аминокислот: аланина, аспартата и глутамата, тогда как уровень глицина достоверно повышается. Более чем двукратное увеличение общего количества свободных аминокислот в этой ткани не нормализуется на **протяжении 7 суток** после **прекращения** поступления алкоголя в организм.

Анализ пула свободных аминокислот в плазме крови **животных** с алкогольным абстинентным синдромом показывает, что как на 3-е, так и на 7-е сутки абстиненции сохраняется снижение общего содержания аминокислот (**соответственно, на 27 и 19%**). Соотношение **ЗА/НА** увеличено в среднем в 1,4 раза. Между тем, функциональное состояние печени, оцениваемое по соотношению **АРУЦ/ААК** продолжает ухудшаться, составляя на 3-е сутки **86%**, а на 7-е 84% от контрольных значений. Одновременно, в плазме крови снижены концентрации **НА** - треонина на 57%, валина на 30%, лизина на 77%, а также гистидина на 63%. Между тем, в ткани печени, вследствие увеличения концентраций ряда **ЗА**, аминокислотный фонд повышен. Среди **НА** в печени снижено **относительное** количество ароматических аминокислот (соотношение **АРУЦ/ААК** повышено в 1,6 раза). Следует отметить, что на 7-е сутки абстинентного синдрома аминокислотный **дисбаланс** в печени выражен в гораздо большей степени: повышаются концентрации практически всех **ЗА** - аспартата, серина, глутамина, глицина и

аланина, тогда как **содержание НА** - метионина, **изолейцина**, фенилаланина и лизина составляет только 45-73% от контрольных значений. Аналогичные, в целом, данные получены в миокарде и скелетных мышцах: в период алкогольного абстинентного синдрома повышаются концентрации ЗА и снижается **содержание НА**. Вместе с тем, в скелетных мышцах в исследованные периоды алкогольного абстинентного синдрома увеличено количество АРУЦ, тогда как в миокарде, напротив, содержание этих аминокислот **снижено**.

Алкогольный абстинентный синдром сопровождается снижением содержания КоА в ткани печени, которое сохраняется в течение 7 суток практически на одинаковом уровне (29-37%). Аналогичным образом изменяется активность **N-ацетилтрансферазы**. Длительное воздействие стресс-фактора (как это имеет место при алкогольном абстинентном синдроме) и возникающая **надпочечниковая недостаточность** также могут способствовать снижению уровня КоА, что подтверждено нами моделированием ситуаций с различной функциональной активностью коры надпочечников. Развитие **вышеуказанных** нарушений метаболизма, происходящих при алкогольном абстинентном синдроме, сопровождается **активацией** процессов **перекисного** окисления липидов как в ранние (3 ч), так и в поздние сроки (7 суток) после прекращения **алкоголизации**.

Известно, что после прекращения хронической алкогольной интоксикации сохраняются нарушения дофаминовых и **ГАМК-рецепторов** мозга [Н.Векшина, 1994, 1996]. При длительном контакте с алкоголем (6 месяцев) потребление его животными с различной алкогольной мотивацией становится одинаковым. Вместе с тем, учитывая изначально существующие различия в обмене аминокислот у ПВ и ПЭ крыс [Ю.М.Островский, 1988], особый интерес приобретают исследования биохимических процессов, протекающих в организме этих животных после прекращения хронической алкоголизации. В результате хронической алкогольной интоксикации у ПЭ животных происходит снижение общего количества свободных аминокислот в плазме крови. Через 24 ч после отмены этанола эти различия между группами исчезают, но через 2,5 месяца после прекращения алкоголизации в плазме крови животных обеих групп регистрируется обеднение пула свободных аминокислот и их производных (**рис.3**).

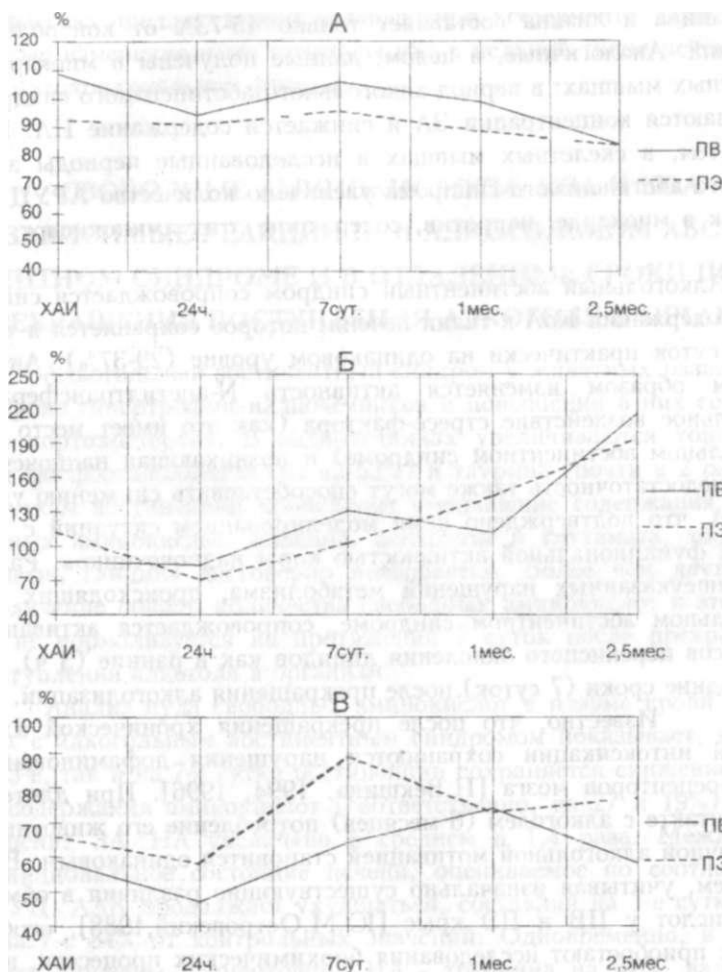


Рис. 3. Изменения в плазме крови общего содержания свободных аминокислот (А), соотношений заменимые/незаменимые (Б) и разветвленные, ароматические (В) аминокислоты в динамике отмены этанола у предпочитающих воду (ПВ) или этанол (ПЭ) крыс после 6 мес. хронической алкогольной интоксикации (ХАИ) (100% - контроль).

В **ткани** печени ПЭ крыс в результате хронической алкогольной интоксикации также происходит снижение общего количества свободных аминокислот. Аналогичные данные были получены через 7 суток после отмены этанола, но к 2,5 месяцам отмены этанола уровень свободных аминокислот и их производных в печени как у ПЭ, так и ПВ крыс регистрировался **выше** контрольных значений. При этом в большей степени его повышение отмечается в группе ПВ животных. Хроническая алкогольная интоксикация различным образом влияет на соотношение **ЗА/НА** в **плазме** крови, которое снижается у ПВ и повышается у ПЭ животных. Происходит увеличение содержания ароматических аминокислот в печени, вследствие чего снижается соотношение **АРУЦ/ААК** (в большей степени у **ПВ животных**). Его нормализации не отмечается на протяжении 2,5 месяцев после отмены этанола как в **группе** ПВ, так и в группе ПЭ крыс. Хроническая алкогольная интоксикация приводит к повышению в **плазме** крови ПВ и ПЭ **животных** концентраций тирозина, **этанолamina**, лизина и гистидина. Вместе с тем, животные ПВ и ПЭ групп отличаются по содержанию **треонина**, **глицина**, метионина и **цистеиновой** кислоты, уровень **которых** был ниже у ПЭ крыс. В ткани печени всех групп животных снижается содержание серина, валина и лейцина. При этом, в печени ПЭ крыс ниже концентрации **треонина**, **цистатинина** и **изолейцина**. Через 2,5 месяца после отмены алкоголя в обеих группах животных обнаружено снижение количества **НА** в плазме крови: у ПВ это **треонин**, **валин** и **лейцин**; в группе ПЭ - **треонин**, **метионин**, **лейцин** и **лизин**. В плазме крови как **ПВ**, так и ПЭ животных выше контрольных значений содержание **глутамата** и **глицина**. В ткани печени на этом сроке эксперимента имеют место изменения концентраций практически всех свободных аминокислот, за исключением таурина в группе ПВ и фенилаланина в группе ПЭ крыс. Различия между исследуемыми группами регистрируются именно в отношении уровней таурина и фенилаланина, которые в ткани печени этих групп животных изменялись противоположным образом. **Увеличение** концентрации **ЗА** указывает на торможение активности процессов их утилизации, и, поскольку это изначально характерно для ПЭ животных, можно предположить существование выраженной алкогольной мотивации в обеих группах животных.

ДЦА-КоА/общий КоА, очевидно, что поскольку поступление в организм этанола ведет к увеличению количества ацетил-КоА и одновременно ингибирует биосинтез КоА, такого рода воздействие нарушает утилизацию свободных аминокислот, в первую очередь **гликогенных**, за счет которых формируется большая часть внутриклеточного пула ацетил-КоА. С другой стороны, торможение начальных этапов биосинтеза КоА (на уровне **пантотенаткиназы**) **ацетальдегидом, ацстатом** и ацил-КоА снижает использование серо**содержащих** аминокислот, главным образом метионина, по этому биосинтетическому пути. Таким образом, повышенная метаболическая загруженность фонда КоА усугубляется снижением концентрации свободной формы кофермента, что ведет к дальнейшему повышению соотношения **ацетил-КоА/КоASH**. Обнаруживаемый при этом метаболический и, в частности, аминокислотный дисбаланс указывает на необходимость проведения его направленной коррекции.

КОРРЕКЦИЯ НАРУШЕНИЙ ОБМЕНА СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ И КОА ВВЕДЕНИЕМ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ПРИРОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ: МЕТАБОЛИТНАЯ ТЕРАПИЯ

С целью изучения влияния производных ПАК на обмен свободных аминокислот, были проведены эксперименты на животных с различной обеспеченностью этим витамином. Пищевая недостаточность ПАК сопровождается повышением концентраций глицина и таурина в печени. Однократное введение производных ПАК на срок 6 ч нормальным животным, напротив, ведет к обеднению аминокислотных пулов плазмы крови и ткани печени. Общегрупповой эффект назначения ПАКСа, ФПАКСа и ПЛ заключается в уменьшении в плазме крови концентраций **аспартага, треонина, гистидина** и АРУЦ. Соотношение АРУЦ/ААК при этом уменьшается и, кроме того, после введения ПЛ выявлено заметное преобладание ЗА. После введения производных **ПАК** происходит снижение концентраций тех аминокислот, в катаболизме которых особенно активное участие принимают КоА3Н и ацил-КоА [Spemitro S.,

1989; Tessari P., 1993]. Среди исследуемых **препаратов** наибольшие **изменения выявлены** после введения животным **ПЛ**.

Следствием курсового (в течение 10 суток) назначения ПАКСа, ФПАКСа, ПТ и **ПЛ** в эквимоларной дозе 30 мг/кг массы является увеличение в ткани печени, главным образом, концентраций лейцина и изолейцина, а также ААК, следствием чего является уменьшение соотношения АРУЦ/ ААК. Изменения в фонде свободных аминокислот печени после курсового введения витаминных **предшественников** биосинтеза КоА значительно меньше, чем **после** однократного их назначения. Только **в группе** животных, **получавших** ФПАКСа, на 28% снизилось общее содержание аминокислот. Следует отметить увеличение соотношения ЗА/ НА после курсового введения ПТ. Характерным является также снижение концентрации аланина, наиболее выраженное после введения ПАКСа **или** ФПАКСа, что свидетельствует об **ингибировании** глюконеогенеза [F.Beauge, 1979]. Это подтверждается обнаруженным нами **ранее** снижением уровня гликемии **при** инсулинзависимом или инсулин-независимом диабете после введения ФПАКСа. Нами показано, что **фармакотерапевтическая** активность производных ПАК обусловлена, главным образом, увеличением тканевого уровня КоА, степень повышения которого определяется характером взаимодействия **витаминого** предшественника с системой биогенеза КоА [В.М.Шейбак, 1989]. Вместе с тем, основным является изменение внутриклеточной структуры фонда КоА, оказывающее воздействие на КоА-зависимые ферментативные процессы, что и приводит к изменениям в метаболизме свободных аминокислот. При поступлении в организм избыточных количеств витамина наступает, вероятно, метаболическая адаптация, в результате чего регистрируются значительно меньшие колебания спектра свободных аминокислот.

На важную роль КоА и ацил-КоА в регуляции метаболизма **гепатоцитов** указывают и данные, полученные у животных с генетически детерминированным гиперлипогенезом. Курсовое введение ФПАКСа или ПТ нормализует у них уровень КоА в печени. Расчеты соотношений отдельных компонентов в структуре фонда КоА показали, что коэффициенты **КоASH/короткоцепочечные** ацил-КоА и **КоASH/ ДЦА-КоА**, повышенные при стимуляции липогенеза, снижаются до уровня контрольных значений или ниже. Это доказывает, что введение производных ПАК в данной эксперимен-

тальной ситуации способствует модификации структуры фонда КоА, метаболически неблагоприятной для функционирования ферментов биосинтеза жирных кислот [Ф.С.Ларин, 1983; G.Lopaschuk, 1991]. Таким образом, введение производных ПАК животным с генетически детерминированным гиперлипогенезом подтвердило, что решающим фактором, оказывающим воздействие на нормализацию липидного обмена, является изменение внутриклеточной структуры фонда КоА в печени.

Как однократное, так и курсовое введение животным производных ПАК оказывает выраженное воздействие на функциональную активность коры надпочечников, реализующееся на уровне активации биосинтеза КоА в надпочечниках и секреции кортикостерона. Кроме того, назначение производных витамина оказывает стресс протекторное действие.

Нарушения структуры фонда КоА и активности некоторых КоА-зависимых ферментов при алкогольном или галактозаминном гепатитах удается в значительной степени нормализовать посредством курсового введения витаминных предшественников биосинтеза КоА. Назначение ПАКСа в дозе 180 мг/кг массы или ПЛ (150 мг/кг) в течение 5 суток позволяет уменьшить степень выраженности аминокислотного дисбаланса в плазме крови крыс с алкогольным гепатитом и, в значительной степени, препятствует развитию нарушений, наблюдаемых после введения таким животным галактозамина. Так, в плазме крови животных, получавших ПЛ, нормализуется содержание тирозина и орнитина, а в случае назначения ПАКСа происходит достоверное снижение уровня только цистеиновой кислоты. Анализ изменений спектра свободных аминокислот в печени показал, что ПАКСа оказывает больший, чем ПЛ, защитный эффект. Это проявляется значительно меньшим увеличением концентрации свободного метионина, по сравнению как с группой животных, получавших этанол, так и с животными, которым дополнительно вводили галактозамин. Назначение ПАКСа увеличивало в ткани печени содержание аспартата и глутамина, а также, вероятно, активировало метаболизм метионина, что проявлялось увеличением в печени количества продукта его деградации таурина (на 49% относительно контрольной группы животных и на 94% относительно животных, получавших этанол). Одновременно, введение в данных экспериментальных условиях ПАКСа или ПЛ

нормализует структуру фонда КоА в печени и повышает общее содержание КоА (С.Н.Омельянчик, 1994). Очевидно, что благоприятный эффект производных ПАК, назначаемых при поражении печени, реализуется как путем воздействия на систему биогенеза КоА, так и посредством нормализации аминокислотного баланса в плазме крови и ткани печени.

В последние годы активно изучается терапевтическая **эффективность** и показания к клиническому применению широкого спектра биологически активных препаратов, полученных из источников природного **происхождения**, одним из которых является спиртовой экстракт **Solsol collina** - салсоколлин. Нами проведен анализ аминокислотного состава данного препарата, который показал, что содержание свободных аминокислот составляет в нем 23,3 мкмоль/л. Среди определенных нами свободных аминокислот НА - 38%, из которых на долю АРУЦ приходится 55%, ААК - 14%. Среди НА особенно велико содержание треонина (21%), валина (27%) и лизина (8%).

Одновременно, препарат относительно беден серосодержащими аминокислотами. Так, суммарное количество **цистеиновой** кислоты, цистина, метионина и таурина составляет только 3,5% от общего содержания свободных аминокислот. Проведенное нами исследование влияния **салсоколлина** на обмен свободных аминокислот в условиях экспериментального алкогольного абстинентного синдрома показало, что **назначением** данного препарата в течение 3-7 суток абстиненции нормализует аминокислотный баланс во всех исследованных тканях (плазма крови, печень, миокард, скелетные мышцы), причем наиболее выраженный эффект имеет место в отношении АРУЦ. Практически на всех исследованных сроках абстиненции **под** влиянием препарата увеличивалось ранее сниженное количество лизина, что является весьма благоприятным, учитывая его способность связывать **ацетальдегид**. Кроме того, повышение концентрации треонина, способствуя нормализации образования эндогенного этанола, уменьшает алкогольную мотивацию (Ю.М.Островский, 1993).

Введение искусственных смесей аминокислот ("Альвезин", "Левамин", "Полиамин") крысам после 7 месяцев хронической алкогольной интоксикации снижает в тканях количество ТБК-реагирующих продуктов и гидроперекисей липидов, повышает ак-

тивность **каталазы** (особенно в ткани головного мозга) и увеличивает АОА. В определенной степени это может быть связано с непосредственным повышением концентраций свободных аминокислот в плазме крови и печени регистрируемым нами через 1 ч после введения **аминозолов**. Через сутки содержание свободных аминокислот в плазме крови остается повышенным (за исключением группы животных, получавших "Полиамин").

Введение аминозолов вызывает повышение общего количества свободных аминокислот в ткани печени, при одновременном снижении соотношения **ЗА/НА**. Это согласуется с данными, полученными для плазмы крови и, по-видимому, обусловлено высоким содержанием **НА** в используемых нами аминокислотных смесях. Через 24 ч после введения аминозолов в ткани печени происходит **снижение** общего содержания свободных аминокислот в группах животных, получавших "Альвезин" и "Левамин", но не "Полиамин". На этом сроке опыта в **печени** снижается соотношение **АРУЦ/ААК**, что связано, по-видимому, с накоплением в этой ткани тирозина (от 41% до 220% выше контрольных значений), образующегося из своего предшественника фенилаланина, в значительных количествах (от 3,5 до 7,2 г/л) содержащегося в **аминозолах**. При этом необходимо учитывать и снижение катаболизма ААК в печени после хронической алкогольной интоксикации. Поступление в организм животных аминозолов активизирует метаболизм серосодержащих соединений, что проявляется увеличением содержания таурина и падением уровня метионина в плазме крови. В печени через 1 ч после назначения аминозолов происходит повышение содержания, главным образом, **НА (метионин, валин, лейцин, изолейцин, тирозин и лизин)**. В отличие от плазмы крови, в печени концентрация таурина снижается при одновременном увеличении содержания **цистеиновой** кислоты и фосфоэтаноламина. Синхронно с изменениями, происходящими в плазме крови, в печени значительно (почти в 2 раза) увеличивается **концентрация** свободного лизина. Быстрая утилизация вводимых аминокислот и нормализация процессов перекисного окисления липидов после назначения аминозолов позволяет рекомендовать их более широкое использование для купирования алкогольного абстинентного синдрома и лечения больных алкоголизмом.

ВЫВОДЫ

1. **Алкогольная** интоксикация приводит к снижению концентраций большинства свободных аминокислот в плазме крови и увеличению поступления их в ткани.

2. Нарушения процессов **ацилирования** при острой алкогольной интоксикации обусловлены изменением тканевой структуры фонда КоА и торможением реакций биосинтеза кофермента. Уменьшение относительного количества **длинноцепочечных** ацил-КоА в печени создает метаболические предпосылки для **активации** ферментов липогенеза и более активного использования ацетил-КоА в синтезе жирных кислот.

3. **Повышение** толерантности к алкоголю при неоднократном его поступлении в организм животных сопровождается адаптивными изменениями в аминокислотном спектре плазмы крови с увеличением относительного количества заменимых аминокислот.

4. В плазме крови крыс с хронической алкогольной интоксикацией снижено **общее** количество свободных аминокислот и их производных. Структура аминокислотного пула крови характеризуется повышением содержания фракции заменимых аминокислот и уменьшением соотношения **разветвленные/ароматические** аминокислоты.

5. Поступление **С** кормом радионуклидов цезия и стронция приводит к снижению количества свободных аминокислот в плазме крови и тканях при одновременном увеличении доли заменимых аминокислот. Совместное воздействие двух поражающих факторов - хронической алкогольной интоксикации и инкорпорированных радионуклидов, вызывает значительное увеличение уровня метилгистидина в плазме крови, что свидетельствует об активации протеолитических процессов в **мышечных** тканях.

6. Проведенный корреляционный и **линейно-дискриминантный** анализ исследуемых показателей для ряда тканей (плазма крови, печень, миокард, мышца) выявил наличие как однонаправленных сдвигов, так и особенностей, характерных для каждого из поражающих факторов и показал, что хроническое потребление алкоголя усиливает аминокислотный дисбаланс в тканях, обусловленный инкорпорацией **радионуклидов**.

7. У животных с алкогольным поражением печени общее содержание свободных аминокислот в плазме крови **увеличивается**,

вследствие повышения, главным образом, концентраций заменимых аминокислот. В плазме крови имеет место снижение соотношения **разветвленные/ароматические** аминокислоты. В печени, при общем уменьшении фонда свободных аминокислот, также происходит увеличение относительного количества заменимых аминокислот, снижение соотношения **разветвленные/ароматические** аминокислоты и содержания кофермента А.

8. Для острого токсического гепатита, вызванного **введением** галактозамина, характерно нарушение биогенеза кофермента А и торможение активности КоА-зависимых реакций. При этом в плазме крови и ткани печени увеличивается содержание свободных аминокислот, главным образом, незаменимых. Повышение соотношения **разветвленные/ароматические** аминокислоты свидетельствует о резкой активации катаболических процессов и нарушении биосинтеза белка в **гепатоцитах**.

9. Введение **галактозамина** животным с алкогольным гепатитом усиливает аминокислотный **дисбаланс** в плазме крови и печени. В плазме крови резко увеличивается содержание тирозина и **орнитина**, а в **печени** - концентраций метионина и **орнитина**.

10. При алкогольном абстинентном синдроме в плазме крови снижено суммарное содержание свободных **аминокислот** и их производных и увеличено соотношение **заменяемые/незаменимые** аминокислоты. Функциональное состояние печени, оцениваемое по соотношению **разветвленные/ароматические** аминокислоты, постепенно ухудшается. Аминокислотный **дисбаланс** усиливается и в других **тканях** (миокард, скелетная мышца), где также повышается относительное количество заменимых аминокислот. В печени **снижается** уровень КоА и активность **Н-ацетилтрансферазы**. Гипертрофии надпочечников сопутствует увеличение содержания **корти-костерона** и фонда свободных аминокислот в этой ткани.

11. На протяжении 2,5 месяцев после 6 месячной хронической алкогольной интоксикации, моделируемой на животных с исходно различной алкогольной мотивацией, в плазме крови и печени сохраняются существенные изменения в структуре аминокислотных пулов. Колебания уровней индивидуальных аминокислот затрагивают гликогенные, незаменимые и серосодержащие аминокислоты.

12. Обоснована теоретически и доказана экспериментально целесообразность использования биологически активных **соедине-**

ний природного **происхождения** (производные пантотената, смеси аминокислот, **полисахариды**, салсоколлин) для коррекции аминокислотного дисбаланса:

а) особенностью действия производных пантотената на обмен свободных аминокислот в плазме крови и ткани печени при алкогольной интоксикации является нормализация аминокислотного спектра и увеличение соотношения **разветвленные/ароматические** аминокислоты, обусловленное **нормализацией** процессов ацилирования и благоприятными изменениями внутриклеточной структуры фонда КоА;

б) назначение производных пантотената в значительной степени препятствует развитию аминокислотного дисбаланса, имеющего место при дополнительном введении галактозамина животным с алкогольным поражением печени;

в) благоприятный **эффскт** назначения **салсоколлина** при алкогольном абстинентном **синдроме** в отношении аминокислотного **дисбаланса** в тканях, обусловлен высоким содержанием свободных аминокислот в данном **препарате**;

г) изменения концентраций свободных аминокислот, структуры аминокислотных пулов в плазме крови и ткани печени, а также нормализация процессов перекисного **окисления** липидов, происходящая после введения аминокислот ("Альвезин", "Левамин", "Полиамин"), свидетельствуют об их эффективной утилизации, что **позволяет** рекомендовать более широкое использование аминокислотных смесей для **купирования** алкогольного абстинентного синдрома и лечения алкогольных поражений **печени**.

СПИСОК ОСНОВНЫХ ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ

1. Кочурко С.Н., Шейбак В.М., Ковальчук В.Г. Показатели, связанные с метаболизмом КоА в гепатоцитах белых крыс при нагрузке этанолом или ацетальдегидом // Биохимия алкоголизма: Тез. докл. Всесоюзн. симп. - Минск, 1980. - С.78.

2. Шейбак В.М. Изменения содержания ацилированных производных КоА в печени белых крыс в условиях разового и **дробного введения** наркотической дозы этанола и **ацетальдегида** // Биохимия алкоголизма: Тез. докл. Всесоюзн. симп. - Минск, 1980. - С.141.

3. Моисеенок А.Г., Шейбак В.М., Канунникова Н.П. и др. Фонд кофермента ацетилирования в печени крыс, **предпочитающих** потреблять этанол // Развитие общей теории функциональных систем. Суздаль, 1982. - С.302-312.

4. Шейбак В.М. Соотношение свободного и общего кофермента А печени **при** ее экспериментальном поражении **четырёхлористым углеродом** и галактозамином // В кн.: Патогенетическая терапия **вирусных** гепатитов и их исходов - Гродно, 1982. - С.146.

5. Моисеенок А.Г., Шейбак В.М., Гуринович В.А., Шатаненок Р.А. Биосинтез кофермента А, ацетатактивирующие системы и **липидный обмен** в печени животных с экспериментальным диабетом // Биохимические исследования патологических процессов. - Рига, 1983. - С.98-101.

6. Моисеенок А.Г., Нефедов Л.И., Шейбак В.М., Омелянчик С.Н. Уровень кислоторастворимого КоА и свободных аминокислот в печени пантотенатдефицитных белых крыс при раздельном и сочетанном введении пантотената и цистеина // **Вопр. питания.** - 1984. - N4. - С.37-40.

7. Моисеенок А.Г., Дорофеев Б.Ф., Шейбак В.М., Хомич Т.И. Антиоксические свойства производных **пантотеновой кислоты** - предшественников биосинтеза кофермента А в отношении **канамицина** // Антибиотики. - 1984. - N11. - С.851-855.

8. Моисеенок А.Г., Шейбак В.М., Бандажевский Ю.И., Омелянчик С.Н. Оценка митохондриального фонда кофермента ацетилирования при **галактозаминном** гепатите // Экспериментальная гепатология. - Рига, 1985. - С.56-60.

9. Тарасов Ю.А., Шейбак В.М., Моисеенок А.Г. Функциональная активность коры надпочечников при недостаточности пан-

тотената и введении витамина и его производных // *Вопр. питания.* - 1985. - N4. - С.51-54.

10.Моисеенок А.Г., Шейбак В.М., Горенштейн Б.И. СоА и СоА-зависимые митохондриальные ферменты при галактозаминном гепатите // *17-ая Конференция Европейского биохимического общества: Тез. докл. конф.* - Берлин, 1986. - С.221

11.Соотношение фракций КоА и активность монооксигеназ эндоплазматического ретикулума печени животных с экспериментальным гепатитом при введении производных пантотеновой кислоты / Л.И.Сушко Л.И., В.М.Шейбак, Г.З.Абакумов и др. - *Биологические мембраны и патология клетки.* - Рига, 1986 - С.139-144.

12.Moiseenok A.G., Sheibak V.M., Gurinovich V.A. Hepatic CoA, acyl-CoA, biosynthetic precursors of the coenzyme and pantothenate-protein complexes in dietary pantothenic acid deficiency // *Int. J. Vit. Nutr. Res.* - 1987. - V.57, N1. - P.71-77.

13. Изменение содержания и структура фонда коэнзима А в печени диабетических мышей (db/db) при курсовом введении никотинамида / И.Г.Обросова, А.Г.Моисеенок, А.С.Ефимов, В.М.Шейбак и др. - *Бюл. эксп. биол. и мед.* - 1987. - N5. - С.560-562.

14.Biochemical mechanism of the hypolipidemic and hypoglycemic effects of nicotinamide in various types of diabetes / I.G.Obrosova, A.S.Yefimov, V.L.Tsiruk V.M.Sheibak - *Diab. Croat.* - 1987 - V.16, N1. - P.21-35.

15.Биосинтез КоА и структура его фонда в печени мышей с диабетом (db/db) при введении производных пантотеновой кислоты / А.Г. Моисеенок, А.С.Ефимов, И.Г.Обросова, В.М.Шейбак и др. - *Пробл. эндокринологии* - 1987. - Т.33, N6. - С.45-49.

16.Шейбак В.М., Омсляничик С.Н., Хомич Т.И. Структура фонда КоА и активность КоА-зависимых ферментов в печени белых крыс при острой алкогольной интоксикации // *Особенности липидного обмена в условиях Сибири и Дальнего Востока с учетом бытовых и пищевых факторов: Тез. докл. Всесоюзн. конф.* - Чита, 1987. - С.129-130.

17.Ингибирование пантетином липогенеза из пирувата в печени мышей (db/db) / И.Г.Обросова, А.Г.Моисеенок, А.С.Ефимов, В.М.Шейбак и др. - *Докл. АН СССР.* - 1987. - Т.297, N1. - С.221-224.

18. Dorofeev B., Sheibak V., Moiseenok A. On the relationships between vitamin and pharmacotherapeutical doses of calcium pantothenate // Int. symposium on elevated dosages of vitamins benefits and hazards. - Interlaken, Switzerland, 1987. - P.28.

19. Шейбак В.М. Об использовании предшественников биосинтеза КоА для предупреждения токсического поражения печени // Тез. докл. IV Гродн. обл. конф. мол. ученых и специалистов. - Гродно, 1987. - С.126.

20. Нефедов Л.И., Шейбак В.М., Бухмет М.И. Моисеенок А.Г. Свободные аминокислоты печени крыс при введении этионина // Весці АН БССР. Сер. біял. навук. - 1988. - N5. - С.72-74.

21. Действие фосфопантотената на биосинтез холестерина и его эфиров из различных предшественников в печени мышей (db/db) / И.Г.Обросова, Ю.М.Островский, В.М.Шейбак и др. - Биохимия. - 1988. - Т.53, N11. - С.1797-1802.

22. Биохимические механизмы гиполипидемического действия пантетина при инсулиннезависимом диабете / И.Г.Обросова, А.Г.Моисеенок, А.С.Ефимов, В.М.Шейбак и др. - Хим.- фарм. ж. 1988. - N11. - С.1302-1307.

23. Моисеенок А.Г., Шейбак В.М., Гуринович В.А. Биохимические нарушения при недостаточности пантотеновой кислоты у животных // Метаболические эффекты недостаточности функционально связанных В-витаминов. - Минск:Наука и техника, 1987. - С.163-186.

24. Омелянчик С.Н., Шейбак В.М. Антивитамины и антиметаболиты пантотеновой кислоты // Там же. - С.209-225.

25. Моисеенок А.Г., Шейбак В.М., Золотухина С.Ф., Дзюкер К. Модель и биохимические механизмы развития гепатита, индуцированного галактозамином // Успехи гепатологии. - Рига, 1988. - Т.13. - С.176-193.

26. Нарушение галактозамином систем окисления 2-оксокислот печени и защитный эффект предшественников биосинтеза кофермента ацетилирования / А.Г.Моисеенок, Б.И.Горенштейн, В.М.Шейбак и др. - Патология биохимических процессов в печени. - Рига, 1988. - С.44-48.

27. Моисеенок А.Г., Копелевич В.М., Шейбак В.М., Гуринович В.А. Производные пантотеновой кислоты. Разработка новых витаминных и фармакотерапевтических средств. - Минск:Наука и техника. - 1989. - 216 с.

28.Требухина Р.В., Моисеенок А.Г., Петушок В.Г., Шейбак В.М. Пул тиаминфосфата и его биосинтез в печени при галактозаминоновом гепатите // Укр. биохим. ж. - 1989. - Т.61, N4. - С.73-77.

29.Шейбак В.М. Изменение уровня КоА в печени крыс в динамике иммобилизационного стресса // Тез. докл. V Гродн. обл. конф. мол. ученых и специалистов. - Гродно, 1989. - С.75.

30.Нефедов Л.И., Шейбак В.М., Тарасов Ю.А. Аминокислотный пул печени при введении пантотената на фоне стресса // Ред. журн. Вopr. питания. - Дeп. ВИНТИ 3064 В от 6.06.90.

31.Шейбак В.М., Тарасов Ю.А. Влияние производных пантотената на развитие острой стрессорной реакции // Тез. докл. VI Гродн. обл. конф. мол. ученых и специалистов. - Гродно, 1990. - С.115.

32.Ацил-КоА, общие липиды и фосфолипиды печени белых крыс при сочетанном воздействии глубокой гипотермии и производных пантотеновой кислоты или токоферола /В.О.Кедров, В.М.Шейбак, З.Липсберга и др. - **Пантетин: метаболизм, фармакология и регуляция обмена липидов.** - Рига, 1991. - С.119-123.

33.Содержание свободных аминокислот в печени крыс после парентерального введения КоА /Л.И.Нефедов, А.Г.Моисеенок, А.Р.Мороз А.Р. ... В.М.Шейбак - Хим.- фарм. ж. - 1992. - N4. - С.31-35.

34.Нефедов Л.И., Шейбак В.М., Островский Ю.М. Формирование фонда свободных аминокислот **печени** крыс в динамике голодания // Вopr. питания. - 1990. - N5. - С.30-34.

35.Шейбак В.М., Тарасов Ю.А. О возможности регуляции уровня **11-ОКС** в крови и надпочечниках введением пантотената //Тез. докл. VI Гродн. обл. конф. мол. ученых и специалистов. - Гродно, 1990. - С.116.

36.Пронько П.С., Лиопо А.В., Быков И.Л., Шейбак В.М. Особенности **N-ацетилирования** и обмена этанола у крыс с различной чувствительностью к алкоголю // **Весці Акад. навук БССР. Сер. біял. навук.** - 1990. - N5. - С.95-98.

37.Шейбак В.М., Нефедов Л.И., Караедова Л.М. Структура фонда свободных аминокислот, соотношение **НАД/НАДН** и уровень КоА в печени белых крыс после введения пантотената // **Фармакологическая коррекция гипоксических состояний:** Тез. докл. Всесоюз. конф. - Гродно, 1991. - Ч.2. - С.188-189.

38.Шейбак В.М., Дорошенко Е.М. Модифицированный способ определения Ко8Н и ацетил-КоА в ткани печени методом ВЭЖХ // Тез. докл. VII Грод. обл. конф. мол. ученых и специалистов - Гродно, 1991. - С.29.

39.Шейбак В.М., Дорофеев Б.Ф., Омелянчик С.Н. Влияние производных пантотената на аминокислотный фонд плазмы крови и печени крыс в условиях **алкогольного** и/или токсического гепатита // Мат. итоговой **научной** конф. ГГМИ. - Гродно. 1992 - С.3.

40.Sheibak V., Zimatkin S.M. Effect of chronic alcohol intoxication and ethanol withdrawal on blood plasma free amino acids // 4th Congress of the European society for biomedical research on alcoholism. - Genua, 1993. - P.250.

41.Sheibak V., Kozlovsky A.V., Zimatkin S.M. Amino acids in correction of peroxidation and free amino acid pool disturbances in chronic alcohol intoxication // New Trends in the Treatment of Alcoholism. - Trieste, 1993. - P.18.

42.Лелевич В.В., Маслаков Д.А., Шейбак В.М. Влияние курсового введения полиглюкина на метаболический статус крыс с различным предпочтением к этанолу // Тез. межд. конф. Посвященной 35-летию Гродненского **мединститута**. - Гродно, 1993. - С.337-338.

43.Шейбак В.М., Тарасов Ю.А. Фонд свободных аминокислот плазмы крови крыс при курсовом введении наркотической дозы алкоголя // Там же. - С.376-377.

44.Коррекция Полиамином нарушений перекисного окисления липидов у **крыс**, длительно потреблявших этанол / С.М.Зиматкин, В.М.Шейбак, И.Л.Быков и др. - Докл. Акад. наук Беларуси. 1994. - Т.38, N1. - С.87-90.

45.Шэйбак У.М., Тарасау Ю.А., Нефедау Л.І. Выводные пантатэнавай кіслаты - мадулятары **функцыянальная актыўнасць** кары наднырачнікаў // Весці АН Беларусі. Сер. біял. навук. - 1993. - N3. - С.48-51.

46.Нефедау Л.І., Шэйбак У.М., Тарасау Ю.А. Інфармацыйнасць таурыну і фосфаэтаноламу ў **мадэльных** сітуацыях п'янага перкартыцызму // Весці АН Беларусі. Сер. біял. навук. - 1993. - N4. - С.51-55.

47.Шейбак В.М., Лелевич В.В., Козловский А.В. Использование аминозолов в коррекции последствий хронической алкогольной интоксикации // Проблемы алкоголя и других наркотиков в

период социально-экономических преобразований. Тез. докл. межд. конф. - Киев, 1993. - С.44.

48. Sheibak V., Lelevich V. Free amino acids in blood plasma and liver of rats with alcohol and, or galactosamine liver injury // 38th International Institute on the Prevention & Treatment of Alcoholism and 21 International Institute on the Prevention & Treatment of Drug Dependence. - Prague, 1994. - P.17.

49. Sheibak V. Free amino acids in adrenal glands of rats undergoing withdrawal // Alcoholism. Clinical and Experimental Research - 1994 - Vol.18, N2. - 41A.

50. Шейбак В.М., Омелянчик С.Н. СоА и серусодержащие аминокислоты печени при алкогольном постинтоксикационном синдроме // Актуальные вопросы гепатологии: Тез. докл. межд. конф. - Гродно, 1994. - С.47.

51. Шейбак В.М. Свободные аминокислоты в печени животных с различным отношением к этанолу после введения полисахаридов // Актуальные проблемы психиатрии и наркологии: Тез. докл. конф. - Минск, 1994. - С.ПО.

52. Влияние отмены этанола при хронической алкоголизации на пероксидное окисление липидов у крыс // С.М.Зиматкин, В.М.Шейбак, И.Л.Быков и др. - Ред. журн. Весті АН Беларусі - Дев. в ВИНТИ 20. 04. 1994. - N968-B94.

53. Лелевич В.В., Шейбак В.М. Ситуация с потреблением наркотиков в республике Беларусь и прогноз ее развития // Вопр. наркологии. - 1994. - N4. - С.36-38.

54. Metabolic effects of incorporation of radionuclides / V. Lelevich, V.Vorobyov, V. Klimovich ... V. Sheibak -Clinical and experimental aspects of the effect of incorporated radionuclides upon the organism. - Gomel, 1995. - P.72-82.

55. Sheibak V., Lelevich V., Bandazevsky V. Free amino acids of blood plasma and tissues of animal after incorporation of cesium and strontium radionuclides // Гам же. - P.83-106.

56. Sheibak V., Tarasov Y., Omelyanchik S., Lelevich V. CoA level and N-acetyltransferase activity in rat liver tissue during the development of the alcohol withdrawal syndrome (AWS) // Alcohol. and Alcoholism. - 1995. - Vol.30, N4. - P.540.

57. Кравчук Р.И., Мацюк Я.Р., Лелевич В.В., Шейбак В.М. Влияние инкорпорации радионуклидов и приема алкоголя на морфофункциональное состояние печени // Тез. докл. межд. научн.

конф., посвященной 5-летию Гомельского мединститута. - 9-10 ноября 1995 г. - Гомель, 1995. - С.68-69.

58.Шейбак В.М., Кравчук Р.И., Мацюк Я.Р. Морфобиохимические проявления инкорпорации радионуклидов в печени животных, // Там же. - С.70-71.

59. Гриневич В.П., Шейбак В.М. Содержание КоА в тканях белых крыс в условиях хронической алкогольной интоксикации // Витамины и здоровье населения Беларуси и смежных регионов: Тез. докл. межд. симпозиума. - Гродно, 1995. - С.108.

60.Шейбак Л.Н., Шейбак В.М. Биологическая роль таурина в организме животных и человека (обзор) // Здоровоохранение. - 1996. N2. - С.38-41.

61.Sheibak V., Zimatkin Я. Free amino acids in liver differing in alcohol craving following chronic ethanol consumption and withdrawal // Metabolism of alcohol and its clinical consequences to gastrointestinal and liver diseases. Therapy and prevention of alcohol abuse - Praha, 1996. - P.30

62.Шейбак В.М., Селевич М.И., Козловский А.В. и др. Метаболические изменения в печени крыс при хронической алкогольной интоксикации и инкорпорации радионуклидов // Акт. вопросы гепатологии. - Гродно, 1996 - С.81.

63.Lelevich V., Sheibak V., Nefedov L. et al. Formation of free amino acid pool in rat blood plasma during combined intake of alcohol and radionuclides // Int. symposium "Amino acids and derivatives (chemistry, technology, biochemistry, pharmacology, nutrition, etc.) - Grodno, 1996. - P.56.

64.Sheibak V., Kiselevski J., Sheibak M. V. On the method for determination of free oxypoline in biological samples // ibid. - P.91.

65.Лелевич В.В., Селевич М.И., Шейбак В.М. и др. Влияние хронической алкоголизации и инкорпорации радионуклидов на липиды в головном мозге крыс // Здоровоохранение. - 1996. - N9. - С. 18-20.

66.Буко В.У., Шейбак В.М., Ларин Ф.С. Влияние изменения уровня КоА, вызванного производными ПАК, на метаболизм жирных кислот // В сб. Кофермент А и его предшественники: синтез, анализ и экспериментальное изучение - М., 1997. - С.161-165.

67. Sheibak V., Lelevich V. Tissue free amino acid in the mechanisms of development of tolerance to alcohol // Alcohol. Alcohol. - 1997. - V.32, N3. - P.409.

68. Sheibak V., Kozlowsky A. Aminosoles in treatment of patients with alcohol liver injury // XXXIII Zjazd Polskiego Towarzystwa Biochemicznego. - Katowice, 1997. - P.213.

69. Лелевич В.В., Мацюк Я.Р., Шейбак В.М. и др. Изменения в печени животных при инкорпорации радионуклидов и хроническом потреблении этанола // Здоровоохранение. - 1997. N9. - С.19-20.

70. Sheibak V., Sheibak L. New prospects in taurine application // 11th Noordwijkerhout-Camerino Symposium. - The Netherlands, 11-15 May, 1997. - P.116.

71. Шейбак В.М., Шейбак Л.Н., Нефедов Л.И., Шейбак М.П. Способ ранней адаптации новорожденных // Патент N1972. Заявка N950078 от 17.02.1995. Выдан 30.12. 1997.

72. Шейбак В.М. Регуляция внутриклеточной структуры фонда КоА как один из подходов в коррекции метаболических нарушений // Мат. Пятого съезда специалистов клинической лабораторной диагностики республики Беларусь - Мн., 1997. - С.97.

73. Лелевич В.В., Козловский А.В., Шейбак В.М. Современное состояние и региональные особенности наркологической ситуации в республике Беларусь // Актуальные проблемы медико-биол. науки Мат. научн. сессии Бел. ин-та усов. врачей, посв. 25-летию ЦНИЛ. Мн., 1997. - Кн.1. - С.56-60.

74. Шейбак В.М., Лелевич В.В., Нефедов Л.И., Козловский А.В. Метаболический статус организма после прекращения потребления алкоголя // там же - Кн.2. - С.255-261.

75. Шейбак В.М. Обмен свободных аминокислот и кофермент А при алкогольной интоксикации - Гродно, 1998. - 153 с.