

029582

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ
ИНСТИТУТ БИОХИМИИ

УДК 517.466.6. + 547.466.7.: 616 – 006

ЛЕДНЁВА Ирина Олеговна

**ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СТАТУСА КРЫС-
ОПУХОЛЕНОСИТЕЛЕЙ ПРИ ВВЕДЕНИИ ПРОИЗВОДНЫХ
L-ГЛУТАМИНА И L-ФЕНИЛАЛАНИНА**

03.00.04 - биохимия

**Автореферат
диссертации на соискание учёной степени
кандидата биологических наук**

Гродно - 2001

Работа выполнена в лаборатории биохимии злокачественного роста
Института биохимии Национальной академии наук Беларуси

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор

Л.И. Нефёдов

доктор медицинских наук, ст. науч. сотр.

М.Г. Величко

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор

В.В. Лелевич

кандидат биологических наук, доцент

В.В. Сенчук

Опонирующая организация:

Витебский государственный

медицинский университет

Защита состоится «___» _____ 2001 года в _____ часов на заседании
Совета по защите диссертаций (Д 01.30.01) в Институте биохимии НАН Бела-
руси (230017 г. Гродно, бульвар Ленинского комсомола, 50, тел. 33-32-11).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института биохимии
НАН Беларуси.

Автореферат разослан «___» _____ 2001 г.

Ученый секретарь

Совета по защите диссертаций,

кандидат биологических наук

П.С. Пронько

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы диссертации. Комплексный подход к оценке роли всех систем гомеостаза в организме опухоленосителя определил новые тенденции и направления в противоопухолевой терапии, объединяемые термином “биологическая терапия” [Филов В.А., 1997, 1998; Моисеенко В.М., 1998; Крутяков В.М., 2001]. “Биотерапия” предполагает многофакторное воздействие не только на опухоль, но и на весь организм. Это позволит продлить жизнь больного после постановки диагноза и лечения и, по возможности, улучшить её качество. Вопрос качества жизни онкологических больных, как во время специфического противоопухолевого лечения, так и после него, приобретает всё большую актуальность [Брюзгин В.В., 2000].

С этой точки зрения большой интерес представляют вещества природного происхождения и их изучение как с позиций направленного антипролиферативного действия, так и с позиций возможной коррекции взаимоотношений опухоль - организм [Горожанская Э.Г., 1995; Тяготин А.Е., 1998]. Одним из критериев оценки такого рода соединений является сравнение их противоопухолевого эффекта с влиянием на основные метаболические функции организма опухоленосителя [Балуда В.И., 1996].

В настоящее время особое внимание уделяется L-аминокислотам и их производным, как веществам малотоксичным и обладающим широким спектром действия [Комиссарова И.А., 1996; Нефёдов Л.И., 2000]. Во второй половине 80-х годов установлена противоопухолевая активность производных L-глутаминовой кислоты [Khalid M., 1987; Liao V.C., 1987]. Позже был продемонстрирован высокий цитостатический потенциал производного L-фенилаланина - фенилацетага и предприняты попытки создания новых противоопухолевых средств на его основе [Thibout P., 1999; Melichar B., 1998].

Однако до настоящего времени практически не исследованы метаболические эффекты этих потенциальных противоопухолевых средств на организм опухоленосителей. Любые гормонально-метаболические сдвиги, вызываемые введением цитостатика, могут улучшать или ухудшать систему противоопухолевой защиты. Таким образом, оценка основных биохимических показателей при введении лекарственного средства, оказывающего антипролиферативное действие, может служить критерием эффективности проводимой терапии. В связи с этим проблема гоучения изменений метаболизма в организме крыс-опухоленосителей при введении производных L-глутамин и L-фенилаланина и выявление возможности коррекции этими соединениями нарушений, индуцированных опухолевым ростом, представляется весьма актуальной.

Связь работы с крупными научными программами и темами. Работа выполнена в рамках реализации проекта VI раздела государственной межотраслевой научно-технической программы 43.01p: «Создать новые эффективные лекарственные препараты» — 06.05. Провести изучение специфической активно-

сти противоопухолевого препарата на основе L-глутамина (№ гос. регистрации 1998697).

Цель и задачи исследования. Цель работы: охарактеризовать метаболические эффекты производных L-глутамина и L-фенилаланина в организме крыс-опухоленосителей в их взаимосвязи с противоопухолевой активностью и токсичностью и обосновать выбор на этой основе наиболее оптимального состава их композиции.

В соответствии с поставленной целью определены следующие задачи:

1. Оценить метаболическое действие производных L-глутамина и L-фенилаланина на организм крыс-опухоленосителей по следующим критериям:
 - активность ферментов и уровни субстратов гликолиза, глюконеогенеза в печени крыс-опухоленосителей;
 - активность реакций энергообразования и утилизации субстратов цикла трикарбоновых кислот в печени крыс-опухоленосителей;
 - активность реакций трансаминирования в митохондриях и цитоплазме печени крыс-опухоленосителей;
 - содержание отдельных аминокислот и их производных в плазме крови, печени и ткани опухоли.
2. Сопоставить метаболические эффекты производных L-глутамина и L-фенилаланина с их противоопухолевой активностью *in vitro* и *in vivo* и токсичностью.
3. Изучить эффекты совместного применения производных L-глутамина и L-фенилаланина с цитостатиками (циклофосфаном, платинином).
4. Обосновать наиболее эффективный состав композиции производных L-глутамина и L-фенилаланина с позиции их метаболических и противоопухолевых эффектов.

Объект и предмет исследования. Объектом исследования явились крысы линии Wistar CRL:(WI) WU BR с персидскими штаммами опухолей W-256, SM-1, PC -1, клеточные линии лейкемии L-1210, асцитной карциномы Эрлиха, саркомы 37, гепатомы МГ-22^a и операционные биоптаты злокачественных новообразований человека. Предмет исследования - изменение метаболических показателей в печени, крови крыс-опухоленосителей при введении производных L-глутамина и L-фенилаланина.

Гипотеза. Реализация противоопухолевых эффектов производных L-глутамина и L-фенилаланина осуществляется на уровне нормализации азотистого, углеводного обмена и фонда свободных аминокислот, что в соответствии с концепцией о регуляторном действии L-аминокислот обосновывает создание на их основе новых эффективных противоопухолевых соединений.

Методология и методы проведенного исследования. Основой данного исследования явились методы аналитической биохимии (высокоэффективная ионообменная жидкостная хроматография, энзимологические и радиометриче-

ские) с применением t-статистики и оценка противоопухолевой активности препаратов по критериям NCI [Софьяна З.И. и др., 1980].

Научная новизна полученных результатов. Впервые получены данные о взаимосвязи метаболических эффектов производных L-глутамина и L-фенилаланина с их противоопухолевой активностью. Впервые показано, что производные L-глутамина и L-фенилаланина (низкомолекулярные пептиды AS2-1, AS2-5, композиция 1 — смесь фенилацетата и фенилацетилглутамина в соотношении 3,5:1,5) ослабляют неблагоприятное действие опухоли на организм, нормализуя азотистый и углеводный обмен, гомеостаз активность ферментов гликолиза, пентозофосфатного цикла, трансаминирования и фонд свободных аминокислот в тканях крыс-опухоленосителей. Впервые установлено, что “антиглутаминовый” эффект является одним из возможных механизмов противоопухолевого действия производных L-глутамина и L-фенилаланина. Впервые исследована противоопухолевая активность производных L-глутамина и L-фенилаланина методом краткосрочных культур (в отношении четырех видов экспериментальных штаммов и десяти видов человеческих опухолей). Показано, что у гоученіших соединений противоопухолевые свойства сочетаются с низкой токсичностью.

Практическая значимость результатов исследования Обоснована возможность применения некоторых производных L-глутамина и L-фенилаланина (AS2-1, AS2-5, композиция 1) с целью повышения противоопухолевой резистентности организма для противоракового лечения и реабилитации онкологических больных. Разработана новая композиция, проявляющая большую цитостатическую активность по сравнению с прототипом - AS2-1 (приоритетная справка № 19990937). Показана эффективность применения AS2-1 в комплексной терапии онкозаболеваний как с точки зрения противоопухолевого действия, так и для устранения метаболического дисбаланса в организме опухоленосителя. Модифицированный ситеноцитотоксический гест может быть рекомендован для использования в лабораторной диагностике в качестве высокоинформативного метода для оценки токсичности лекарственных средств и контроля эффективности дезинтоксикационной терапии.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Низкомолекулярные пептиды (НМГП) AS2-1, AS2-5 и композиция 1 уменьшают системное действие опухоли на организм, нормализуя нарушенный азотистый и углеводный обмен у крыс-опухоленосителей PC-1. Метаболические эффекты AS2-1, AS2-5 и композиции 1 реализуются через изменение активности ферментных систем гликолиза, трансаминирования, утилизации и наработки субстратов гликолиза, а также воздействие на процессы формирования аминокислотного фонда. Наибольшей противоопухолевой активностью (по базовым критериям) обладает смесь фенилацетата и фенилацетилглутамина в соотношении 3.5:1,5.

2. В экспериментах *in vitro* низкомолекулярный пептид AS2-1 и фенил-ацетат оказывают противоопухолевое действие в отношении культуры опухолевых клеток L-1210, саркомы 37, асцитной карциномы Эрлиха и первичных клеточных культур, полученных из биоптатов человеческих опухолей: рака предстательной железы, мочевого пузыря, молочной железы, яичника, ангиофибросаркомы. Совместное применение производных L-глутамин и L-фенилаланина с циклофосфаном позволяет повысить эффективность химиотерапии экспериментальных опухолей W-256 и SM-1.

3. Производные L-глутамин и L-фенилаланина (AS2-1, AS2-5, композиция 1) оказывают минимальное токсическое действие при введении крысам-опухоленосителям РС-1 в дозах, достаточных для выраженного противоопухолевого эффекта. по данным модифицированного спленоцитотоксического теста в комплексе с оценкой массы тела и внутренних органов, гематологических параметров, активности трансаминаз и щелочной фосфатазы. Токсичность фенил-ацетата ниже при его применении с производными L-глутамин или в составе НМП.

Личный вклад соискателя состоит в постановке и выполнении экспериментов, формулировке положений и выводов. Основная часть экспериментальной работы, интерпретация и обобщение полученных данных выполнены лично соискателем. Научные руководители оказывали помощь в разработке стратегии исследований, постановке цели и задач. Определение противоопухолевой активности соединений выполнены совместно с Караваем А.В. и Мотылевич Ж.В., а показателей метаболического контроля — со ст.н.с. Горенштейн Б.И., Бородинским А.Н., Смирновым В.Ю., Караедовой Л.М. и Петушок В.Г.

Апробация результатов диссертации. Основные результаты исследований представлены и обсуждены на V Республиканском съезде специалистов клинической лабораторной диагностики Беларуси (Минск, 1997); конференции, посвященной 40-летию ГГМИ (Гродно, 1998); VI съезде фармацевтов РБ (Минск, 1999); II Республиканской конференции ВГМУ "Клинико-лабораторные аспекты метаболической терапии" (Витебск, 1999); международной научной конференции "Биологическая активность и транспорт лекарств" (Гродно, 1999); III международной конференции по раку (Нью-Йорк, 1999); II международном симпозиуме "The team Approach to Cancer Management" (Бельгия, 1999); международной научной конференции "Биологически активные соединения в регуляции метаболического гомеостаза" (Гродно, 2000); II съезде онкологов стран СНГ (Киев, 2000); съезде биохимиков Беларуси (Гродно, 2000).

Опубликованность результатов. По теме диссертации опубликовано 19 печатных работ, из них: 1 статья в рецензируемом научном журнале, 7 статей в рецензируемых сборниках научных трудов (из них 2 - без соавторов), 11 тезисов докладов на международных симпозиумах и конференциях. По теме диссертации

тации получена приоритетная справка на изобретение (№ 19990937). Общее количество страниц опубликованных материалов - 48.

Структура и объём диссертации Работа состоит из введения, общей характеристики и 5 глав, включающих литературный обзор, 4 глав собственных исследований и заключения, а также списка использованных источников. Диссертация изложена на русском языке на 103 страницах машинописного текста, иллюстрирована 25 таблицами и 13 рисунками. Список использованных источников занимает 21 страницу и включает 279 источников, в том числе 164 работы иностранных авторов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Соединения, входящие в состав композиций AS2-1, AS2-5 и A10, синтезированы в Институте физико-органической химии НАН Беларуси. Новая противоопухолевая композиция 1 разработана в Институте биохимии НАН Беларуси.

Экспериментальные исследования *in vivo* проводили на белых крысах Wistar CRL:(WI) WU BR массой 150–200 г. Карциносаркому Уокера 256 (W-256), саркому M-1 (SM-1), альвеолярный рак печени (PC-1) перевивали подкожно (п/к) ($\sim 10^6$ клеток). Лечение начинали через 24 ч (W-256), на 4-5 сут. (SM-1), на 7 сут. (PC-1) после трансплантации опухолей. Контрольные опухоленосители получали равный объем 0,9% раствора NaCl. Животных декаштровали под тиопенталовым наркозом через 24 ч после окончания лечения.

Активность ферментов определяли: гексокиназы (ГК) - по скорости образования АДФ [Salas M., 1963]; глюкозо-6-фосфатазы (Г6Фаза) - по увеличению концентрации неорганического фосфора [Фердман Д.Л., Сопин Е.Ф., 1957]; малатдегидрогеназы (МДГ) [Асатиани В.С., 1969], изоцитратдегидрогеназы (ИДГ) [Путилина Ф.Е., 1982], лактатдегидрогеназы (ЛДГ) [Gutmann, Wahlefeld, 1974], глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ) [Захарьин Ю.Л., 1967] - спектрофотометрически по образованию или убыли восстановленных форм никотинамидных коферментов; аминотрансфераз (АсАТ, АлАТ), а также концентрации пирувата и лактата - спектрофотометрически [Колб В.Г., Камышников В.С., 1982; Островский Ю.М., 1984]. Содержание глюкозы определяли энзиматически по методу, основанному на сочетании гексокиназной реакции и окислении образующего глюкозо-6-фосфата (Г6Ф) с помощью Г6ФДГ [Великий Н.Н., 1987]. Гомогенаты тканей (1:20), получали на холоду в 0,02 М трис-буфере (рН 7,4). Митохондрии и гиалоплазму выделяли путем дифференциального центрифугирования при 10000g из 10% гомогенатов в среде выделения (0,26 М сахараза - 0,01 М трис-буфер, рН 7,4, 0,001 М ЭДТА).

Определение спектра аминокислот и их производных проводили в хлорнокислых экстрактах плазмы крови и тканей высокоскоростной катионообменной одноколоночной хроматографией по модифицированному [Нефёдов Л.И., 1993] методу [Бенсон Дж.В., Патерсон Дж.А., 1974] в ступенчатом гради-

енте Li-цитратных буферных растворов с нингидриновым детектированием на автоанализаторе аминокислот Т-339М (Чехия). Приём и обработка хроматографических данных осуществляли с помощью программно-аппаратного комплекса "МультиХром-1".

Для оценки метаболических эффектов и токсичности L-глутамин (Gln), ацетилглутамин (AcGln), фенилацетат (PhAc), AS2-1, AS2-5, и композицию 1 назначали в/ж (в эквимольных дозах: 68, 88, 107, 125, 194 и 134 мг/кг, соответственно) 2 раза в день в течение 10 суток крысам-опухоленосителям РС-1. Противоопухолевую активность соединений *in vivo* оценивали по регламенту NCI [Софьяна З.П. и др., 1980]. Для оценки противоопухолевой активности изучаемые соединения вводили опухоленосителям вышеуказанных штаммов в/ж либо в/бр в эквимольных дозах в течение 5-10 суток. Первичный скрининг *in vitro* проведен на стабильных клеточных линиях лейкемии L-1210, асцитной карциномы Эрлиха, саркомы 37 и гепатомы МГ-22^a методом краткосрочных клеточных культур (основанным на определении включения ¹⁴С-лейцина в белки опухолевых клеток) в среде RPMI-1640 [Фрешни Р., 1989]. Подсчет радиоактивности проводили на ЖСС «Mark-IT» (Nuclear Chicago, США) с использованием мембранных фильтров NUF5 0,6 мкм. Для определения спектра противоопухолевой активности фенилацетата и AS2-1 использовали операционные биоптаты опухолей больных злокачественными новообразованиями (с верифицированным диагнозом), находившихся на лечении в онкологических отделениях Гродненской областной клинической больницы. Определение проводили *in vitro* методом краткосрочных культур [Фрешни Р., 1989]. Токсичность мочи и плазмы крови крыс оценивали с помощью модифицированного спленоцитотоксического теста [Леднёва И.О., 2000]; морфологический состав периферической крови, уровень гемоглобина и СОЭ - общепринятыми методами [Козловская Л.В., 1975].

Средние значения показателей в группах сравнивали с помощью t-критерия Стьюдента; внутригрупповые значения корреляций оценивали по корреляционным матрицам Пирсона [Афифи А., Эйзен С., 1982]. Перечисленные методы были реализованы по статистическим программам 3d го пакета BMDP (BMDP Statistical Software).

ХАРАКТЕРИСТИКА БИОХИМИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В ОРГАНИЗМЕ КРЫС-ОПУХОЛЕНОСИТЕЛЕЙ ПРИ ВВЕДЕНИИ ПРОИЗВОДНЫХ L-ГЛУТАМИНА И L-ФЕНИЛАЛАНИНА

[1, 2, 3, 8, 14, 19]

Активность реакций гликолиза и пентозофосфатного цикла при введении производных L-глутаминна и L-фенилаланина. Результаты, полученные при проведении экспериментов, дают основание утверждать, что НМП AS2-1, AS2-5 и композиция 1 в организме крыс-опухоленосителей РС-1 оказывают специфическое действие на ферменты гликолиза. Выявлено **снижение** ак-

тивности ГК при введении глутамина, AS2-1, композиции 1, AS2-5 (на 56, 42, 41 и 39 %, соответственно) и увеличение активности фермента при введении фенилацетата. Активность Г6Фазы незначительно увеличивается при применении AS2-1 и композиции 1. Активность ПК при воздействии изучаемых соединений достоверно не изменяется (рис. 1).

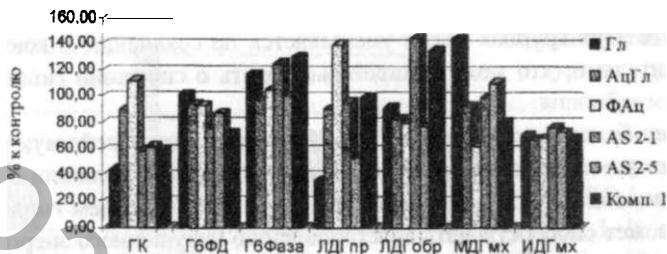


Рис. 1. Влияние производных L-глутамин и L-фенилаланина (в/ж, 2 раза в день, с 10 по 19 сут) на активность ферментов углеводного обмена в печени крыс-опухолоносителей PC-1 (в % к контрольным опухолоносителям).

Введение глутамин и AS2-5 приводит к снижению активности прямой реакции ЛДГ (утилизирующей пируват) (на 67 и 50%) в митохондриях, а введение фенилацетата - к увеличению активности фермента в митохондриях и гиалоплазме. Активность обратной реакции ЛДГ' (утилизирующей лактат) в митохондриях значительно увеличивается при воздействии AS2-1 (на 183%) и композиции 1 (на 167%) (рис. 1). Эти изменения ферментов гликолиза (снижение активности ГК, увеличение активности обратной реакции ЛДГ) свидетельствуют о снижении интенсивности процессов гликолиза в печени.

Сходные изменения активности ферментов гликолиза выявлены в печени крыс-опухолоносителей W-256: снижение активности ГК при введении глутамин, AS2-1, AS2-5 и композиции 1; увеличение активности обратной реакции ЛДГ при введении AS2-1 и композиции 1.

Поскольку концентрации промежуточных метаболитов характеризуют направленность ферментативных реакций сложных метаболических путей [Шапот В.С., 1986], мы определили концентрации лактата, пирувата, глюкозы и глюкозо-6-фосфата в печени и крови крыс-опухолоносителей PC-1. Установлено, что введение ацетилглутамин, AS2-5, AS2-1 и композиции 1 приводит к незначительному повышению уровня свободной глюкозы в печени крыс-опухолоносителей PC-1 (на 19, 19, 25 и 31%, соответственно). В то же время содержание глюкозо-6-фосфата не изменяется. При введении фенилацетата уровни этих субстратов гликолиза в печени снижаются.

Применение AS2-5, композиции 1 и AS2-1 приводит к снижению содержания молочной кислоты в печени (на 24, 26 и 29%, соответственно). Это сви-

детельствует об активации утилизации лактата и сопровождается одновременным увеличением активности ЛДГ, утилизирующей лактат. Уровень пировиноградной кислоты в печени под влиянием изучаемых соединений не изменяется. В крови крыс-опухоленосителей PC-1 при введение AS2-5, AS2-1 и композиции 1 отмечено снижение содержания лактата (на 24, 33 и 37%, соответственно) и пирувата (на 43,65 и 66%, соответственно). При этом соотношение лактат/пируват в этих группах также уменьшается по сравнению с контрольными опухоленосителями, что может свидетельствовать о снижении гипоксии в тканях.

Таким образом, исследуемые НМП благоприятно воздействуют на утилизацию лактата, способствуют нормализации процессов гликолиза в печени крыс-опухоленосителей PC-1. Этот факт наряду с ослаблением гипоксического состояния может способствовать восстановлению нарушенного энергетического баланса между нормальными тканями организма и опухолью и снижению напряженности компенсаторных механизмов, поддерживающих постоянство направленных реакций углеводного обмена.

Применение фенилацетата в некоторой степени усугубляет метаболический дисбаланс в организме опухоленосителей PC-1 (повышается активность ГК, прямой ЛДГ, увеличивается содержание лактата в печени).

Под влиянием AS2-1 и композиции 1 в печени крыс-опухоленосителей PC-1 снижается активность Г6ФДГ. Полученные данные позволяют предположить наличие специфического действия исследуемых соединений на процессы окисления углеводов в печени.

Азотистый обмен и активность реакций трансаминирования при введении производных L-глутаминна и L-фенилаланина. Применение НМП способствует более эффективному обезвреживанию аммиака в организме крыс-опухоленосителей PC-1. Так, при введении AS2-1 в печени и плазме крови крыс снижается содержание аммиака (на 48 и 53% соответственно) (рис. 2).

Содержание мочевины в плазме крови крыс-опухоленосителей PC-1, получавших AS2-1, не изменяется. В то же время в печени концентрация мочевины увеличивается на 78%, что может свидетельствовать о возрастании скорости мочевинообразования. Это предположение подтверждается данными о содержании орнитина и аспартата, необходимых для функционирования цикла мочевинообразования. В печени опухоленосителей PC-1 после применения AS2-1 снижается уровень орнитина и аспартата (рис. 2).

Применение AS2-1 также способствует нормализации азотистого обмена в организме крыс-опухоленосителей W-256.

Поскольку многие виды опухолей нуждаются в экзогенном поступлении глутаминна для поддержания своего роста и не способны к его синтезу, мы определяли содержание глутаминна в тканях крыс-опухоленосителей. Установлено, что введение AS2-1 крысам-опухоленосителям W-256 сопровождается снижени-

ем уровня глутамина в опухоли и плазме крови (на 52 и 78%, соответственно), а у крыс-опухоленосителей SM-1 и PC-1 наиболее отчетливо это снижение проявляется только в ткани опухоли (на 43 и 45%, соответственно) (рис. 3).



Рис. 2. Содержание субстратов и продуктов цикла мочевинообразования в печени и плазме крови крыс-опухоленосителей PC-1 при введении AS2-1 (в/ж, 2 раза в день, с 10 по 19 сут).

* $p < 0,05$ при сравнении с контролем

Одновременно, в плазме крови и печени опухоленосителей W-256 суммарное содержание аминокислот, конкурирующих с глутамином за общую систему трансмембранного переноса (аланин, серин, триптофан, валин, лейцин, изолейцин, тирозин, гистидин, метионин, глицин) снижается (на 40 и 31%, соответственно). В самой опухоли этот показатель увеличивается на 20%. В печени и плазме крови крыс-опухоленосителей SM-1 и PC-1 суммарное содержание указанных аминокислот, наоборот, существенно не изменяется и снижается в опухолевой ткани.

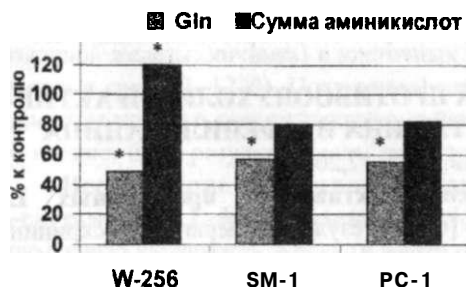


Рис. 3. Изменение уровня L-глутамина и суммарного содержания аминокислот, конкурирующих с ним за общие системы активного транспорта, в опухолях W-256, SM-1, PC-1 при введении AS2-1 (* $p < 0,05$ при сравнении с контролем).

Таким образом, в “глутаминзависимой” опухоли W-256 отмечено наибольшее снижение концентрации глутамина в опухолевой ткани, что коррелирует с наибольшим торможением её роста по сравнению с опухолями SM-1 и PC-1, как показано в экспериментах *in vivo*. Полученные экспериментальные данные свидетельствуют в пользу “антиглутаминового” механизма действия НМП, который заключается в создании функционального дефицита глутамина в опухоли, что чрезвычайно важно с точки зрения регуляции деления опухолевых

клеток (L-глутамин необходим для вступления клетки в S-фазу клеточного цикла и деления). Поскольку опухолевые клетки более зависимы от присутствия глутамина (по сравнению с нормальными клетками) и не могут синтезировать глутамин, то они становятся более зависимыми от этого механизма регуляции деления. Это приводит, с одной стороны к торможению опухолевого роста, а с другой - к запуску множества физиологических эффектов [Kruger E.A., 2000; Iiboshi Y., 1999; Martin M., 1998]. Транспорт глутамина через клеточную мембрану обоснованно может рассматриваться в качестве мишени для терапевтического воздействия при лечении онкозаболеваний [Bode, 1999; Pawlik, 2000].

Активность ферментов цикла трикарбоновых кислот при введении производных L-глутамин и L-фенилаланина. Результаты исследования НАДФ-зависимой ИДГ и НАД-зависимой МДГ показывают, что введение исследуемых соединений не восстанавливает их сниженную опухолевым ростом активность. Это объясняется тем, что окислительно-восстановительное соотношение $\text{НАД}^+/\text{НАДН}$, контролирующее активность гоучаемых дегидрогеназ, в печени крыс-опухоленосителей снижено. В работах других авторов также показано, что активность ИДГ и МДГ в печени крыс с саркомой 45 значительно отличается от таковой у интактных животных даже после регрессии опухоли [Морозкина Т.С., 1989].

Наши данные о метаболических эффектах производных L-глутамин и L-фенилаланина показывают, что применение AS2-1, AS2-5 и композиции 1 приводит к изменениям активности ферментов и содержания субстратов углеводного и азотистого обмена, которые могут быть расценены как способствующие восстановлению нарушенного при опухолевом росте метаболизма в печени крыс-опухоленосителей РС-1. В пользу этого предположения свидетельствует тот факт, что эти гоменения коррелируют с торможением роста опухоли.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ ПРОИЗВОДНЫХ L-ГЛУТАМИНА И L-ФЕНИЛАЛАНИНА

[3,4,6,11,12,13,15,16,17,20]

Исследование противоопухолевой активности производных L-глутамин и L-фенилаланина *in vitro* [6,16]. Результаты первичного скрининга *in vitro*, проведенного на экспериментальных штаммах опухолевых клеток лимфоцитарной лейкемии L-1210, гепатомы МГ-22^a, саркомы 37 и асцитной карциномы Эрлиха (АКЭ), показывают, что изученные производные L-глутамин и L-фенилаланина проявляют разную степень цитостатической активности.

По способности тормозить включение ^{14}C -лейцина в клетки экспериментальных опухолевых штаммов изучаемые соединения располагаются в следующем возрастающем ряду: ацетилглутамин < А 10 < AS2-5 = фенилацетилглутамин < фенилацетат = AS2-1 (рис. 4). Наиболее чувствительными к действию

производных L-глутамина и L-фенилаланина являются (в порядке убывания) лимфоцитарная лейкемия L-1210 > асцитная карцинома Эрлиха > саркома 37 > гепатома Мl-22^a. На основании полученных данных сделан вывод о том, что наиболее активным соединением является фенилацетат, а наиболее активной композицией - AS2-1.

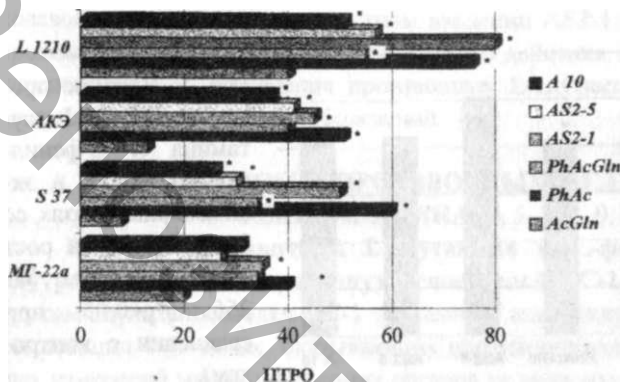


Рис. 4. Влияние производных L-глутамина и L-фенилаланина на рост экспериментальных опухолевых штаммов *in vitro* (ПТРО – % торможения включения ¹С-лейцина в белки опухолевых клеток) (**p* < 0.05 при сравнении с контролем).

Результаты тестирования AS2-1 и фенилацетата на первичных культурах, полученных из человеческих опухолей различных локализаций (рак простаты, мочевого пузыря, молочной железы, яичника, ангиофибросаркома, острый миелобластный лейкоз, рак толстого кишечника, желудка, меланома, лимфосаркома) с одинаковой степенью дифференцировки, показывают, что фенилацетат и AS2-1 эффективны в отношении первых пяти опухолей. При этом высокий цитостатический эффект выявлен для гормонозависимых опухолей (рак простаты, молочной железы, яичника) и клеточных линий, зависимых от присутствия L-глутамина в среде (L-1210). Полученный цитостатический эффект не является результатом прямого повреждающего действия исследуемых соединений на клетку, а может быть результатом их “антиглутаминового” действия.

Исследование противоопухолевой активности производных L-глутамина и L-фенилаланина *in vivo* [3,4,11,12,13,15,16,17,20]. Противоопухолевую активность AS2-1 (в эффективной дозе 250 мг/кг) оценивали в отношении трёх солидных опухолей: карциносаркомы W-256, саркомы SM-1 и альвеолярного рака печени PC-1. Установлено, что противоопухолевое действие AS2-1 при его внутрибрюшинном введении в течение 8-10 дней в указанной дозе наиболее выражено у опухоленосителей W-256: торможение роста опухоли >50% и увеличение продолжительности жизни по сравнению с контрольной группой на 27,5%.

Учитывая тот факт, что в состав НМП AS2-1, AS2-5 и A10 входят сходные соединения в разном соотношении, мы провели сравнительное исследова-

ние их противоопухолевых эффектов. Наибольшая противоопухолевая активность выявлена для фенилацетата, фенилацетилглутамина и композиции AS2-1 (рис. 5). Эти данные коррелируют с результатами исследований *in vitro*. Поскольку оба активных соединения входят в состав только AS2-1, можно предположить, что их сочетание и обеспечивает наибольшую по сравнению с AS2-5 и А 10 противоопухолевую активность AS2-1.

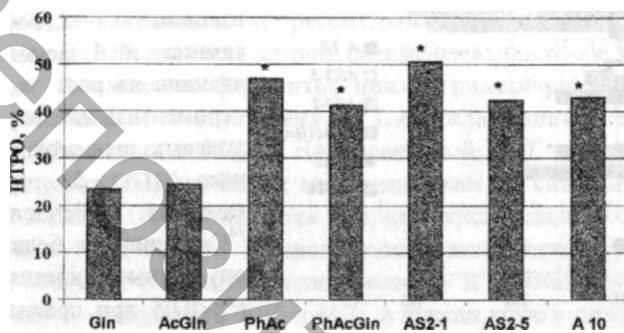


Рис. 5. Влияние производных L-глутамина и L-фенилаланина (в/бр, в эквивалентных дозах со 2 по 9 сут) на рост карциномы W-256 (* $p < 0,05$ при сравнении с контролем).

При введении опухоленосителям W-256 композиций с различным соотношением фенилацетата и фенилацетилглутамина наиболее высокий показатель отмечен у животных, получавших фенилацетат и фенилацетилглутамин в соотношении 3,5:1,5. Эту композицию производных L-глутамина и L-фенилаланина использовали в дальнейших исследованиях под названием "композиция 1".

В следующем эксперименте крысы-опухоленосители W-256 опытной группы получали 1% водный раствор композиции 1. Результаты исследований показывают, что при таком способе введения препарат оказывает выраженное антипролиферативное действие на опухоль, причем имеет место не только торможение роста опухоли (61,0%), но и её регрессия у 37,5% крыс. Композиция 1 соответствует критериям эффективности противоопухолевых соединений природного происхождения, принятым в ВОИЦ (г. Москва) [Трепачина, 1990], и может быть признана перспективной для дальнейшего исследования. В качестве дополнительного эффекта в этом эксперименте у крыс, получавших композицию 1, отмечено отсутствие кахексии (сопровождающей опухолевый рост и введение цитостатиков), что подтверждает нормализующее действие изучаемых НМП на азотистый обмен в организме крыс-опухоленосителей.

Результаты исследования совместного применения AS2-1 с цитостатиками (циклофосфаном, платидиамом) на крысах-опухоленосителях W-256 и SM-1 показывают, что AS2-1 усиливает противоопухолевую активность циклофосфана (на 27,7 и 13,5%, соответственно), что позволяет снизить дозу цитостатика. В случае слабой чувствительности к платидиаму опухолей W-256 и SM-1 совме-

стное применение его с AS2-1 не сопровождается увеличением его противоопухолевой активности. Сочетанное применение AS2-1 с циклофосфаном или платинидином не приводит к кахексии, увеличению токсичности мочи и плазмы (по результатам модифицированного спленоцитотоксического теста), повышению активности АлАТ, АсАТ и ИЦФ по сравнению с группами животных, получавших только цитостатики. Это свидетельствует о том, что усиление противоопухолевой активности при совместном введении AS2-1 с циклофосфаном не сопровождается увеличением их токсического действия. Таким образом, показана перспективность применения производных L-глутамин и L-фенилаланина в комплексной терапии онкозаболеваний.

ТОКСИЧНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ L-ГЛУТАМИНА И L-ФЕНИЛАЛАНИНА [4, 5, 7, 8, 9, 10, 18]

Влияние производных L-глутамин и L-фенилаланина на массу внутренних органов крыс-опухоленосителей PC-1 и SM-1. При введении крысам-опухоленосителям PC-1 глутамин, ацетилглутамин, AS2-1, AS2-5 и композиции 1 (в дозах, оказывающих противоопухолевое действие) достоверных изменений массы внутренних органов не выявлено. В то же время при применении фенилацетата снижается масса селезенки и надпочечников (на 20%) и увеличивается масса почек (на 12%).

При изучении динамики токсического действия композиции 1 на организм крыс-опухоленосителей SM-1 отмечено, что у контрольных опухоленосителей к исходу 20-х суток масса тимуса уменьшается на 66%, а масса селезенки увеличивается на 58% по сравнению со значениями этих показателей на 11-е сутки, тогда как в опытной группе масса тимуса и селезенки достоверно не изменяется. Результаты наших исследований и данные, полученные другими авторами [Горецкая М.В., 1999, 2000], могут свидетельствовать об иммуномодулирующих свойствах исследуемой композиции.

Влияние производных L-глутамин и L-фенилаланина на некоторые показатели периферической крови крыс-опухоленосителей. Глутамин, ацетилглутамин, AS2-1, AS2-5 и композиции 1 не угнетают эритропоз и лейкопоз у крыс-опухоленосителей PC-1. Снижение количества лейкоцитов (на 24%) отмечено только при введении фенилацетата.

Изучение динамики уровня гемоглобина и СОЭ при введении композиции 1 крысам-опухоленосителям SM-1 (в/ж, 125 мг/кг, 2 раза в сутки, с 7 по 18 сут) позволяет предположить, что применение препарата способствует повышению резистентности ослабленного опухолью организма. Обнаружены различия в контрольной и опытной группах к исходу 20-х суток после перевивки опухоли: СОЭ уменьшается на 22%, а уровень гемоглобина увеличивается на 12% по сравнению с контролем в группе животных, получавших композицию 1.

Изучение токсичности производных L-глутамина и L-фенилаланина с использованием модифицированного спленоцитотоксического теста. Токсичность мочи и плазмы крови крыс оценивали через 4 часа после последнего введения изучаемых соединений с помощью модифицированного спленоцитотоксического теста. Данные временные интервалы выбраны с учётом периода полувыведения НМП из организма, равного 3,5-4 часам [Xu W., 1990]. Установлено, что при ежедневном внутривенном введении (в течение 10 суток) производных L-глутамина и L-фенилаланина в эквимоларных дозах, токсичность мочи крыс-опухоленосителей PC-1 через 4 часа составляет 4-15%. Через 24 часа после последнего введения препаратов токсичность мочи значительно снижается. Одновременно, токсичность плазмы крыс-опухоленосителей PC-1 через 4 часа не превышает 6,5%. Полученные данные свидетельствуют о том, что AS2-1, AS2-5 и композиция 1 при введении в дозах, проявляющих противоопухолевую активность, малотоксичны.

Таким образом, в рамках выбранного нами подхода, позволяющего оценить метаболические, противоопухолевые и токсические эффекты производных L-глутамина и L-фенилаланина, подобрана их композиция, эффективная как с позиции противоопухолевого действия, так и для устранения метаболического дисбаланса в организме опухоленосителей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Противоопухолевые эффекты производных L-глутамина и L-фенилаланина реализуется за счёт их антиглутаминового действия, которое заключается в создании функционального дефицита глутамина в опухоли. Введение AS2-1 приводит к снижению концентрации глутамина в опухолях W-256, SM-1, PC-1 (на 52, 43, 45%, соответственно) и исчезновению существующей у контрольных опухоленосителей отрицательной коррелятивной зависимости ($r=-0,98$) между содержанием глутамина в печени и опухолевой ткани [1,2,3,14].

2. Производные L-глутамина и L-фенилаланина – AS2-1, AS2-5 и композиция 1 (в дозах 125, 194, 134 мг/кг, соответственно; в/ж, 2 раза в день, в течение 10 дней) – уменьшают системное действие опухоли на организм крыс-опухоленосителей PC-1, в целом способствуя устранению метаболического дисбаланса, индуцированного злокачественным ростом. Введение AS2-1 сопровождается активацией процессов мочевинообразования в печени. Применение AS2-1, AS2-5 и композиции 1 приводит к угнетению гликолиза и снижению активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в печени; увеличению активности лактатдегидрогеназы и снижению концентрации лактата в печени, лактата, пирувата и соотношения лактат/пируват в крови [1,2,3 8,14,19].

3. Содержание L-глутамина в карциносаркоме W-256 снижается на 52% при введении композиции AS2-1 (в/б, 250 мг/кг, в течение 8 дней), что сопровождается торможением роста опухоли на 50,2%. Композиция фенилацетата и

фенилацетилглутамина в соотношении 3,5:1,5 обладает наибольшей противоопухолевой активностью в отношении опухоли W-256 и нормализует индуцируемые опухолевым ростом сдвиги в углеводном (снижает активность гексокиназы, увеличивает активность лактатдегидрогеназы, утилизирующей лактат), и азотистом обмене (активирует процессы мочевинообразования в печени). Эта композиция наиболее эффективна при принудительном употреблении её 1%-ного водного раствора крысами-опухоленосителями W-256 (торможение роста опухоли - 61%, выживаемость - 37,5%) [4,11,12,13,15,16,17,20].

4. Наиболее сильным гормоляющим действием на синтез белка *in vitro* в опухолевых клетках лимфоцитарной лейкемии L-1210, асцитной карциномы Эрлиха, саркомы 37, гепатомы МГ-22^a обладают AS2-1 (2,40 мг/мл) и фенилацетат (2,09 мг/мл), а наименьшим - ацетилглутамин (2,79 мг/мл). Наибольшее торможение синтеза белка под действием AS2-1 (2,4 мг/мл) и фенилацетата (2,09 мг/мл) выявлено в отношении глутаминзависимой клеточной культуры L-1210. AS2-1 (2,4 мг/мл) и фенилацетат (2,09 мг/мл) ингибируют синтез белка в культурах клеток, полученных из биоптатов человеческих опухолей (в порядке убывания эффективности): опухоли предстательной железы, мочевого пузыря, молочной железы, яичника, ангиофибросаркома [6,16].

5. Глутамин (68 мг/кг), ацетилглутамин (88 мг/кг), AS2-1 (125 мг/кг), AS2-5 (194 мг/кг), композиция 1 (134 мг/кг) при введении крысам-опухоленосителям РС-1 (в/ж, 2 раза в день, в течение 10 дней) в дозах, проявляющих противоопухолевую активность, малотоксичны по результатам модифицированного спленоцитотоксического теста в комплексе с оценкой массы тела и внутренних органов, показателей стандартных гематологических тестов, активности трансаминаз и щелочной фосфатазы.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи

1. Механизмы реализации метаболической активности производных L-глутамина — противоопухолевых низкомолекулярных пептидов / Л.И. Нефёдов, К.Н. Угляница, В.С. Солдатов, В.Ю. Смирнов, Э.А. Жаврид, Ю.П. Истомин, А.В. Каравай, Е.Н. Александрова, И.О. Леднёва, Н.И. Прокопчик, Ж.В. Мотылевич, А.Н. Бородинский, Б.И. Горенштейн, Л.М. Караедова, З.И. Куваева, Н.М. Курбат, Б.П. Фусточенко, О.М.Бондарева, Д.В. Лопатик // Доклады НАН Беларуси. - 1999. - Т. 43, № 2. - С. 44-47.
2. Механизмы реализации метаболической активности нового противоопухолевого препарата "Дсглутам" / Л.И. Нефёдов, К.Н. Угляница, А.В. Каравай, И.О. Леднёва, М.Г. Величко, Э.А. Жаврид, Ю.П. Истомин, В.Ю. Смирнов, А.Н. Бородинский, Б.И. Горенштейн, Л.М. Караедова, Т.Ч. Валюк // Клинико-лабораторные аспекты метаболической терапии: Сборник статей. - Витебск, 1999.- С. 186-188.

3. Mechanisms of metabolic activity realization and results of studies on specific anti-tumor activity of the novel medicinal preparation deglutam / A.V. Karavay, L.I. Nefyodov, I.O. Ledneva, M.G. Velichko, A.N. Borodinsky, B.I. Gorenshtein, L.M. Karayedova, V.Y. Smirnov, T. Ch. Valiuk, E.S. Andreyeva, N.L. Karavai, K.N. Uglyanitsa, N.I. Prokopchik // Proc. of Internat. Symp. Biological activity and transport of drugs / Ed. L. Nefedov. - Grodno, 1999. - P. 94-97.
4. Биологические и иммунологические свойства нового лекарственного препарата –производного глутамина / М.В. Горецкая, И.О. Леднёва, А.В. Каравай, Р.В. Требухина, Г.И. Дюрьд // Биологическая активность и транспорт лекарственных веществ: Сб. научных статей / Под ред. проф. Л.И. Нефёдова. - Гродно, 1999. - С.39-43.
5. Леднёва И.О. Скрининг новых лекарственных препаратов и оценка эффективности дезинтоксикационной терапии на основе модифицированного спленоцитотоксического теста // Биохимические аспекты жизнедеятельности биологических систем: Сб. научных трудов. - Гродно, 2000. - С. 156-158.
6. Оценка противоопухолевой активности производных L-глутамина и фенилацетата методом краткосрочных клеточных культур / И.О. Леднёва, А.В. Каравай, Ж.В. Мотылевич, Л.И. Нефёдов // Там же, С. 158-160.
7. Леднёва И.О., Нефёдов Л.И., Величко М.Г. Сравнительная оценка токсичности производных L-глутамина и цитостатиков // Там же, С. 161-164.
8. Леднёва И.О. Значение ферментных систем сыворотки крови в оценке побочных эффектов противоопухолевых препаратов на основе L-глутамина и фенилацетата // Биологически активные соединения в регуляции метаболического гомеостаза: Материалы межд.науч.конф. В 2ч. Ч 1. Гродно, 28-29 сент. 2000 г. / Под общ. ред. Л.И.Нефёдова. - Гродно: ГрГУ, 2000 - С. 307-311.

Тезисы

9. Леднёва И.О., Требухина Р.В., Смирнова Т.А. Перспективы использования спленоцитотоксического теста для даагноснош эндотоксемии в онкологии // Материалы 6-ой научно - практич. конф. онкологов РБ. - Минск, 1994. - С. 224 - 225.
10. Спленоцитотоксический тест как метод индикации токсемии у пациентов с различными заболеваниями / И.О. Леднева, Р.В. Требухина, И.С. Гельберг, Н.И. Врублевская, Т.А. Смирнова, О.С. Волынец // Материалы 5-го Республиканского съезда специалистов клинической лабораторной даагностики Беларуси. - Минск, 1997. - С.176-177.
11. Результаты исследования специфической противоопухолевой активности нового лекарственного препарата “деглутам” / А.В. Каравай, И.О. Леднёва, Л.И. Нефёдов, К.Н. Углыаница, Э.А. Жаврид, Н.М. Курбат, Н.И. Прокопчик, Ж.В. Мотылевич, В.С. Солдатов, З.И. Куваева, Р.В. Требухина // Материалы межд.конф., посвящённой 40-летию ГТМИ. - Гродно, 1998. - С. 26.

12. Сравнительная характеристика противоопухолевого действия фенилацетата и N-ацетилглутамина / А.В. Каравай, И.О. Леднёва, Л.И. Нефёдов, К.Н. Углыница, Ж.В. Мотылевич, Э.А. Жаврид, Н.М. Курбат, Н.Н. Прокопчик, В.С. Солдатов, З.И. Куваева, Р.В. Требухина, Д.В. Лопатик, О.М. Бондарева // Там же, С. 27.
13. Сравнительная патоморфологическая характеристика гаменений в опухолевой ткани при действии фенилацетата и N-ацетилглутамина / И.О. Леднёва, А.В. Каравай, Н.И. Прокопчик, Л.И. Нефёдов, К.Н. Углыница, Э.А. Жаврид, В.С. Солдатов, З.И. Куваева, Д.В. Лопатик, О.М. Бондарева // Там же, С. 41
14. Механизмы реализации метаболической активности производных L- глутамина — новых противоопухолевых лекарственных препаратов / Л.И. Нефёдов, К.Н. Углыница, А.В. Каравай, И.О. Леднёва, В.Ю. Смирнов, Э.А. Жаврид, Ю.П. Истомин, Е.Н. Александрова, Ж.В. Мотылевич, Б.П. Фусточенко, А.Н. Бородинский, Л.М. Караедова, Б.И. Горенштейн, В.С. Солдатов, З.И. Куваева, Д.В. Лопатик, О.М. Бондарева, В.В. Воробьёв, Н.Н. Прокопчик, Е.М. Дорошенко, Р.В. Требухина // Там же, С. 44.
15. Результаты исследования противоопухолевой активности нового лекарственного препарата “Деглутам” / А.В. Каравай, Л.И. Нефёдов, И.О. Леднёва, М.Г. Величко, А.Н. Бородинский, Б.И. Горенштейн, Л.М. Караедова, В.Ю. Смирнов, Е.М. Дорошенко, К.Н. Углыница, Н.Н. Прокопчик, Т.Ч. Валюк, Э.А. Жаврид, Ю.П. Истомин, Е.Н. Александрова, Н.М. Курбат // Материалы VI съезда фармацевтов РБ. - Минск, 1999. - С. 132-134.
16. Role of Deglutame in Chemotherapy Trials. R. Trebukhina, L. Nefyodov, Ledneva I., M. Goretskaya, L. Kiryukhina // In proceedings of 3rd Intern. Comprehens Cancer Care Conference (ICCCC). - N.Y., 1999. - id 24.
17. Anticancerogenic effect of antineoplastone (“deglutam”). R. Trebukhina, L. Nefyodov, I. Ledneva, A. Karawai // In: "Second UICC management meeting "The team Approach to Cancer Management". - Antwerp., April 14-18, 1999. - P. 068.
18. Wskazniki intoksykacji endogennej w dynamice kuracji chorych z roznymi formami schizofrenii. O.S. Wolyniec, S.G. Obuchow, I.O. Ledneva e. a. // Badania nad schizofrenia. - 1999/2000. - II, No. 2. - S. 371-374.
19. Mechanisms of metabolic activity realization and results of studies on specific anti-tumor activity of the novel medicinal preparation deglutam / L.I. Nefyodov, A.V. Karawai, M.G. Velichko, I.O. Ledneva // Онкология 2000: Тез. II съезда онкологов стран СНГ, Украина, Киев, 23-26 мая 2000 г. - Эксперим. онкол. - 2000. - Т. 22 (Suppl 1.). - id 268.
20. Заявка № а 19990937 на выдачу патента РБ. Препарат, содержащий производное L-глутамина, обладающий противоопухолевой активностью. Нефёдов Л.И., Величко М.Г., Каравай А.В., Леднёва Н.А., Валок Т.Ч. Приоритетная стр. — Заявл. 15.10.1999.

РЭЗЮМЭ

Ляднёва Ірына Алегаўна

Асаблівасці метабалічнага статусу пацукоў-пухлінаносьбітаў пры ўвядзенні вытворных L-глутаміна і L-фенілаланіна

Ключавыя словы: вытворныя L-глутаміна і L-фенілаланіна, метабалічная і супрацьпухлінная актыўнасць, таксічнасць.

Аб'ект даследавання: пацукі, эксперыментальныя пухліны і тканкі (пухлінная, печань, кроў), клетачныя пухлінныя лініі, біапаты пухлін анкалагічных хворых.

Мэта работы: ахарактарызаваць метабалічныя эфекты вытворных L-глутаміна і L-фенілаланіна ў арганізме пацукоў-пухлінаносьбітаў у іх узаемазвязанасці з супрацьпухліннай актыўнасцю і таксічнасцю і абгрунтаваць выбар на гэтай падставе найбольш аптымальнага састава іх кампазіцыі.

Метады даследавання: метады аналітычнай біяхіміі (высакоефектыўная іонаабменная вадкасная храматаграфія, энзімалагічныя і радыёметрычныя), ацэнка супрацьпухліннай актыўнасці па крытэрыям NCI, t-статыстыкі і карэляцыйнага аналізу.

Выкарыстаная апаратура: спектрафотометр Spccord M-40, амінакіслотны аналізатар T339, ВСЛ Mark-II,

Атрыманыя вынікі і іх навізна: упершыню атрыманы данныя аб узаемазвязі метабалічных эфектаў вытворных L-глутаміна і L-фенілаланіна з іх супрацьпухліннай актыўнасцю ліквідацыі метабалічнага дысбаланса, фарміруючагася пры злаякасным росце AS2-1, AS2-5, кампазіцыя і аслабляе неспрыяльнае дзеянне пухліны на арганізм, нармалізуе азоцісты і вугляводны абмен. Упершыню устаноўлена, што “антыглутамінавы” эфект – стварэнне функцыянальнага дэфіцыта глутаміна ў пухліне – з'яўляецца адным з магчымых механізмаў супрацьпухліннага дзеяння вытворных L-глутаміна і L-фенілаланіна. Распрацавана новая супрацьпухлінная кампазіцыя з вытворных L-глутаміна і L-фенілаланіна. Сумеснае прымяненне AS2-1 з цыклафасфанам дазваляе павысіць эфектыўнасць хіміятэрапіі. Метабалічная і супрацьпухлінная актыўнасць вытворных L-глутаміна і L-фенілаланіна спалучаецца з нізкай таксічнасцю. Упершыню вывучана супрацьпухлінная актыўнасць вытворных L-глутаміна і L-фенілаланіна метадам кароткатэрміновых культур і выяўлен спектр іх дзеяння.

Рэкамендацыі па выкарыстанню: матэрыялы дысертацыі могуць быць выкарыстаны пры правядзенні клінічных выпрабаванняў і вытворчасці новага супрацьпухліннага лекавага прэпарата – кампазіцыі 1.

Галіна прымянення: біяхімія, эксперыментальная анкалогія.

РЕЗЮМЕ

Леднёва Ирина Олеговна

Особенности метаболического статуса крыс-опухоленосителей при введении производных L-глутамина и L-фенилаланина

Ключевые слова: производные L-глутамина и L-фенилаланина, метаболическая и противоопухолевая активность, токсичность.

Объект исследования: крысы, экспериментальные опухоли и ткани (опухолевая, печень, кровь), клочковые опухолевые линии, биоптаты опухолей онкологических больных.

Цель работы: охарактеризовать метаболические эффекты производных L-глутамина и L-фенилаланина в организме крыс-опухоленосителей в их взаимосвязи с противоопухолевой активностью и токсичностью и обосновать выбор на этой основе наиболее оптимального состава их композиции

Методы исследования: методы аналитической биохимии (высокоэффективная ионообменная жидкостная хроматография, энзимологические и радиометрические), оценка противоопухолевой активности по критериям NC1, t-статистики и корреляционного анализа.

Использованная аппаратура: спектрофотометр Specord M-40, аминокислотный анализатор Т339, сцинтилляционный счётчик Mark-II.

Полученные результаты и их новизна: впервые получены данные о взаимосвязи метаболических эффектов производных L-глутамина и L-фенилаланина с их противоопухолевой активностью. AS2-1, AS2-5, композиция I ослабляют неблагоприятное действие опухоли на организм, нормализуя азотистый и углеводный обмен. Впервые установлено, что “антиглутаминовый” эффект - создание функционального дефицита глутамина в опухоли – является одним из возможных механизмов противоопухолевого действия исследованных соединений. Разработана новая противоопухолевая композиция из производных L-глутамина и L-фенилаланина. Совместное применение AS2-1 с циклофосфамом позволяет повысить эффективность химиотерапии. Метаболическая и противоопухолевая активность производных L-глутамина и L-фенилаланина сочетается с низкой токсичностью. Впервые изучена противоопухолевая активность производных L-глутамина и L-фенилаланина методом краткосрочных культур и выявлен спектр их действия.

Рекомендации по использованию: материалы диссертации могут быть использованы при проведении клинических испытаний и производстве нового противоопухолевого лекарственного препарата - композиции I.

Область применения: биохимия, экспериментальная онкология.

SUMMARY

Lednyova Irina Olegovna**Special features of the metabolic status of tumor-bearing rats administered with L-glutamine and L-phenylalanine derivatives**

Key words: L-glutamine and L-phenylalanine derivatives, metabolic and antitumor activity.

Investigation object: rats, experimental tumors and tissues (tumor, liver, blood), cell lines, biotates of tumors from oncological patients .

Aim: to characterize the metabolic effects of L-glutamine and L-phenylalanine derivatives in the organism of tumor-bearing rats and their relationships with antitumor activity and toxicity and to substantiate on this basis the choice of the most optimal composition.

Methods: methods of analytical biochemistry (high performance ion exchange liquid chromatography, enzymologic and radiometric methods), assessment of antitumor activity according to the NCI criteria, t-statistics and correlation analysis.

Instruments used: Specord M-40 spectrophotometer, T339 amino acid analyzer, Mark-II liquid scintillation counter,.

Results obtained and their novelty: For the first time the data on the relationships between the metabolic effects of L-glutamine and L-phenylalanine derivatives and their antitumor activities were obtained. AS2-1, AS2-5 and composition 1 weakened the unfavourable effect of the tumor on the body, normalizing nitrogen and carbohydrate metabolism. It was found for the first time that their antiglutamine action (creation of functional glutamine deficiency in the tumor) is a possible mechanism of the antitumor effect of the compounds studied. A new antitumor composition containing L-glutamine and L-phenylalanine derivatives was developed. A combined application of AS2-1 with cyclophosphamide enabled to increase the chemotherapy efficiency. The metabolic and antitumor activities of L-glutamine and L-phenylalanine derivatives was combined with low toxicity. For the first time the antitumor activity of L-alanine and L-phenylalanine derivatives was studied by the method of short-term cultures and the range of their antitumor effect was revealed.

Application recommendations: dissertation materials can be used in clinical trials and production of the novel drug .

Area of application: biochemistry, experimental oncology