

МЕТАБОЛИТЫ ФЕНИЛАЛАНИНА И ПОКАЗАТЕЛИ ФОНДА СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ В МОЧЕ ПАЦИЕНТОВ, СТРАДАЮЩИХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Дорошенко Е. М. (*darashenkaem@grsmu.by*), Мотылевич Ж. В. (*janemot@mail.ru*), Хоров А. О. (*akhorau@gmail.com*), Бубен А. Л. (*sbusben@tut.by*)

УО «Гродненский государственный медицинский университет», Гродно, Беларусь

Цель: поиск диагностически значимых биохимических показателей при раке молочной железы (РМЖ) среди аминокислот и метаболитов фенилаланина в моче. *Методы исследования:* газовая/жидкостная хроматография. *Результаты:* уровень фенилацетилглутамина в моче при РМЖ I и II ст. существенно превышает таковой у практически здоровых лиц. Изменения уровней ароматических аминокислот, а также глутамина значительно менее выражены. Оперативное удаление опухоли (10 сут. после операции) не приводит к существенному ослаблению обнаруженных сдвигов.

Ключевые слова: аминокислоты, фенилаланин, глутамин, фенилацетат, фенилацетилглутамин, рак молочной железы, диагностика, маркеры, хроматография.

Анализ факторов, отражающих измененный метаболизм при злокачественном росте, является актуальным, в том числе для контроля эффективности лечения и выявления рецидивов. В 1976 г. С. Буржинским было показано, что в моче онкологических пациентов содержатся вещества, способные ингибировать опухолевый рост (антинеопластоны) [7], ряд этих веществ были идентифицированы как метаболиты фенилаланина. Многочисленные попытки лечения опухолей антинеопластами не были успешными [10], что, однако, не исключает возможности диагностического использования эндогенных уровней этих соединений при опухолевом росте. Имеются отдельные данные об изменениях уровней ароматических аминокислот в крови при злокачественных новообразованиях [3, 5, 6, 12], однако они не позволяют оценить их диагностическую информативность. Ранее нами были получены результаты, свидетельствующие о перспективности применения аминокислотного анализа для характеристики метаболического гомеостаза [4], в том числе при некоторых видах злокачественных опухолей [1].

Фенилаланин может метаболизироваться в фенилэтиламин и далее в фенилуксусную кислоту (ФУК) [11], найденную в мозге, цереброспинальной жидкости, плазме крови, моче [11, 17]. Важным проявлением биологической активности ФУК является её способность подавлять рост опухолевых клеток [15, 16]. Сообщалось, что после внутривенного введения ФУК онкологическим пациентам происходит быстрое образование конъюгата, в виде которого 99% от введенной дозы экскретируется с мочой [20].

До настоящего времени уровни важнейших метаболитов фенилаланина и компоненты пула свободных аминокислот совместно не исследовались, хотя именно такой подход мог бы повысить эффективность диагностики злокачественных новообразований. Так как метаболиты ароматических аминокислот были первоначально идентифицированы в моче пациентов [7], представляется рациональным для характеристики их пула использовать уровни ароматических аминокислот в моче, а не в плазме (сыворотке) крови.

Целью работы является поиск диагностически значимых показателей, характеризующих активность злокачественного роста при раке молочной железы (РМЖ), среди метаболитов ароматических аминокислот и других показателей фонда свободных аминокислот, определяемых в моче.

Материалы и методы

В качестве контрольной группы обследованы 14 практически здоровых лиц женского пола в возрасте 44 (40–50) лет, имеющих преимущественно нормальную массу тела – индекс массы тела равнялся 22,1 (20,0–24,3) кг/м².

В исследование включены пациентки, которые страдали РМЖ I–II стадий (T1-3N0-1M0). В первой группе были пациентки, страдающие РМЖ I стадии, во второй – РМЖ II стадии. В этих группах лечение начиналось с радикальной операции и продолжалось адъювантными методами терапии по показаниям. Третью группу составили пациентки, страдающие РМЖ II стадии, которым в программу комплексного лечения была включена неoadъювантная химиотерапия (ХТ) по схеме CAF. Курсы однотипной ХТ проводились с интервалом 3 недели, количество курсов зависело от эффективности (в среднем 3) и оценивалось по критериям ВОЗ, радикальная операция проводилась спустя 21 день после последнего введения химиопрепаратов. Далее проводилось адъювантное лечение по индивидуализированной программе. Критерием исключения было наличие выраженной сопутствующей патологии.

Забор проб мочи производился перед оперативным вмешательством, а также на 10-е сутки после операции, после тщательного туалета наружных половых органов, в закрывающийся пластиковый сосуд с широким горлышком. Пробы замораживали в течение 15 мин. после забора.

Для определения ФУК пробу мочи (1 мл) смешивали с 60 мг KCl, подкисляли 200 мкл 1M H₂SO₄, содержащей 500 мкМ 2-фенилмасляной кислоты (внутренний стандарт), затем добавляли 200 мкл изобутанола. Смесь перемешивали (20 мин., 2500 с-1), центрифугировали при 2000g 2 мин., 1 мкл органической фазы вводили в газовый хроматограф HP-6890 с пламенно-ионизационным детектором. Колонка HP-5 (95% метилполисилоксан), 30 м x 0,53 мм, 2,5 мкм, газ-носитель N₂, деление потока 1:7,5 скорость протока 2,0 мл/мин. Температура испарителя 280°C, детектора – 300°C. Начальная температура колонки 130°C, изотермическая выдержка 2 мин., градиент 10°C/мин до 250°C и изотермическая выдержка 5 мин. Растворы стандарта ФУК (500, 100, 50 и 10 мкМ) подвергали экстракции таким же образом.

ФАГ определяли экстракционно-фазной ВЭЖХ безэкстракционным методом. Для определения ФАГ

и аминокислот пробу мочи смешивали (1:1) с 1M HClO₄, содержащей 0,2 мМ норвалина (внутренний стандарт). После перемешивания пробы центрифугировали при 16000g 15 мин., супернатант немедленно отсасывали и хранили при -18°C не более 15 суток. Колонка Zorbax SB C18 3,5 мкм, 2,1x150 мм с предколонкой 2,1x12,5 мм, 5 мкм. Подвижная фаза А: 0,107 М Na-фосфатный буфер, pH 3,25. Подвижная фаза В: ацетонитрил:вода, 70:30 (об.). Градиент от 0 до 30% В за 35 мин., температура колонки 35°C, скорость потока 0,2 мл/мин. Детектирование при 214 нм (полоса пропускания 4 нм); длина волны сравнения 360 нм (полоса пропускания 100 нм). Спектр поглощения на вершине пика в моче не отличался от спектра поглощения стандарта. Хроматограммы стандарта и типичной пробы приведены на рисунке.

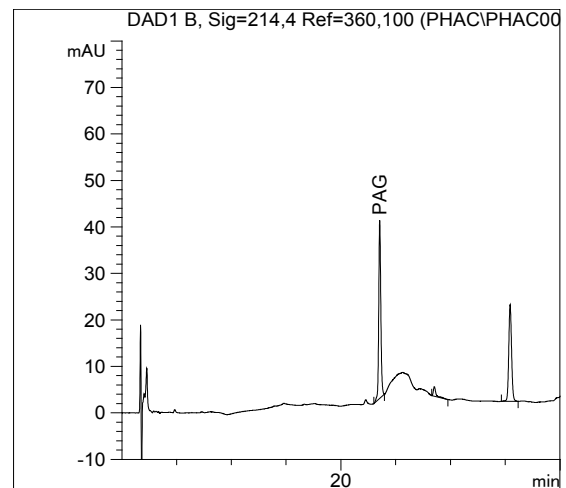
Свободные аминокислоты определяли методом обращенно-фазной ВЭЖХ с предколонной дериватизацией и детектированием по флуоресценции, являющимся модификацией метода [2]. Условия разделения. 2 колонки Zorbax Extend C18, 3,5 мкм, 2,1x100 мм (Agilent Technologies) последовательно, подвижная фаза: 0,1 М NaH₂PO₄ (А), 0,1 М Na₂HPO₄ (D), 70% (об.) ацетонитрил (В), 70% (об.) метанол (С). Температура колонки 29°C, автосамплера 5°C, скорость потока 0,2 мл/мин. Дериватизация: смешивание 0,2 мкл пробы с 5 объемами 0,4% о-фталевого альдегида и 0,3% 3-меркаптопропионовой кислоты в 0,4M боратном буфере, pH 9,4, нейтрализация 0,2 М HClO₄ и немедленный ввод в колонку. Градиентное элюирование оптимизированным профилем от 2 до 100% В, с переменным соотношением А/Д, за 108 мин. Детектирование по флуоресценции, 338/445 нм. Смесь стандартов аминокислот (смесь физиологических аминокислот Aldrich с добавлением глутамина и аспарагина) обрабатывали так же, как пробы мочи.

Использовали прибор ВЭЖХ Agilent 1200 (4-канальный насос, термостатируемый автосамплер, термостат колонок, детекторы диодно-матричный и флуоресценции), реактивы квалификации не ниже хч, стандарты определяемых соединений Aldrich. Обработка хроматограмм – с помощью программы Agilent ChemStation B04.02, расчет по внутреннему стандарту.

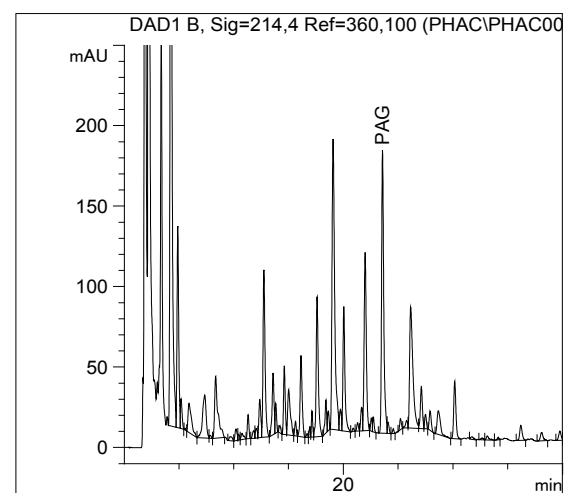
Для исследованных показателей определяли параметры описательной статистики, оценивали нормальность выборки тестом Колмогорова – Смирнова, показатели в группах сравнивали тестом Манна-Уитни. Корреляционные связи между переменными в пределах групп оценивали по корреляционным матрицам Пирсона. Методы анализа данных реализованы с помощью пакета программ Statistica 10.0 (SN AXAR207F394425FA-Q).

Результаты и обсуждение

Обнаруженные концентрации фенилацетата в моче практически здоровых лиц (табл. 1) соответствуют значениям, сообщавшимся для человека в норме [8,13]. Несмотря на значительную вариабельность показателя, предпринимались попытки его диагностического использования при депрессии [17], расстройствах пищевого поведения [9]. В этих работах фенилацетат рассматривался как производное фенилэтиламина – минорного медиатора в ЦНС [11], а не как продукт декарбоксилирования фенилпирувата. Измеренное нами содержание ФАГ в моче практически здоровых лиц соответствует данным литературы (от 384 до 855 мкМ) [8,14], как и уровни аминокислот [18].



А



Б

Рисунок А: хроматограмма 100 мкМ раствора ФАГ (PAG); **Б:** типичная хроматограмма ФАГ в моче

Распределение индивидуальных значений уровней ФАГ и фенилаланина не отличалось от нормального, распределение же фенилацетата было биполярного типа, что означает, что для оценки экскреции последнего предпочтительны непараметрические методы анализа. Концентрация ФУК в моче у практически здоровых лиц коррелировала с уровнем фенилаланина ($r=0,83$, $p<0,05$), что позволяет предполагать, что уровень метаболитов фенилаланина может быть частично обусловлен доступностью предшественника.

Содержание ФАГ в моче пациенток с РМЖ I и II ст., в том числе после ХТ, было в 2,5-3,5 раза выше, чем у практически здоровых лиц (табл. 1). Уровень ФУК был снижен только при II ст. РМЖ. Уровни ароматических аминокислот в группах значимо не изменялись, кроме триптофана, который был повышен при РМЖ II ст., в том числе после ХТ. Только в последней группе повышался уровень глутамина в моче. Снижение уровня ФУК подтверждает данные [7], однако этот показатель, отдельно взятый, не может служить диагностическим маркером, как и уровни отдельных аминокислот.

Через 10 суток после операции сохранялось повышение уровня ФАГ в моче пациенток с РМЖ II ст., в том числе в группе РМЖ + ХТ (табл. 2). В то же время уровень фенилацетата был снижен при РМЖ I и II ст., но не в группе РМЖ+ХТ. В последней группе были повышены также уровни ароматических аминокислот, однако наблюдалась общая тенденция к гиперацидоурии, что не позволяет считать изменения концентраций ароматических аминокислот специфичными. Как и до операции, в группе РМЖ+ХТ наблюдалось повышение содержания глутамина.

Таблица 1. – Содержание аминокислот и метаболитов фенилаланина в моче пациенток с РМЖ до операции, мкМ, медиана (верхняя/нижняя квартиль)

	Контроль, n=14	РМЖ I ст., n=7	РМЖ II ст., n=7	РМЖ II ст.+ХТ n=7
ФАГ	826 (555 / 1145)	1550 (634 / 5614)*	1949 (1266 / 2569)*	2518 (909 / 4128)
ФУК	18,25 (7,27 / 33,53)	6,01 (4,12 / 21,89)	4,37 (3,94 / 9,34)*	14,08 (5,13 / 23,04)
Асп	1,77 (1,28 / 2,09)	2,52 (2,03 / 4,38)*	4,68 (3,53 / 7,08)*	6,84 (6,57 / 7,12)*
Глн	47,47 (29,39 / 84,64)	66,73 (48,07 / 100,9)	96,77 (74,26 / 118,5)	187,5 (158,0/217,1)*
1Мгис	19,63 (16,42 / 32,14)	58,07 (29,15/158,1)*	105,2 (79,25/114,5)*	167,7 (117,1/218,4)*
Арг	1,38 (1,08 / 2,32)	24,20 (20,19/28,37)*	25,90 (24,69/27,79)*	24,38 (23,56/25,19)*
Цтр	5,13 (4,06 / 7,60)	7,56 (5,58 / 32,23)	24,17 (13,81/28,90)*	45,91 (41,55/50,28)*
Тау	67,78 (31,52 / 89,51)	303,9 (88,33/1063)*	239,0 (111,9/499,1)*	380,2 (83,54 / 676,9)
Тир	13,28 (7,09 / 17,23)	6,97 (5,81 / 20,14)	27,89 (16,70 / 31,37)	30,77 (23,10 / 38,43)
ЭА	572,3 (450,6 / 697,0)	844,3 (738,6/2231)*	1305 (921,2 / 2052)*	2762 (2527 / 2997)*
Гтр	14,45 (9,50 / 20,21)	16,35 (13,57 / 50,34)	32,23 (22,96/37,81)*	44,72 (43,34/46,09)*
Phe	10,26 (7,04 / 14,94)	8,61 (6,30 / 18,25)	12,24 (5,41 / 18,86)	16,53 (15,62 / 17,44)
Оrn	2,35 (1,76 / 3,60)	9,38 (5,90 / 162,9)*	11,55 (4,66 / 33,47)*	7,09 (6,50 / 7,68)

Примечание 1: * $p < 0,05$ по отношению к контролю (тест Манна–Уитни).

Примечание 2: Асп – аспарат; Глн – глутамин; 1Мгис – 1-метилглутимин; Арг – аргинин; Цтр – цитруллин; Тау – таурин; Тир – тирозин; ЭА – этаноламин; Трп – триптофан; Фен – фенилаланин; Орн – орнитин

Кроме обнаруженных изменений, во всех исследованных группах как до операции, так и через 10 суток после неё мы наблюдали повышение содержания аспарата, 1-метилглутимина, цитруллина, аргинина и орнитина, а также этаноламина (табл. 1-2). Это может свидетельствовать об активации утилизации аминокислот и мочевинообразования при РМЖ I и II ст.

Литература

1. Влияние препарата Ukrain на содержание свободных аминокислот и их производных в плазме крови и опухолевой ткани пациентов раком молочной железы / Л. И. Нефедов, [и др.] // Здравоохранение. – 1997. – № 11. – С.7-11.

Обнаруженное нами значительное повышение уровня ФАГ, очевидно, не лимитировано доступностью глутамина. Уровень ФУК до операции был достоверно снижен только при РМЖ II ст., но через 10 сут. после операции – и при РМЖ I ст., при сравнительно небольшой вариабельности показателя (табл. 2).

Таблица 2. – Содержание аминокислот и метаболитов фенилаланина в моче пациенток с РМЖ через 10 сут. после операции, мкМ, медиана (верхняя/нижняя квартиль)

	Контроль, n=14	РМЖ I ст., n=7	РМЖ II ст., n=7	РМЖ II ст.+ХТ n=7
ФАГ	826 (555 / 1145)	762,2 (640,3 / 1983)	1571 (1139 / 2941)*	2842 (1382 / 4302)*
ФУК	18,25 (7,27 / 33,53)	5,99 (4,87 / 10,08)	4,76 (3,97 / 5,24)*	5,79 (3,27 / 8,32)*
Асп	1,77 (1,28 / 2,09)	2,94 (2,39 / 4,50)*	4,36 (2,71 / 4,56)*	6,33 (5,51 / 7,14)*
Глн	47,47 (29,39 / 84,64)	65,64 (44,84 / 81,55)	97,99 (75,10 / 129,2)	255,7 (200,4 / 310,9)
1Мгис	19,63 (16,42 / 32,14)	68,74 (29,93 / 96,6)*	84,72 (66,0 / 139,6)*	226,3 (156,0/296,6)*
Арг	1,38 (1,08 / 2,32)	25,56 (21,60/26,69)*	28,86 (27,27/29,62)*	29,63 (26,87/32,40)*
Цтр	5,13 (4,06 / 7,60)	6,54 (4,87 / 21,02)*	16,40 (12,84/21,49)*	55,03 (41,80/68,26)*
Тау	67,78 (31,52 / 89,51)	322,8 (102,3/569,9)*	262,2 (154,1/550,9)*	1040 (112,2 / 1968)*
Тир	13,28 (7,09 / 17,23)	8,20 (3,32 / 11,75)	22,35 (10,97/31,01)*	42,96 (38,50/47,43)*
ЭА	572,3 (450,6 / 697,0)	835,2 (591,6/1044)*	1446 (944,7 / 1875)*	3639 (3506 / 3772)*
Гтр	14,45 (9,50 / 20,21)	18,69 (14,15 / 33,66)	17,02 (15,65/32,74)*	68,37 (56,91/79,83)*
Phe	10,26 (7,04 / 14,94)	10,57 (7,97 / 28,36)	13,06 (9,11 / 20,02)	26,54 (25,14/27,95)*
Оrn	2,35 (1,76 / 3,60)	10,19 (1,12 / 23,77)*	8,81 (4,32 / 26,87)*	13,72 (13,32/14,12)*

Примечание см. под таблицей 1

Выводы

1. Уровень ФАГ в моче при РМЖ I–II ст. существенно превышает таковой у практически здоровых лиц. 2. Изменения уровня ФУК являются менее информативными (снижение только при РМЖ II ст.). При этом изменения уровней ароматических аминокислот, в частности фенилаланина, а также глутамина, значительно менее выражены. 3. Оперативное удаление опухоли (10 сут. после операции) не приводит к исчезновению или существенному ослаблению обнаруженных сдвигов, что может объясняться недостаточной длительностью наблюдения. Вопрос о специфичности и стойкости изменений уровня ФАГ в моче при злокачественных новообразованиях требует дальнейшего изучения.

Literatura

1. Vlijanije preparata Ukrain na soderzhanije svobodnyh aminokislot i ich proizvodnyh v plasme krvi i opuhlevoj tkani bol'nyh rakom molochnoj zhelezy / L. I. Nefyodov, [et al] // Zdravoohranenije. – 1997. – N 11. – P.7-11.

2. Дорошенко, Е.М. Методика определения свободных аминокислот и их производных в тканях и биологических жидкостях человека методом высокоэффективной жидкостной хроматографии / Е. М. Дорошенко, Л. И. Нефедов, А. А. Глазев // МВИ. МН 806-98. Утв. БелГИМ, 2009. – 16с.
3. Особенности изменений аминокислотного пула плазмы крови при системных опухолях у онкологических пациентов под воздействием тиофосфорных производных алкалоидов *Chelidonium majus* L. / А. А. Глазев [и др.]. – Труды БГУ. – 2007. – Т.2, ч.1. – С. 131-139.
4. Состояние аминокислотного фонда у пациентов острым калькулезным холециститом в динамике после лапароскопической холецистэктомии / И. И. Климович, Е. М. Дорошенко, В. П. Страпко, В. Ю. Смирнов // Журнал ГГМУ, 2007. – № 1. – С.210-212.
5. Состояние белкового обмена у пациентов колоректальным раком и его диагностическое значение для оценки степени тяжести заболевания / В. И. Жуков [и др.] // Вісник проблем біології та медицини.–2011.–Т.3,№3.– С. 60–65.
6. A mixture of amino acids and other small molecules present in the serum suppresses the growth of murine and human tumors in vivo / G. Kulcsar [et al] // *Int. J. Cancer.* – 2013. – V.132, N. 5. – P. 1213–1221.
7. Burzynski, S. R. Antineoplastons: biochemical defense against cancer / S. R. Burzynski // *Physiol. Chem. Phys.* 1976. – V. 8, N. 3. – N.275–279.
8. Combined HPLC, NMR spectroscopy, and ion-trap mass spectrometry with application to the detection and characterization of xenobiotic and endogenous metabolites in human urine / J.P. Shockcor, [et al] // *Anal. Chem.* – 1996. – V. 68, N. 24. – P. 4431-4435.
9. Correlations of plasma and urinary phenylacetic acid and phenylethylamine concentrations with eating behavior and mood rating scores in brofaromine-treated women with bulimia nervosa / B. A. Davis, [et al] // *J. Psychiatry Neurosci.* – 1994. – V. 19, N. 4. – P. 282–288.
10. Demethylation effect of the antineoplaston AS2-1 on genes in colon cancer cells / M. Ushijima, [et al] // *Oncol. Rep.* 2014. – V. 31, N. 1. – P.19–26.
11. Dyck, L. E., Conjugation of phenylacetic acid and m- and p-hydroxyphenylacetic acids in the rat striatum / L. E. Dyck, D. A. Durden, A.A. Boulton // *Life Sci.* – 1993. V. 53, N. 11. – P. 901–909.
12. High levels of aromatic amino acids in gastric juice during the early stages of gastric cancer progression / K. Deng [et al] // *PLoSOne.* – 2012. – V. 7, N.11. – e49434. Режим доступа: <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0049434>.
13. Highly sensitive GC/MS/MS method for quantitation of amino and nonamino organic acids / H.F. Kvitvang, [et al] // *Anal. Chem.* – 2011. – V. 83, N. 7. – P. 2705–2711.
14. Identification and determination of phenylacetylglutamine, a major nitrogenous metabolite in plasma of uremic patients / L. Zimmerman, [et al] // *Clin. Nephrol.* – 1989. – V. 32, N. 3. – P. 124–128.
15. Phenylacetate and phenylbutirate as novel, nontoxic differentiation inducers / D. Samid, [et al] // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 1997. – V. 400 – P. 501–505.
16. Phenylacetate inhibits isoprenoid biosynthesis and suppresses growth of human pancreatic carcinoma / L. E. Harrison, [et al] // *Surgery.* – 1998. – V. 124, N. 3. – P. 541–550.
17. Phenylacetic acid production in dominant and non-dominant vervet monkeys / J. D. Elsworth, [et al] // *Life Sci.* – 1985. – V. 37, N. 18. – P. 1727–1730.
2. Doroshenko Ye. M. Metodika opredelenija svobodnyh aminokislot v tkanih i biologicheskikh zhidkostiah cheloveka metodom bysokoeffektivnoj zhidkostnoj khromatografii / Ye. M. Doroshenko, L. I. Nefyodov, A. A. Glazev // MVI. MN 806-98. Utv. BelGIM, 2009. – 16p.
3. Osobennosti izmenenij aminokislitnogo pula plasmy krovi pri sistemnyh opuholyah u onkologicheskikh bol'nyh pod vozdeystviem tiyofosfornyh proizvodnyh alkaloidov *Chelidonium majus* L. / A. A. Glazev [et al]. – Trudy BGU. – 2007. – V.2, ch.1. – С. 131-139.
4. Sostojaniye aminokislitnogo fonda u bol'nyh ostrym kalkulyoznym kholecystitom v dinamike posle laparoskopicheskoy kholecystektomii / I. I. Klimovich, Ye. M. Doroshenko, V.P.Strapko, V. Yu. Smirnov// Zhurnal GGMU, 2007. – N 1. – P.210-212.
5. Sostojaniye belkovogo obmena u bol'nyh kolorektal'nyim rakom i jego diagnosticheskoe znachenije dlya ocenki stepeni tyazhesti zabolevaniya / V.I. Zhukov [et al] // Visnik problem biologii ta medycyny.–2011.–V.3,N3.– P. 60–65.
6. A mixture of amino acids and other small molecules present in the serum suppresses the growth of murine and human tumors in vivo / G. Kulcsar [et al] // *Int. J. Cancer.* – 2013. – V.132, N. 5. – P. 1213–1221.
7. Burzynski, S. R. Antineoplastons: biochemical defense against cancer / S. R. Burzynski // *Physiol. Chem. Phys.* 1976. – V. 8, N. 3. – N.275–279.
8. Combined HPLC, NMR spectroscopy, and ion-trap mass spectrometry with application to the detection and characterization of xenobiotic and endogenous metabolites in human urine / J. P. Shockcor, [et al] // *Anal. Chem.* – 1996. – V. 68, N. 24. – P. 4431-4435.
9. Correlations of plasma and urinary phenylacetic acid and phenylethylamine concentrations with eating behavior and mood rating scores in brofaromine-treated women with bulimia nervosa / B. A. Davis, [et al] // *J. Psychiatry Neurosci.* – 1994. – V. 19, N. 4. – P. 282–288.
10. Demethylation effect of the antineoplaston AS2-1 on genes in colon cancer cells / M. Ushijima, [et al] // *Oncol. Rep.* 2014. – V. 31, N. 1. – P.19–26.
11. Dyck, L. E., Conjugation of phenylacetic acid and m- and p-hydroxyphenylacetic acids in the rat striatum / L. E. Dyck, D. . Durden, A. A. Boulton // *Life Sci.* – 1993. V. 53, N. 11. – P. 901–909.
12. High levels of aromatic amino acids in gastric juice during the early stages of gastric cancer progression / K. Deng [et al] // *PLoSOne.* – 2012. – V. 7, N.11. – e49434. Режим доступа: <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0049434>.
13. Highly sensitive GC/MS/MS method for quantitation of amino and nonamino organic acids / H.F. Kvitvang, [et al] // *Anal. Chem.* – 2011. – V. 83, N. 7. – P. 2705–2711.
14. Identification and determination of phenylacetylglutamine, a major nitrogenous metabolite in plasma of uremic patients / L. Zimmerman, [et al] // *Clin. Nephrol.* – 1989. – V. 32, N. 3. – P. 124–128.
15. Phenylacetate and phenylbutirate as novel, nontoxic differentiation inducers / D. Samid, [et al] // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 1997. – V. 400 – P. 501–505.
16. Phenylacetate inhibits isoprenoid biosynthesis and suppresses growth of human pancreatic carcinoma / L. E. Harrison, [et al] // *Surgery.* – 1998. – V. 124, N. 3. – P. 541–550.
17. Phenylacetic acid production in dominant and non-dominant vervet monkeys / J. D. Elsworth, [et al] // *Life Sci.* – 1985. – V. 37, N. 18. – P. 1727–1730.

18. The human urine metabolome / S. Bouatra, [et al] // PLoS One. – 2013. – V. 8, N.9. – e73076. Режим доступа: doi: 10.1371/journal.pone.0073076.

19. Urinary phenyl acetate: a diagnostic test for depression? / H.C. Sabelli, [et al] // Science. – 1983. – V. 220. –P. 1187–1188.

20. Venzon, D. J. Phase I and pharmacokinetic study of intravenous phenylacetate in patients with cancer / D.J. Venzon, A.O. Sartor // Cancer Res. – 1994. – V. 54. – P. 1690–1694.

18. The human urine metabolome / S. Bouatra, [et al] // PLoS One. – 2013. – V. 8, N.9. – e73076. Режим доступа: doi: 10.1371/journal.pone.0073076.

19. Urinary phenyl acetate: a diagnostic test for depression? / H.C. Sabelli, [et al] // Science. – 1983. – V. 220. –P. 1187–1188.

20. Venzon, D.J. Phase I and pharmacokinetic study of intravenous phenylacetate in patients with cancer / D.J. Venzon, A.O. Sartor // Cancer Res. – 1994. – V. 54. – P. 1690–1694.

Работа выполнена при поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (грант № M14-095).

PHENYLALANINE METABOLITES AND FREE AMINO ACID POOL PARAMETERS IN URINE OF BREAST CANCER PATIENTS

Doroshenko Ye. M., Motylevich Zh. V., Khorov A. O., Buben A. L.

Educational Institution "Grodno State Medical University", Grodno, Belarus

Objective of study: search of diagnostically significant biochemical parameters in breast cancer patients among the levels of amino acids and phenylalanine metabolites. Methods: GC/HPLC. Results: urine level of phenylacetylglutamine in patients with breast cancer of I and II stages was found to be significantly higher than in healthy subjects. Changes in the levels of aromatic amino acids as well as in glutamine level were of less magnitude. Operative treatment (10 days after operation) did not lead to significant alleviation of the changes found.

Key words: *amino acids, phenylalanine, glutamine, phenylacetic acid, phenylacetylglutamine, breast cancer, diagnostics, markers, chromatography.*

Поступила: 01.12.2015

Отрецензирована: 07.12.2015