

УДК 616.155.392-08:615.277:577.112.85:612.112

Г. С. Маслак

ІЗ «Дніпропетровська медична академія» м. Дніпропетровськ

**ВПЛИВ ПРОТИПУХЛИННОЇ ТЕРАПІЇ АНТИМЕТАБОЛІТАМИ НА ЕКСПОНУВАННЯ N-ГЛІКАНІВ НА МЕМБРАНАХ ЛІМФОЦИТІВ ПРИ ЛЕЙКОЗАХ**

Досліджено та порівняно експонування N-гліканів на мембранах лімфоцитів хворих на хронічний лімфолейкоз, еритремію і сублейкемічний мієлоз до лікування, також після терапії сполученням флударабіну з циклофосфамідом хворих на хронічний лімфолейкоз та лікування гідроксикарбамідом хворих на еритремію і сублейкемічний мієлоз. Локалізацію N-глікогенів визначали методом проточної цитометрії з використанням лектину канавалії мечовидної – Con A кон'югованого з флуоресцеїнізацією. Кількість Con A-позитивних лімфоцитів периферичної крові за хронічним лімфолейкозом була в 2,2 рази більше в порівнянні з контрольною групою, а при еритремії і сублейкемічному мієлозі – в межах норми. У хворих на хронічний лімфолейкоз показник експонування Con A-позитивних епітопів на плазматичній мембрані лімфоцитів був в 20 разів вище порівняно з нормою, а у хворих на еритремію і сублейкемічний мієлоз не відрізнявся від контрольних значень. Проведення терапії сполученням флударабіну з циклофосфамідом хворих на хронічний лімфолейкоз, а також лікування гідроксикарбамідом хворих на еритремію і сублейкемічний мієлоз призводило до зменшення кількості Con A-позитивних лімфоцитів та інтенсивності експонування N-глікогенів, що може свідчити про універсальність дії антиметаболітів на вибрані для досліджень онкопроліферативні захворювання.

**Ключові слова:** лейкоз, еритремія, антиметаболіти, лімфоцити, Con A.

*Робота є фрагментом НДР «Експресія глікокон'югатів та їх посттрансляційна модифікація за умов онкотрансформації» (№ державної реєстрації 0111U002788).*

Противухлинні препарати на сьогоднішній час широко використовуються як самостійно, так і в комплексі із операційним або опромінювальним підходами в лікуванні. Найбільш ефективними та поширеними препаратами при терапії лейкозів вважаються алкілюючі сполуки та антиметаболіти [2]. До антиметаболітів відносять аналоги фолієвої кислоти, азотистих основ або інших сполук, які виступають їх конкурентами в біохімічних реакціях, внаслідок чого гальмуються певні процеси в клітинах та порушуються їх функції. Відтак, флударабин – фторирований аналог аденіну, при потрапленні в лімфоцити гальмує рибонуклеотидну редуктазу, ДНК-полімеразу та синтез ДНК. Його противухлинний ефект при лікуванні лімфопрولیферативних захворювань (хронічний лімфоїдний лейкоз, неходжінські лімфоми низького ступеню злоякісності) частково обумовлений зв'язуванням РНК-полімерази II та гальмуванням синтезу білка [21]. Інший антиметаболіт, який включено в схеми терапії мієлопроліферативних захворювань (еритремія, тромбоцитопенія, мієлофібрози) – гідроксикарбамід (гідроксисечовина) є інгібітором ферменту рибонуклеотидредуктази, що призведе до порушення синтезу ДНК [15, 16]. Одним із бажаних наслідків дії таких антиметаболічних ліків при лейкозах є апоптоз пухлинних клітин. За даними Фільченкова В.В., 2001 флударабин індукує апоптоз злоякісних лімфоїдних клітин людини (СЕМ, Namalwa та МТ-4) як В-, так і Т-клітинного типу [20].

Відомо, що антиметаболіти можуть опосередковано впливати на синтез нуклеотидів (УТФ, ЦТФ та ГТФ), які є основою нуклеотидних сахарів – попередників при біосинтезі глікокон'югатів. Отже, введення таких препаратів може змінювати глікозильованість як секретуємих так і мембран-асоційованих форм глікопротеїнів та гліколіпідів [16].

**Метою** роботи було дослідження експонування N-гліканів на мембранах лімфоцитів хворих на хронічний лімфолейкоз (ХЛЛ) та еритремію і сублейкемічний мієлоз до лікування, а також після терапії сполученням флударабіну з циклофосфамідом (ФС-терапія) хворих на ХЛЛ та лікування гідроксикарбамідом хворих на еритремію і сублейкемічний мієлоз.

**Матеріал та методи дослідження.** Об'єктом дослідження були лімфоцити крові хворих: на еритремію – група I (n = 12); сублейкемічний мієлоз – група II (n = 12); хронічний лімфолейкоз – група III (n = 12) у віці 58-66 років до проведення лікування. Наступний відбір крові в цих групах проводили через дві доби від початку лікуванням гідроксикарбамідом в групах I, II та сполученням флударабіну з циклофосфамідом в групі III. Контрольну групу становили гематологічно здорові волонтери (n=15) у віці від 55 до 65 років.

Клінічне обстеження пацієнтів проводили у відповідності зі стандартами медичної допомоги в умовах спеціалізованого стаціонару - гематологічного відділення комунального закладу «Міська багатопрофільна клінічна лікарня № 4», м. Дніпропетровськ. Діагноз онкологічних захворювань крові у хворих досліджуваної групи був верифікованим згідно з загальноприйнятими клінічними та морфологічними критеріями, що закріплені Наказом МОЗ України №554 від 17.09.2007р «Про затвердження протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю «онкологія» із доповненнями

згідно з Наказом МОЗ України №645 від 30.07.2010р. Усі обстежувані у письмовому вигляді давали згоду на участь у дослідженні.

Виділення лімфоцитів з гепаринізованої крові (20-25 ОД гепарину на 1 мл крові) робили за модифікованим методом А. Воуім (1976), який оснований на седиментації клітин в градієнті густини фікол-урографіну ( $\rho = 1,077$  г/мл) [4]. Для цього у центрифужну пластикову пробірку наливали 2-3 мл градієнта густини, на нього нашаровували 4-6 мл відстояної попередньо розведеної вдвічі в фізіологічному розчині плазми і верхній шар еритроцитів. Пробірки центрифугували упродовж 40 хвилин з прискоренням 200 g за кімнатної температури. Інтерфазне кільце із лімфоцитів відбирали в суху конічну центрифужну пробірку. Отриману суспензію клітин двічі відмивали в забуференому фізіологічному розчині (ЗФР) наступним чином: до суспензії лімфоцитів додавали 3-4 мл ЗФР, вміст пробірки ретельно перемішували і центрифугували з прискоренням 200-300 g за кімнатної температури, потім рідину над осадом відбирали. Після відмивання клітини ресуспендували в ЗФР, підраховували їх кількість у камері Горяєва. Життєздатність клітин (більше 90%) визначали за допомогою трипанового синього (Д.К. Новиков, В.И. Новикова, 1996) та готували робочу концентрацію лімфоцитів (300 тис./мл в кожному зразку) [4]. Експонування біантенних N-гліканів визначали методом проточної цитофлуориметрії з використанням лектину канавалії мечовидної – Con A (Лектинотест, Україна) кон'югованого з флуоресцеїнізотіоціанатом – ФІТЦ. Кількість мертвих клітин контролювали за їх зв'язуванням із пропідій йодидом. Реєстрацію даних проводили на проточному цитометрі Beckman Coulter EPICS. Обробку результатів робили за допомогою програми FC Express.

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою пакета програм Statistics 6.0. Достовірність відмінностей у групах порівняння встановлювали з використанням t-критерію Стьюдента.

**Результати дослідження та їх обговорення.** Кількість лімфоцитів з позитивною реакцією на лектин канавалії мечовидної в нормі становить  $16,0 \pm 3,0$  %. До лікування цей показник є підвищеним в порівнянні з групою контролю у хворих на ХЛЛ та становить  $35,0 \pm 2,0$ % ( $p < 0,05$ ). У хворих на еритремію і сублейкемічний мієлоз він незначно знижується порівняно з нормою до значень  $12,15 \pm 1,6$ % і  $11,05 \pm 1,0$ %, відповідно. Слід відзначити однакову особливість у зміні кількості досліджуваних клітин в усіх групах хворих після проведення лікування антиметаболітами. Так, у хворих на ХЛЛ кількість Con A-позитивних лімфоцитів становить  $1,0 \pm 0,2$ %, у хворих на еритремію і сублейкемічний мієлоз  $1,0 \pm 0,1$ % і  $1,09 \pm 0,4$ %, відповідно.

Дослідження інтенсивності експонування Con A-позитивних епітопів на плазматичній мембрані лімфоцитів показали їх значне і достовірне підвищення в 20 разів ( $p < 0,01$ ) при хронічному лімфолейкозі у порівнянні із нормою (рис. 1А). В той час, як у хворих на еритремію і сублейкемічний мієлоз цей показник не відрізнявся від контрольної групи (рис. 1В).

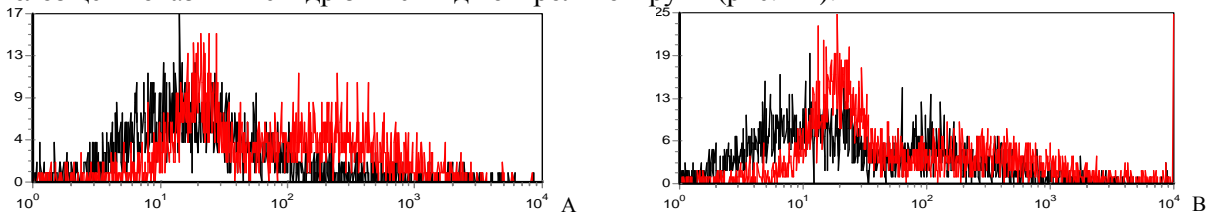


Рис 1. Інтенсивність флуоресценції ФІТЦ-Con A на: (А) лімфоцитах гематологічно здорового донора (чорна лінія) та хворого на хронічний лімфолейкоз (червона лінія); (В) лімфоцитах гематологічно здорового донора (чорна лінія) та хворого на сублейкемічний мієлоз (червона лінія) за даними проточної цитометрії на Beckman Coulter EPICS.

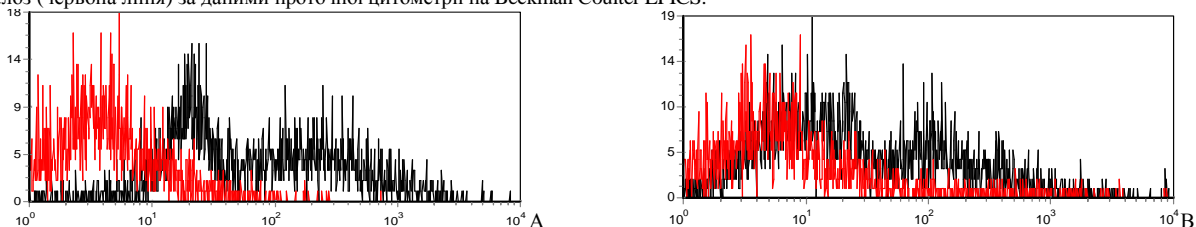


Рис 2. Інтенсивність флуоресценції ФІТЦ-Con A на: (А) лімфоцитах хворого на хронічний лімфолейкоз до лікування (чорна лінія) та після проведення FC-терапії (червона лінія); (В) лімфоцитах хворого на еритремію до лікування (чорна лінія) та після проведення терапії гідроксикарбамидом (червона лінія) за даними проточної цитометрії на Beckman Coulter EPICS.

Значно знижувалась та була дуже низькою інтенсивність взаємодії ФІТЦ-Con A з мембранами лімфоцитів у хворих на ХЛЛ (рис. 2А), на еритремію і сублейкемічний мієлоз (рис. 2В), які пройшли курс хімотерапевтичного лікування антиметаболітами.

У роботі використано лектин канавалії мечовидної – Con A, специфічний до корової частини N-гліканів висикиманозного та гібридного типу (рис. 3), яка часто є основою для подальшого

ускладнення вуглеводних ланцюгів. Відтак порушення зв'язування Con A з поверхневими глікон'югатами може свідчити про зміни в процесах посттрансляційної модифікації та в формуванні повноцінних вуглеводних гілок в досліджуваних лімфоцитах [10].

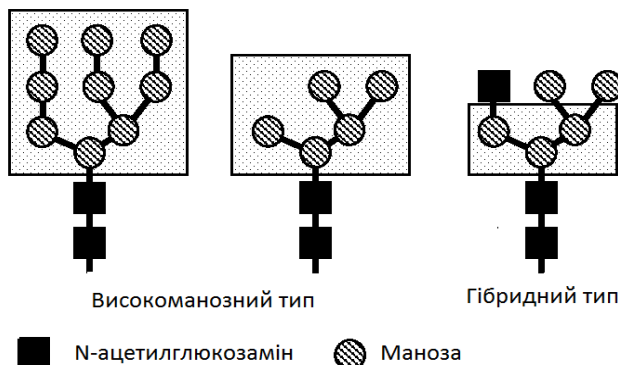


Рис 3. Вуглеводна специфічність лектину каналії мечовидної – Con A.

Якщо на поверхні цих клітин хворих на еритремію та сублейкемічний мієлоз інтенсивність експонування не відрізняється від контролю, то лімфоцити хворих на ХЛЛ мають в 20 разів вищий рівень взаємодії з ФІТЦ-Con A, тобто на мембранах клітин пухлинного клону підвищується експонування глікокон'югатів, які мають у своєму складі N-глікани. Отримані нами дані, за допомогою сучасного методу дослідження клітин – протокової цитометрії, підтвердили висновки, які було зроблено Speckart S.F., 1978 при дослідженні аглютинації В-лімфоцитів лектином каналії мечовидної, яка було значно вище у хворих на ХЛЛ, ніж у гематологічно здорових донорів.

Хіміотерапевтичне лікування метаболітами призводить до зниження інтенсивності експонування N-глікозилізованих глікоглікопів на поверхні лімфоцитів у хворих на мієлолейкози та лімфолейкози. Насьогодні вже досліджено великий спектр пухлинних клітин, які підлягали впливу лікарських засобів цієї групи. Наприклад, відомо, що цей тип взаємодії знижується у клітин Sarcoma-180 під дією 6-метилмеркаптопуририбозиду (6ММРР) та 6-тиогуаніну (6ТГ). Однак, в літературних джерелах відсутні дані щодо змін Con A-зв'язування мембран лейкемічних клітин. Відомо тільки, те що лейкемічні клітини лінії HL-60 під дією гідроксикарбамиду мають знижений ступінь зв'язування із лектинами SBA та PNA [17]. Отже дані, щодо впливу хіміотерапевтичного лікування антиметаболітами на Con A-зв'язування лімфоцитів людини за лейкозів отримані нами вперше.

Слід відзначити різну кількість лімфоцитів, яка взаємодіяла з ФІТЦ-Con A в нормі, за лейкозами та під час лікування. Рівні Con A-позитивних лімфоцитів при досліджуваних патологіях співпадають з загальною кількістю лімфоцитів у цих хворих. Так, при ХЛЛ підвищується кількість лімфоцитів [13], а при еритремії та сублейкемічному мієлозі частково пригніченням їх синтезу, а рівень в плазмі крові може не змінюватись [19].

Особливої уваги потребують результати, отримані після терапії атиметаболітами досліджуваних груп хворих. Незалежно від типу лікування (FC-терапія або гідроксикарбамид) та типу лейкозу (мієло- аб лімфопрліферація) в крові визначається знижений рівень Con A-позитивних лімфоцитів, як в порівнянні з контрольною групою, так із групами цих же хворих до початку лікування. В попередніх роботах нами показано, що FC-лікування хворих на ХЛЛ в 8 разів знижує кількість лейкоцитів у таких хворих [5]. Отже, можливо зниження рівня Con A-позитивних лімфоцитів є наслідком загального зниження лейкоцитів під дією комбінації флударабіну з циклофосфамідом, активацією процесів апоптозу під дією антиметаболітної терапії.

Як відомо метаболічний статус лімфоцитів за мієлозами зазнає певних змін з боку ліпідного та вуглеводного обміну, знижується їх антиоксидантний захист [1]. Так, у хворих на хронічний мієлолейкоз експонування фібронектину, глікопротеїну клітинної адгезії, достовірно зростає на плазматичній мембрані лімфоцитів та знижується всередині цих клітин [6]. А під час лікування хворих на ХЛЛ за протоколом ЦОП-терапії (поєднання циклофосфаміду з вінкристином та преднізолоном) відмічено загальну тенденцію до підвищення експонування іншого глікопротеїну – альфа-1-кислого глікопротеїну на лімфоцитах [7]. Відтак, не дивлячись на те, що лімфоцити за мієлопроліферативними захворюваннями не є пухлинним клоном, вони зазнають змін під дією як алкілуючої так і антиметаболітної терапії.

Отже, введення гідроксикарбамиду хворим на еритремію і сублейкемічний мієлоз призводить до подібним FC-терапії при ХЛЛ результатам в сторону зменшення як кількості Con A-позитивних

лімфоцитів так і інтенсивності експонування N-глікозопів, що може свідчити про універсальність дії антиметаболітів на вибрані для досліджень онкопроліферативні захворювання.

Відповідь на питання, щодо впливу антиметаболітів на процеси N-глікозилювання глікокон'югатів пухлинних клітин була отримана ще в минулому столітті [11]. Поява нових методів дослідження дозволяє більш детально розглядати, як саме здійснюються процеси транспортування цих ліків в клітини, які метаболіти в цьому приймають участь, як зміни їх структури впливають на ці процеси. Так, транспорт в клітинах аналогів фолієвої кислоти, які використовуються при лікуванні хронічних запальних, пухлинних, викликаних бактеріями або паразитами хвороб, здійснюються завдяки одному із метаболітів – RFC/SLC19A1 (reduced folate carrier), порушення N-глікозилювання по Asn58 якого призводить до гальмування цих процесів [3]. Важливим недоліком вибраних препаратів лікування онкохворих є їх дія не тільки на пухлинні клітини, але й на здорові клітини, тому перспективним науковим напрямком є пошук більш специфічних агентів, які вибірково діють на клітини пухлинного клону. Одним із таких препаратів згідно Gonpe N. є комбінація винтафолида з сполуками платини [12].

Перерозподіл N-глікозопів на мембранах лімфоцитів за лейкозами в першу чергу пов'язан із інтенсифікацією експресії пухлинними клітинами специфічних поверхневих маркерів. Так, ХЛЛ-лімфоцити на своїй поверхні мають велику кількість коекспресованих CD19, CD5 та CD23, та незначний рівень імуноглобулінів, CD79b та CD22, які є N-глікозилюваними глікопротеїнами та є онкогенними маркерами, що дає змогу розробити більш специфічні методи лікування [5]. Наприклад, CD22 – подібний до імуноглобулінів лектин, який розпізнає  $\alpha 2,6$ -зв'язані сіалові кислоти є мішенню для високоафінних антитіл при протипухлинній терапії [9]. Одним з сучасних та ефективних методів лікування лейкозів вважається комбінація антитіл (наприклад ритуксимабу), які розпізнають пухлинні антигени та пуринових аналогів [8] або нуклеозидів [14], що стимулюють її апоптоз.

Слід відзначити, що за умов лейкозів на поверхні пухлинних клітин можуть з'являтися висоглікозилювані детермінанти, характерні для данного типу клітин. Відомі спроби ефективного використання лектинів, як стимуляторів апоптозу, які вибірково взаємодіють з певними глікопротеїновими послідовностями [22].

### Висновки

1. За еритремією і сублейкемічним мієлозом не змінюється кількість Соп А-позитивних лімфоцитів периферичної крові в порівнянні з контрольною групою, а за ХЛЛ в 2,2 рази більше, ніж у здорових донорів. Показник експонування Соп А-позитивних епітопів на плазматичній мембрані лімфоцитів не відрізняється у хворих на еритремію і сублейкемічний мієлоз та в 20 разів вище при хронічному лімфолейкозі у порівнянні із нормою.
2. За даними проточної цитометрії кількість Соп А-позитивних лімфоцитів знижена та не відрізняється у хворих на ХЛЛ після FC-терапії та у хворих на еритремію і сублейкемічний мієлоз після лікування гідроксикарбамидом.
3. Інтенсивність експонування Соп А-позитивних епітопів на плазматичній мембрані лімфоцитів у хворих на лейкози, які пройшли курс хіміотерапевтичного лікування антиметаболітами значно знижена, в порівнянні з цим показником до лікування та в контрольній групі.

*Перспективи подальших досліджень.* Подальші дослідження глікозопів на поверхні лімфоцитів з використанням інших лектинів, а також детальний аналіз глікопротеїнів, які входять до складу плазматичних мембран цих клітин, до лікування та після його проведення, допоможуть розширити уявлення про глікобіохімічні процеси в клітинах при лейкозах та розробити нові підходи до їх лікування.

### Список літератури

1. Безуглий П. О. Фармацевтична хімія / П. О. Безуглий // - Вінниця: Нова книга, - 2008. – 560 с.
2. Ковальчук Л. В. Иммунология : практикум: учеб. пособие / Л. В. Ковальчук [и др.] // - М. : ГЭОТАР-Медиа, - 2010. - 176 с.
3. Лаповець Л. Є. Вибрані лекції з лабораторної медицини. Частина I. Гематологічні дослідження/ Л. Є. Лаповець, Г. Б. Лебедь, О. О. Ястремська [та ін.] // Львів. - 2013. - С. 340 - С. 192-193.
4. Маслак Г. С. Перерозподіл популяцій лейкоцитів за експресією фібронектину та альфа-1-кислого глікопротеїну при еритремії / Г. С. Маслак, І. В. Машейко, А. О. Кулінич [та ін.] // Одеський медичний журнал.- 2010.- Т. XXI., №6.- С. 4-5.
5. Маслак Г. С. Порівняльний аналіз за поверхневими і внутрішньоклітинними  $\alpha_1$ -кислим глікопротеїном і фібронектином лімфоцитів крові хворих на гострі та хронічні мієлолейкози / Г. С. Маслак // Біологічні Студії. - 2014. – Т. 8, №1. - С. 117-124.
6. Маслак Г. С. Динаміка змін рівня плазматичного та асоційованого із поверхнею клітин крові гострофазового альфа-1-кислого глікопротеїну за комбінованої хіміотерапії хронічного лімфоїдного лейкозу / Г. С. Маслак, І. В. Машейко, Н. С. Паша [та ін.] // Вісник проблем біології і медицини. – 2014. - Випуск 2. Т.3, №109. – С. 164-169.
7. Савченко А. А. Метаболический статус лимфоцитов крови при хроническом миелолейкозе и хроническом лимфолейкозе / А. А. Савченко, О. В. Смирнова, В. Т. Манчук // Медицинская иммунология. 2008;1:21-26.

8. Bennett M. Semin Treatment of splenic marginal zone lymphoma: splenectomy versus rituximab / M. Bennett, G. P. Schechter // Hematol. – 2010. - Vol. 47, N. 2. P. 143-147.
9. Chen W. C. In vivo targeting of B-cell lymphoma with glycan ligands of CD22 / W. C. Chen, G. C. Completo, D. S. Sigal // Blood. – 2010. – Vol. 115, N. 23. P. 4778-4786.
10. Dipak K. M. Studies of the binding specificity of concanavalin A. Nature of the extended binding site for asparagine-linked carbohydrates / K. M. Dipak, L. Bhattacharyya, S. H Koenig [et al.] // Biochemistry. – 1994. – Vol. 33, N 5. P. 1157–1162.
11. Graaf T.W.D. Antimetabolite-induced increases in the invasive capacity of murine leukaemia L1210 cells / T.W.D. Graaf, G. J. Peters, van Dijk W. // Clinical and Experimental Metastasis. - 1994. – Vol. 12, N 2. P. 134-142.
12. Gonen N. Antifolates in cancer therapy: Structure, activity and mechanisms of drug resistance / N. Gonen, Y. G. Assaraf // Drug Resistance Updates. - 2012. – Vol. 15, N. 4. P. 183–210.
13. Keating M. J. Early results of a chemoimmunotherapy regimen of fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab as initial therapy for chronic lymphocytic leukemia // M. J. Keating, S. O'Brien, M. Albitar [et al.] // J Clin Oncol. – 2005. - Vol. 23, N. 18. P. 4079-4088.
14. Martínez-Trillos A. Efficacy and tolerability of hydroxyurea in the treatment of the hyperproliferative manifestations of myelofibrosis: results in 40 patients / A. Martínez-Trillos, A. Gaya, M. Maffioli [et al.] // Ann Hematol. – 2010. – Vol. 89, N 12. P.1233-1237.
15. Najean Y. Treatment of polycythemia vera: the use of hydroxyurea and pipobroman in 292 patients under the age of 65 years / Y. Najean, J. D. Rain // Blood. – 1997. – Vol.9, N 90. P.3370-3377.
16. Peters G. J. Do antimetabolites interfere with the glycosylation of cellular glycoconjugates? / G. J. Peters, H. M. Pinedo, W. Ferwerda [et al.] // Eur J Cancer. – 1990. – Vol.26, N 4. P. 516-523.
17. Phylchenkov A. A. Apoptosis induction in human malignant cells by DNA-damaging agents with different mechanisms of action / A. A. Phylchenkov, M. P. Zavelevich, Z. A. Butenko // Experimental Oncology.- 2001. – Vol.23; N 3. P. 170-174.
18. Rueda F. Different lymphocyte activity in patients with polycythaemia vera versus secondary polycythaemia and healthy blood donors / F. Rueda, A. Remacha, F. Martí // Acta Haematol. – 1990. – Vol. 83, N 1. P. 31-34.
19. Ruta R. The combination of fludarabine, cyclophosphamide, and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in the treatment of patients with relapsed chronic lymphocytic leukemia and low-grade Non-Hodgkin's lymphoma / R. Ruta, Jamile M. Shammo Sari H. Enschede [et al.] // Clinical Lymphoma.- 2005.- Vol.6, N 1. P. 26-30.
20. Reinke S. O. The analysis of N-glycans of cell membrane proteins from human hematopoietic cell lines reveals distinctions in their pattern / S.O. Reinke, M. Bayer, M. Berger [et al.] // Biol Chem.– 2012. – Vol. 393, N. 8. P. 731-747.
21. Tatsuta T. Leczyme: a new candidate drug for cancer therapy / T. Tatsuta, S. Sugawara, K.Takahashi // BioMed Research International. – 2014.
22. Varki A. Essentials of Glycobiology / A. Varki, R. Cummings, J. Esko [et al.] // Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press, - 1999, 47 p.
23. Wang X. Differential stereospecificities and affinities of folate receptor isoforms for folate compounds and antifolates / X. Wang, F. Shen, J. H. Freisheim [et al.] // Biochem Pharmacol. – 1992. - Vol. 44, N. 9. P. 1898-1901.

## Реферати

### ВЛИЯНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ АНТИМЕТАБОЛИТАМИ НА ЭКСПОНИРОВАНИЕ N- ГЛИКАНОВ НА МЕМБРАНАХ ЛИМФОЦИТОВ ПРИ ЛЕЙКОЗАХ

Маслак А. С.

Исследовали и сравнивали экспонирования N-гликанов на мембранах лимфоцитов больных хроническим лимфолейкозом, эритроемией и сублейкемическим миелозом до лечения, а также после терапии. Локализацию N-гликотопов определяли методом проточной цитометрии с использованием лектина канавалии мечевидной - Con A конъюгированного с флуоресцеинизотиоцианатом. Количество Con A-положительных лимфоцитов периферической крови при хроническом лимфолейкозе была в 2,2 раза выше по сравнению с контрольной группой, а при эритроемии и сублейкемическом миелозе - в пределах нормы. У больных хроническим лимфолейкозом показатель экспонирования Con A-положительных эпитопов на плазматической мембране лимфоцитов был в 20 раз выше по сравнению с нормой, а у больных эритроемией и сублейкемическим миелозом – не отличался от контрольных значений. Проведение терапии сочетанием флударабина с циклофосфамидом больных хроническим лимфолейкозом, а также лечение гидроксикарбамидом больных эритроемией и сублейкемическим миелозом приводило к уменьшению количества Con A-положительных лимфоцитов и интенсивности экспонирования N-гликотопов, что может свидетельствовать про универсальность действия антимиетаболитов на выбранные для исследований онкопролиферативные заболевания.

**Ключевые слова:** лейкоз, эритроемия, антимиетаболиты, лимфоциты, Con A.

### EFFECT OF ANTIMETABOLITE THERAPY ON N- GLYCAN EXPONATION ON THE MEMBRANES OF LYMPHOCYTES IN LEUKEMIA

Maslak G. S.

The N-glycans exponation on membranes of lymphocytes of patients with chronic lymphocytic leukemia, and polycythemia vera and subleukemic myelosis before treatment and after treatment were investigated and compared. Localization of N-glycotopes was determined by flow cytometry using concanavalin A – Con A conjugated with fluorescent labels. Number of Con A-positive lymphocytes in peripheral blood with chronic lymphocytic leukemia was 2.2 times higher as compared with the control group, while in polycythemia vera and subleukemic myelosis was in normal value. There is a significantly increasing in 20 times of Con A-positive epitopes in patients with chronic lymphocytic leukemia compared with the control group, and an absence of difference in patients with polycythemia vera and subleukemic myelosis. Carrying out fludarabine and cyclophosphamide therapy in patients with chronic lymphocytic leukemia, and treatment of patients hydroxycarbamide in polycythemia vera and subleukemic myelosis patients reduced the Con A-positive lymphocytes number and decreased N-glycotopes exponation intensity, which can indicate of universality the action of antimetabolites on leukemia.

**Key words:** leukemia, polycythemia vera, antimetabolites, lymphocytes, Con A.

Рецензент Куш О.Г.

Статья надійшла 23.06.2014 р.