ISSN 0206-5657. Вісник Львівського університету. Серія біологічна. 2014. Випуск 65. С. 61–70
Visnyk of the Lviv University. Series BIology. 2014. Issue 65. P. 61–70

БІОХІМІЯ

УДК 577.112.85:616.4:616.155.392-036.1:615.277

ЗМІНА РІВНЯ LCA- ТА LABA-ЗВ'ЯЗУВАННЯ α1-КИСЛОГО ГЛІКОПРОТЕЇНУ ТА ФІБРОНЕКТИНУ ПЛАЗМИ ЗА УМОВ ЦИТОСТАТИЧНОЇ ХІМІОТЕРАПІЇ ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ЛІМФОЛЕЙКОЗ

Г. Маслак

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»
вул. Дзержинського, 9, Дніпропетровськ 49001, Україна
e-mail: maslak_anna@mail.ru

Дослідження рівня LCA- та LABA-зв'язування фібронектину (ФН) та α_1-кислого глікопротеїну (АГП) в плазмі хворих на хронічний лімфолейкоз (ХЛЛ) до та після лікування проведено за допомогою лектин-ферментного аналізу. Кількість LCA-зв'язаних глікоформ ФН була нижчою за контрольні значення у плазмі хворих на ХЛЛ і в першу добу після проведення лікування та значно зростала через два місяці після проведення терапії цитостатиками. Рівень LCA-зв'язування АГП зростав у хворих на ХЛЛ та не змінювався протягом лікування, що свідчить про відсутність впливу терапії цитостатиками на α1,6-фукозильований глікотоп N-гліканів АГП. Рівень LABA-зв'язування АГП і ФН плазми хворих на ХЛЛ були кореляційно зв'язані та достовірно знижувались після проведення лікування. Вони можуть бути використані для оцінки результатів терапії у пацієнтів із ХЛЛ.

Ключові слова: фібронектин, α_1-кислий глікопротеїн, фукозилювання, хронічний лімфолейкоз, терапія цитостатиками.

Лектини є одним із найбільш розповсюджених інструментів дослідження стану вуглеводного компоненту білків, будь то сіалювання, галактозилювання, розгалуженість гліканів чи фукозилювання [5]. Фукозилювання – це найважливіша олігосахаридна модифікація, її зміни у складі глікокон'югатів залучені в процеси запалювання та онкопроліферації. Фукоза (6-дезокси-L-галактоза) є моносахаридом, який приєднується наприкінці вуглеводних ланцюгів та/або до корової частини N- або O-гліканів. Перерозподіл у кількості фукозильованих білків плазми у хворих на пухлинні захворювання напряму пов'язаний із порушенням фукозилювання клітин пухлинного клону або зі змінами процесів фукозилювання в печінці [16]. α_1-Кислий глікопротеїн (АГП) та фібронектин (ФН) плазми крові в основному синтезуються клітинами печінки, є імуномодуляторами, а їх біологічна активність напряму залежить від стану вуглеводної складової [11, 14, 18].

Близько половини молекули АГП (41–45%) становлять сіальовані та фукозильовані бі-, три- або тетраантенні N-глікани, які ковалентно приєднані до аспарагіну [15, 38, 54, 75, 85] пептидних ланцюгів АГП, а їхній перерозподіл забезпечує мікрогетерогенність цього білка, що значно змінюється за умов патологічних процесів [21]. Поява глікоформ АГП із підвищеним вмістом α1,2, α1,3 та α1,6-фукозильованих N-гліканів часто є ознакою процесу пухлинного росту, за яким АГП змінює свої функції. Так, у роботах H. Jorgensen et al. [22] показано здатність АГП, що має у своєму складі сіаліл-Льюїс^X–послідовність (SLe^X) [NeuAcα2,3Galβ(Fucα1,3)-4GlcNAc-], здатний пригнічувати зв'язування E-селектину із SLe^X–презентуючими клітинами.

© Маслак Г., 2014

Фібронектин є адгезивним мультидоменним багатофункціональним глікопротеїном, що включає 5–9% вуглеводної складової [18]. ФН має 7 потенційних сайтів N-глікозилювання, що локалізуються у колаген-зв'язуючому домені (Asn 430, 528, 542) та домені, який взаємодіє з клітиною (Asn 877, 1007, 1244, 2108). Глікани можуть приєднуватися до треоніну 2064, 2065, 279 варіабельного регіону фібронектину [23]. Достовірно відомо, що вуглеводна частка фібронектину впливає на його конформацію, афінність до субстратів та захищає молекули від гідролізу. Саме зміни конформації фібронектину є характерними для патологічних станів, тому значно змінюється його функціональна активність [19].

Однак у літературі майже відсутні дані щодо впливу протипухлинної терапії на стан вуглеводної частки будь-яких білків, у тому числі і АГП та фібронектину. Метою роботи було дослідження рівня LCA- та LABA-зв'язування фібронектину й α_1-кислого глікопротеїну плазми хворих на хронічний лімфолейкоз (ХЛЛ) до лікування та на різних етапах після цитостатичної терапії.

Матеріали та методи

Матеріалом дослідження слугувала плазма крові хворих на ХЛЛ (n=20) у віці 58–66 років, які залежно від терміну лікування становили три групи: I – до лікування; II – перша доба від початку проведення курсу стандартної поліхіміотерапії (ПХТ) за схемою ЦОП (циклофосфамід 750 мг/м^2 в/в у 1-й день, вінкристин (онковін) 1,4 мг/м^2 в/в у 1-й день, преднізолон у дозі 40 мг/м^2 протягом 5 днів); III – через два місяці після проведення першого курсу стандартної хіміотерапії за схемою ЦОП. До групи контролю увійшли гематологічно здорові волонтери (n=20) віком від 55 до 65 років. Лікування згідно з поліхіміотерапевтичними схемами за програмою ЦОП призначалось як перша лінія терапії хворим на хронічний лімфолейкоз із урахуванням індивідуальних клініко-гематологічних показників. Усі пацієнти проходили лікування у спеціалізованому відділенні онкогематологічного центру КЗ міської багатопрофільної клінічної лікарні №4 ДОР м. Дніпропетровська (2011–2012 рр.) Діагноз онкологічних захворювань крові у хворих досліджуваної групи був верифікованим згідно з загальноприйнятими клінічними та морфологічними критеріями, що закріплені Наказом МОЗ України № 554 від 17.09.2007 р. «Про затвердження протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю «онкологія» із доповненнями згідно з Наказом МОЗ України № 645 від 30.07.2010 р. Відбір біологічного матеріалу для досліджень виконували згідно з принципами біоетики та медичної деонтології. Всі обстежувані давали письмову згоду на участь у дослідженні.

Ступінь глікозильованості ФН та АГП вивчали методом лектин-ферментного аналізу [7, 8] з використанням антитіл до ФН та АГП плазми, що були деглікозильовані за допомогою N-глікозидази F (US Biological, США). Відсутність вуглеводів у складі деглікозильованих імуноглобулінів, їхню афінність і специфічність перевіряли лектин- та імунодот-аналізом. Використовували лектин сочевиці – LCA (Лектинотест, Україна), лектин кори золотого дощу звичайного – LABA (Лектинотест, Україна), що були кон'юговані з пероксидазою хрону в нашій лабораторії за методикою М. Д. Луцика та ін [6]. Для контролю специфічності зв'язування лектинів із вуглеводними детермінантами ФН та АГП у реакційну суміш додавали моносахариди-інгібітори: α-метил-манозу та фукозу в концентрації 0,1 моль/л для LCA та LABA, відповідно. Лектин-зв'язуючу активність оцінювали у перерахунку на 1 мкг кожного білка як відсоток зв'язування відповідного лектину з ФН та АГП плазми щодо даних, отриманих у групі контролю.

Концентрацію ФН і АГП у плазмі визначали методом імунодоту з використанням поліклональних кролячих антитіл до ФН і АГП, відповідно. Отримані результати обчислювали за допомогою програми GelProAnalyser 3.1.

Статистична обробка даних виконана за допомогою пакету програм Statistics 6.0. Достовірність відмінностей у досліджуваних групах встановлювали за t-критерієм Стьюдента.

Результати і їхнє обговорення

Лектин сочевиці – Lens culinaris agglutinin (LCA) – є специфічним до бі- чи триантенних N-гліканових гілок, що містять константний тандем [(GlcNAcβ1,2)Manα1,6(GlcNAcβ1,2 Manα1,3)Manβ1,4GlcNAcβ1,4(Fucα1,6)GlcNAc] [25]. Слід зазначити, що рівень LCA-зв'язування відрізнявся у досліджуваних білків (рис. 1). Так, LCA-зв'язуюча активність АГП була вища за норму на 32,0±2,0% в I групі – хворі на ХЛЛ, які не проходили курс лікування. Аналіз LCA-зв'язування цього білка в першу добу після проведення хіміотерапії за схемою ЦОП показав, що вона достовірно зростає у II групі порівняно з контролем на 44,0±2,8% та незначно підвищується щодо показників у I групі. Слід відзначити, що в III групі – хворі, які здавали кров через два місяці після проведення ЦОП-терапії, ступінь LCA-зв'язування АГП був вищий за норму та майже не відрізнявся від значень, що були отримані у групі хворих до лікування.

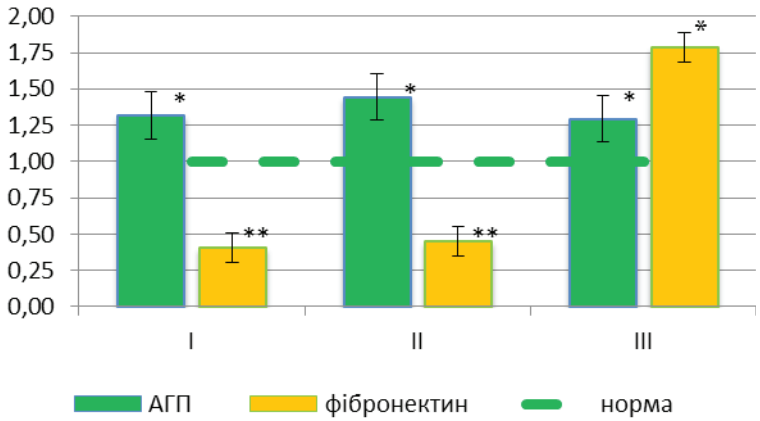

Рис. 1. Ступінь зв'язування (у %) α_1-кислого глікопротеїну (АГП) та фібронектину з лектином сочевиці – Lens culinaris agglutinin (LCA) щодо норми (штрихована лінія) у трьох досліджуваних групах: I – до лікування; II – перша доба з початку проведення курсу стандартної поліхіміотерапії за схемою ЦОП; III – через два місяці після проведення першого курсу стандартної хіміотерапії за схемою ЦОП. * – різниця вірогідна порівняно з контрольною групою норми при $p<0,05$, ** – $p<0,01$.

Дослідження рівня LCA-зв'язування фібронектину виявили, що в плазмі хворих на ХЛЛ до лікування підвищується вміст дефукозильованих глікоформ ФН, причому на 59,0±3,4% порівняно із групою контролю. Слід відзначити, що в першу добу після проведення ЦОП-лікування цей рівень не змінювався. Однак у III групі рівень LCA-зв'язування глікоформ фібронектину достовірно зростав на 78,8±5,8% щодо норми. Проведений аналіз (за критерієм Пірсона) показав відсутність кореляційних зв'язків між LCA–зв'язуючою активністю АГП та фібронектину в усіх досліджуваних групах, крім групи III, у який він становив r=0,34.

Лектин із кори золотого дощу звичайного – Laburnum anagyroides lectin (LABA) – має найбільшу спорідненість до послідовності Fucα(1,2)Galβ1 та може бути використаний для визначення рівня α1,2-фукозилювання глікопротеїнів. Слід відзначати, що лектин-зв'язуюча активність зростала для обох глікопротеїнів у групі хворих на ХЛЛ до лікування:

на 73,0±8,0% для АГП та на 36,8±4,0% для фібронектину (рис. 2). У групах II і III ступінь LABA-зв'язування як АГП, так і фібронектину знижувався відносно I групи та достовірно не відрізнявся від норми. Слід відзначити, що коефіцієнт кореляції Пірсона становив у групі контролю r=0,97, у групах I, II та III – r=0,49, r=0,33 та r=0,40, відповідно.

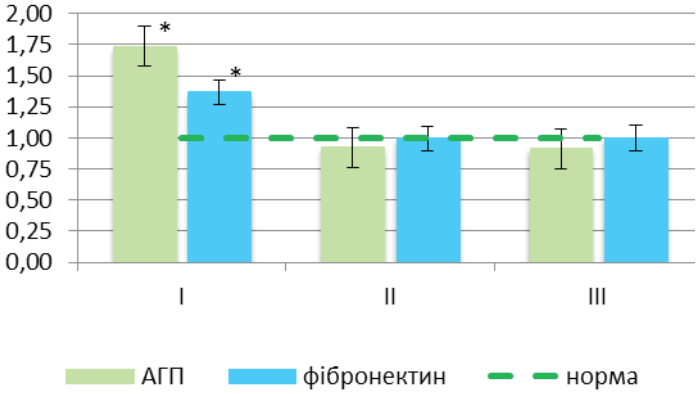

Рис. 2. Ступінь зв'язування (у %) α_1-кислого глікопротеїну (АГП) та фібронектину з лектином із кори золотого дощу звичайного – Laburnum anagyroides lectin (LABA) – щодо норми (штрихована лінія) у трьох досліджуваних групах: I – до лікування; II – перша доба з початку проведення курсу стандартної поліхіміотерапії за схемою ЦОП; III – через два місяці після проведення першого курсу стандартної хіміотерапії за схемою ЦОП. * – різниця вірогідна порівняно з контрольною групою норми при $p<0,05$, ** – $p<0,01$.

Фукозилювання є мінорним типом мікрогетерогенності білків і відіграє ключову роль у їхній біологічній активності, у процесах пухлинного росту й метастазування [9]. α_1-Кислий глікопротеїн – це складний білок, вуглеводні ланцюги якого мають у своєму складі залишок фукози, що приєднується до глікану трьома типами зв'язків: α1,3- до кінцевого N-ацетилглюкозаміну, α1,6 та α1,2 до корового N-ацетилглюкозаміну та галактози, відповідно (рис. 3). Ступінь фукозилювання АГП у популяції здорових людей становить від 30% [11] до 40% [12]. Перерозподіл фукозильованих глікоформ АГП за T. Hashimoto et al. [13] використовується як діагностичний і прогностичний критерій. Так, підвищений рівень глікоформ АГП і трансферину з коровою α1,6-фукозою є специфічними сироватковими біомаркерами гепатокарциноми [9].

За отриманими в роботі даними рівень LCA- та LABA-зв'язування АГП зростає у хворих на ХЛЛ. У нашій лабораторії було також показано, що у разі субмієлозу рівень LCA-зв'язування АГП також зростає, у той час як при хронічному мієлоїдному лейкозі та істинній поліцитемії ці показники знижуються [4]. Можна припустити, що такий різний рівень LCA-зв'язування АГП при онкопроліферативних захворюваннях є маркером диференціального діагностування різних типів лейкозів.

Слід відзначити, що LCA-зв'язувальна активність АГП була підвищена та майже не змінювалась у хворих як до лікування, так і в першу добу та через два місяці. Отже, терапія цитостатиками не мала впливу на лектин-зв'язуючу активність АГП такого типу. Виходячи з того, що LCA вважається специфічним до корового триманозиду із α1,6 фукозою, тому є в більшому ступені маркером N-глікозилювання, нами було також проаналізовано ConA-зв'язування (реагує з коровою манозою біантенних N-гліканів) АГП у досліджуваних групах [1]. Ступінь зв'язування з лектином ConA АГП плазми у хворих на ХЛЛ достовірно ($p<0,05$) знижувався порівняно з нормою на 31,0±2,1%. За отриманими в роботі даними

Con A-зв'язуюча активність АГП перебувала в межах норми, тобто відносний вміст біантенних *N*-гліканів нормалізувався під дією ЦОП-терапії та залишався незмінним через два місяці після її проведення. Отже, виходячи зі специфічності використаних лектинів, можна зробити припущення, що змінювалось саме α1,6-фукозилювання N-гліканів АГП. З літературних даних [13] відомо, що у онкохворих пацієнтів на термінальних стадіях захворювання, визначення в сироватці підвищеного вмісту розгалужених N-гліканів із високим вмістом корової α1,6 фукози після операції були пов'язані з поганим прогнозом. У той же час пацієнти, в сироватці яких збільшення такого типу глікоформ АГП було відсутнє, швидше за все, мали добрий, більш обнадійливий прогноз. Подібний аналіз було також проведено у хворих після хірургічного втручання [10]. Слід відзначити, що проведення лабораторного обстеження хворих після ЦОП-терапії порівняно із FC-терапією (флударабін, циклофосфамід) показало її меншу ефективність у напрямі зменшення кількості лейкоцитів [3].

Ступінь LABA-зв'язування АГП у першу добу та через два місяці після проведення хіміотерапії знижувався до контрольних значень. Цей тип фукозилювання зустрічається у АГП зі слини, амніотичної рідини та у чоловіків із лейкоцитоспермією [15]. Наявність LABA-зв'язування АГП у плазмі здорової людини й у плазмі при мієлопроліферативних процесах вперше показано в роботах І.В. Машейко [4]. Відомо також, що внаслідок додаткового α1,3-фукозилюваннння такого глікотопу АГП може з'являтися послідовність Льюїс [Fucα(1,2)Galβ(1,4)][Fucα(1,3)GlcNAcβ1-R], яка виявляється у структурі як глікопротеїнів, так і гліколіпідів за умов онкопроліферації, а на поверхні клітин значно впливає на процеси їхньої адгезії [18]. Отже, додаткові дослідження можуть визначити, чи не є характерний цей глікотоп АГП за умов хронічного лімфолейкозу, який може зникати під впливом хіміотерапевтичного лікування, оскільки не є характерним для АГП плазми здорової людини.

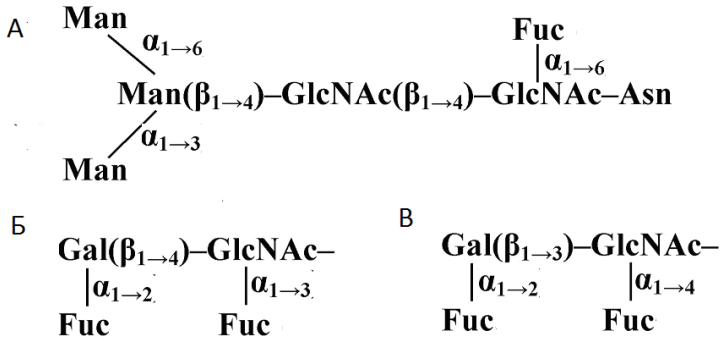

Рис. 3. Фукозильовані вуглеводні послідовності глікопротеїнів: **(А)** N-гліканові гілки із α1,6-зв'язаною фукозою з коровим N-ацетиглюкозаміном; **(Б, В)** послідовності N- або O-гліканів із α1,2-зв'язаною фукозою з галактозою. GlcNAc – N-ацетилглюкозамін; Man – маноза, Gal – галактоза, Fuc – фукоза.

Лектин-зв'язуючий аналіз з використанням LABA показав зміни взаємодії фібронектину плазми хворих на ХЛЛ із цим лектином. Фібронектин плазми крові здорової людини має незначну кількість α1,6 та α1,3-фукозильованих N-гліканів [23] та α1,2-фукозильованих O-гліканів [5]. За даними, отриманими А. О. Кулініч [6], підвищення зв'язування ФН з LABA визначається при еритремії, а при сублейкемічному мієлозі знижується, крім цього, фібронектин плазми здорових донорів взаємодіє з цим лектином. Роль цього глікоепітопу та його вплив на функціональну активність ФН досі є нез'ясованою. Відомо, що він з'являється у фібронектинів слини, амніотичної рідини та сперми. За даними M. Przybysz

[20], підвищення кількості глікоформ фібронектину із α1,3 та α1,2-фукозильованими гліканами синовіальної рідини та плазми хворих на ревматоїдний артрит є специфічним маркером стадії цього захворювання й асоціюється із процесами репарації та адаптації у таких хворих.

У групах II і III ступінь LABA-зв'язування ФН, як і для АГП, знижувався, а наявність чіткого кореляційного зв'язку між LABA-зв'язуючою активністю АГП та фібронектину дає змогу зробити припущення, що ці параметри взаємозв'язані. Такі ж зміни було отримано при дослідженні сперми інфертильних чоловіків [15]. За даними, що отримані нами раніше в цих групах з використанням сіалоспецифічних лектинів, наявний позитивний зв'язок між MAA- та SNA-зв'язуючою активністю АГП і фібронектину в нормі (r=0,61) та у групах хворих на ХЛЛ на різних етапах лікування (r=0,65, r=0,63 та r=0,63 відповідно) [2]. Отже, за нашими даними, між мікрогетерогенністю плазмових форм АГП та фібронектину за умов хронічного лімфолейкозу наявний кореляційний взаємозв'язок.

Зміни в розподілі глікоформ білків є наслідком порушення активності або експресії глікозилтрансфераз, у тому числі фукозилтрансфераз. Саме тканинно-специфічне регулювання цих ензимів забезпечує структурну різноманітність, локалізацію, період напівжиття та біологічну активність глікопротеїнів [24]. Рівень α1,2-фукозилювання гліканів забезпечує родина α1,2-фукозилтрансфераз, що транспортує ГДФ-L-фукозу до апарату Гольджі та за участю якого фукоза з активного донора переноситься до вуглеводного ланцюга, приєднуючись до галактози та/або N-ацетилглюкозаміну [17]. Можливо, саме зміни експресії чи активності даного виду глікозилтрансфераз є причиною таких загальних змін обох білків, а хіміотерапевтичне втручання корегує ці показники. Так, за даними Shin Yazawa [26], пухлинні клітини стають більш сприятливими до лікування 5-флуорисцилом унаслідок пригнічення експресії фукозилтрансфераз.

Оскільки точна вуглеводна специфічність LABA є досі невивченою, а за нашими даними цей лектин взаємодіє з вуглеводними детермінантами фібронектину й АГП як у нормі, так і при онкопроліферативних захворюваннях, ми припускаємо, що цей лектин може бути поліспецифічним і має спорідненість не тільки до специфічних патологічних глікотопів у структурі гліканів досліджуваних білків, що з'являються при розвитку ХЛЛ, а і до N-гліканів, які характерні для АГП і ФН плазми здорової людини. Важливим результатом використання LABA в лектин-ферментному аналізі є достовірне кореляційно зв'язане зниження ступеня взаємодії LABA до контрольних значень під впливом ЦОП-терапії, що може дати змогу після відповідної статистичної обробки клініко-гематологічних параметрів хворих на ХЛЛ пропонувати використання цього лектину як показника ефективності використання даного типу лікування.

Кількість глікоформ ФН із LCA-зв'язуючою активністю була нижчою за контрольні значення у плазмі хворих на ХЛЛ і в першу добу після проведення ЦОП-терапії та значно зростала через два місяці після проведення лікування. За нашими даними [1], ступінь зв'язування з лектином ConA ФН плазми у хворих на ХЛЛ знижувався порівняно з нормою на 48,0±3,5%. У плазмі хворих на ХЛЛ у першу добу після проведення хіміотерапії визначали підвищення на 26,0±2,2% кількості глікоформ фібронектину із біантенними *N*-гліканами, а через два місяці після проходження ЦОП-терапії спостерігали такий розподіл глікоформ ФН, що не відрізнявся від отриманого у плазмі гематологічно здорових донорів. Отже, після проходження лікування визначали різноспрямовані зміни ConA та LCA-зв'язуючої активності ФН, що свідчать про зміни саме α1,6-фукозилювання фібронектину. Відомо, що за умов розвитку пухлин молекула фібронектину може змінювати свою кон-

формацію та функції. За даними A. M. Wan [27], саме зміни конформації фібронектину (неповний фолдинг молекули) зменшують його адгезію до інтегринових рецепторів. Отже, глікани ФН унаслідок таких змін можуть бути більш доступними до дії плазмових α-L-фукозидаз, активність і експресія яких зазнають змін за онкопроліферації. В експериментах із використанням гомогенатів ендометрію пухлин показано підвищення активності не тільки α1,2-фукозилтрансфераз, але й α-L-фукозидаз і рівня вільної фукози. Це свідчить, що глікокон'югати за умов розвитку пухлин зазнають як первинних, так і вторинних змін фукозилювання [28].

Отже, у плазмі хворих на хронічний лімфолейкоз змінюється перерозподіл глікоформ АГП та фібронектину за рівнем LCA- та LABA-зв'язування, хіміотерапевтичне лікування має вплив на ці показники. Кількість глікоформ ФН LCA-зв'язуючим глікотопом була нижчою за контрольні значення у плазмі хворих на ХЛЛ і в першу добу після проведення лікування та значно зростала через два місяці після проведення ЦОП-терапії. LCA- зв'язування АГП зростав у хворих на ХЛЛ і не змінювався у першу добу та через два місяці після проведення ЦОП-терапії, що свідчить про відсутність її впливу на α1,6-фукозильований глікотоп АГП. Лектин-зв'язуючий аналіз із використанням LABA показав кореляційно зв'язане підвищення ступеня взаємодії цього лектину з АГП та фібронектину плазми хворих на ХЛЛ, яке достовірно знижувалося після проведення лікування, що може бути використане для оцінки результатів терапії у пацієнтів із цими захворюваннями.

Оскільки дослідження, що проводяться останнім часом у напрямі розробки більш ефективних і менш токсичних способів лікування онкохворих, пов'язані з корегуванням процесів глікозилювання білків (використання інгібіторів фукозилтрансфераз, фукозозв'язаних наночастинок), отримані дані можуть бути корисними для більш глибокого розуміння процесів, що відбуваються під дією обраного лікування.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Маслак А. С.* Степень разветвленности N-гликанов белков плазмы у пациентов с хроническим лимфолейкозом на разных стадиях лечения // Журнал Гродненск. гос. мед. ун-та. 2013. № 44. С. 97– 100.
2. *Маслак Г., Костюк О., Кулініч А., Машейко І.* Ступінь сіальованості та галактозильованості глікопротеїнів плазми крові за умов алкілуючої поліхіміотерапії хворих на хронічний лімфолейкоз // Біологічні студії. 2013. Т. 7. № 2. С. 37–46.
3. *Маслак Г. С., Паша Н. С., Костюк О. В.* та ін. Вплив протипухлинних препаратів на вміст глікопротеїнів плазми у хворих на хронічний лімфоїдний лейкоз // Одес. мед. журнал. 2013. № 5. С. 51–54.
4. *Машейко І., Бразалук О.* Діагностична цінність визначення концентрації та фукозилювання альфа-1-кислого глікопротеїну при хронічних мієлолейкозах // Медичні перспективи. 2010. Т. 15. № 3. С. 17–21.
5. *Кулініч А., Шевцова А., Письменецька І.* та ін. Зміна гепарин- і лектин-зв'язуючої активності фібронектину при проліферативних захворюваннях крові // Біологічні студії. 2010. Т. 4. № 2. С. 5–14.
6. *Луцик М. Д., Детюк Е. С., Луцик Н. Д.* Лектины в гистохимии / под ред. Е. Н. Панасюка. Львов: Вища школа, 1989. 144 с.
7. Пат. на корисну модель № 54113 Україна, МПК A61B 5/145. Спосіб визначення ступеня фукозилювання фібронектину / Кулініч А. О., Шевцова А. І., Письменецька І. Ю., Маслак Г. С. (Україна); Дніпропетровська державна медична академія. – заявл. 05.05.2010; опубл. 25.10.2010, Бюл. №20.

8. Пат. №53176 Україна, МПК7(2009) A61B 5/145. Спосіб визначення ступеня сіалованості альфа-1-кислого глікопротеїну / Стєклєньова Н.І., Шевцова А.І., Бразалук О.З., Машейко І.В. (Україна); Дніпропетровська державна медична академія. – заявл. 02.04.2010; опубл. 27.09.2010, Бюл. №18.
9. *Comunale M., Lowman M., Long R.* Proteomic analysis of serum associated fucosylated glycoproteins in the development of primary hepatocellular carcinoma // J. Proteome Res. 2006. Vol. 5. N 2. P. 308–315.
10. *Dijk W., Havenaar E.C., Brinkman L.* α1-acid glycoprotein (orosomucoid): pathophysiological changes in glycosylation in relation to its function // Glycoconj J. 1995. N 12. P. 227–233.
11. *Fournier T., Medjoubi N., Porquet D.* Alpha-1-acid glycoprotein // Biochim. et Biophys. Acta. 2000. N 1482. P. 157–171.
12. *Graaf T. W., Van der Stelt M. E., Anbergen M. G., van Dijk W.* Inflammation-induced expression of Sialyl Lewis X-containing glycan structures on α1-acid glycoprotein (orosomucoid) in human sera // J. Exp. Med. 1993. Vol. 177. P. 657–666.
13. *Hashimoto T., Asao S., Takahashi T.* α1-acid glycoprotein fucosylation as a marker of carcinoma progression and prognosis // Cancer. 2004. Vol. 101. N 282. P. 528–536.
14. *Hochepied T., Berger F., Baumann H., Libert C*. Alpha(1)-acid glycoprotein: an acute phase protein with inflammatory and immunomodulating properties // Cytokin Growth Factor Rev. 2003. Vol. 14. N 1. P. 25–34.
15. *Kratz E., Faundez R., Katnik-Prastowska I.* Fucose and sialic acid expressions in human seminal fibronectin and α_1-acid glycoprotein associated with leukocytospermia of infertile men // Disease Markers. 2011. N 31. P. 317–325.
16. *Miyoshi E., Moriwaki K., Terao N.* et al Fucosylation Is a Promising Target for Cancer Diagnosis and Therapy // Biomol. 2012. N 3. P. 34–45.
17. *Orczyk-Pawiłowicz M.* The role of fucosylation of glyconjugates in health and disease // Postepy Hig Med Dosw. 2007. N 61. P. 240–252.
18. *Pankov R., Yamada K.* Fibronectin at a glance // J. Cell Sci. 2002. N 115. P. 3861–3863.
19. *Papasergi S., Garibaldi M., Tuscano G.* et al Plasminogen and fibronectin-binding protein B is involved in the adherence of Streptococcus pneumoniae to human epithelial cells // J. Biol. Chem. 2010. Vol. 285. N 10. P. 7517–7524.
20. *Przybysz M., Maszczak D., Borysewicz K.* et al Relative sialylation and fucosylation of synovial and plasma fibronectins in relation to the progression and activity of rheumatoid arthritis // Glycoconj J. 2007. Vol. 24. N 9. P. 543–550.
21. *Smith K., Pollacchi A., Field M., Watson J.* The heterogeneity of the glycosylation of alpha-1-acid glycoprotein between the sera and synovial fluid in rheumatoid arthritis // Biomed. Chromatogr. 2002. Vol. 16. N 4. P. 261–266.
22. *Jorgensen H., Elliott M., Priest R., Smith K.* Modulation of sialyl Lewis X dependent binding to E-Selectin by glycoforms of alpha-1-acid glycoprotein expressed in rheumatoid arthritis // Biomed. Chromatogr. Vol. 12. N 6. P. 343–349.
23. *Tajiri M., Yoshida S., Wada Y.* Differential analysis of site-specific glycans on plasma and cellular fibronectins: application of a hydrophilic affinity method for glycopeptide enrichment // Glycobiol. 2005. Vol. 15. N 12. P. 1332–1340.
24. *Yuan K.* Effects of defucosylation on human breast cancer cells: the requirements for the degree of Doctor of Philosophy. Birmingham Alabam, 2007. 243 p.
25. *Yan Li., Sheng-Ce T., Steven B. G.* et al. Detection and verification of glycosylation patterns of glycoproteins from clinical specimens using lectin microarrays and lectin-based immunosorbent assays // Anal. Chem. 2011. Vol. 83. N 22. P. 8509–8516.

26. *Yazawa S., Nishimura T., Munenori I.* Tumor-related expression of α1,2fucosylated antigens on colorectal carcinoma cells and its suppression by cell-mediated priming using sugar acceptors for α1,2fucosyltransferase // Glycobiol. 2002. Vol. 12. N 9. P. 545–553.
27. *Wan A. M., Chandler E. M., Madhavan M.* et al Fibronectin conformation regulates the pro-angiogenic capability of tumor-associated adipogenic stromal cells // Biochim. Biophys. Acta. 2013. Vol. 1830. N 9. P. 4314–4320.
28. *Wang J. W., Ambros R. A., Weber P. B.* et al. Fucosyltransferase and α-l-fucosidase activities and fucose levels in normal and malignant endometrial tissue // Cancer Res. 1995. Vol. 55. P. 3654–3658.

Стаття: надійшла до редакції 17.09.13

доопрацьована 12.02.14

прийнята до друку 17.03.14

CHANGE OF LEVEL OF LCA- AND LABA-BINDING OF α1-ACID GLYCOPROTEIN AND FIBRONECTIN UNDER THE INFLUENCE OF CYTOSTATICS CHEMOTHERAPY IN PATIENTS WITH CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA

G. Maslak

State Institution "Dnipropetrovsk Medical Academy"
9, Dzerjynskyi St., Dnipropetrovsk 49001, Ukraine
e-mail: maslak_anna@mail.ru

Level of LCA- and LABA-binding of fibronectin (FN) and α1-acid glycoprotein (AGP) in the plasma of patients with chronic lymphocytic leukemia (CLL) before treatment and at its different stages were studied by lectin-enzyme analysis. The numbers of fibronectin LCA-binding glycoforms in the plasma of patients with CLL and the first day after treatment were lower than the control, and were significantly increased after two months of cytostatic therapy. The degree of AGP LCA-binding was increased in CLL patients and did not change during treatment, indicating a lack of effect of cytostatic therapy on the AGP α1,6-fucose glycotope. Values of plasma fibronectin and AGP LABA-binding in patients with CLL were related and the correlation was significantly decreased after treatment, and can be used to assess the results of therapy in such patients.

Keywords: fibronectin, α1-acid glycoprotein, fucosylation, chronic lymphocytic leukemia, cytostatic therapy.

ISSN 0206-5657. Вісник Львівського університету. Серія біологічна. 2014. Випуск 65

ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ LCA- И LABA-СВЯЗЫВАНИЯ α1-КИСЛОГО ГЛИКОПРОТЕИНА И ФИБРОНЕКТИНА ПОД ДЕЙСТВИЕМ ХИМИОТЕРАПИИ ЦИТОСТАТИКАМИ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ЛИМФОЛЕЙКОЗОМ

А. Маслак

ГУ «Днепропетровская медицинская академия МОЗ Украины»
ул. Дзерджинского, 9, Днепропетровск 49001, Украина
e-mail: maslak_anna@mail.ru

Исследование изменения уровня LCA- и LABA-связывания фибронектина (ФН) и α1-кислого гликопротеина (АГП) в плазме больных хроническим лимфолейкозом (ХЛЛ) до лечения и на разных его этапах было проведено с помощью лектин-ферментного анализа. Количество LCA-связанных гликоформ ФН было ниже контрольных значений в плазме больных ХЛЛ и в первые сутки после проведения лечения и значительно возрастало через два месяца после проведения терапии цитостатиками. Степень LCA-связывания АГП возрастала у больных ХЛЛ и не менялась в течение лечения, что свидетельствует об отсутствии влияния терапии цитостатиками на α1,6-фукозилированный гликотоп АГП. Показатели уровня LABA-связывания АГП и ФН плазмы больных ХЛЛ были корреляционно связаны и достоверно снижались после проведения лечения. Они могут быть использованы для оценки результатов терапии у пациентов с ХЛЛ.

Ключевые слова: фибронектин, α1-кислый гликопротеин, фукозилированность, хронический лимфолейкоз, терапия цитостатиками.