

ДИНАМІКА ЗМІН РІВНЯ ПЛАЗМОВОГО ТА АСОЦІЙОВАНОГО ІЗ ПОВЕРХНЕЮ КЛІТИН КРОВІ ГОСТРОФАЗОВОГО альфа-1-кислого ГЛІКОПРОТЕЇНУ ЗА КОМБІНОВАНОЇ ХІМІОТЕРАПІЇ ХРОНІЧНОГО ЛІМФОЇДНОГО ЛЕЙКОЗУ

ДЗ «Дніпропетровська медична академія» (м. Дніпропетровськ)

***КЗ «Дніпропетровська міська багатопрофільна клінічна лікарня №4» ДОР
(м. Дніпропетровськ)**

Дослідження виконані у рамках науково-дослідної роботи кафедри біологічної, медичної та фармацевтичної хімії Державного закладу «Дніпропетровська державна медична академія» за темою «Експресія глікокон'югатів та їх посттрансляційна модифікація за умов онкотрансформації», Не державної реєстрації 0111U002788, 2011-2013 рр.

Вступ. Хронічний лімфолейкоз (ХЛЛ) – злоякісна моноклональна проліферація зрілих В-лімфоцитів з імунотипом CD5+, CD23+, CD19+, для якої характерно первинне ураження кісткового мозку й периферичної крові [11]. ХЛЛ зустрічається із частотою 3-10 випадків на 100 тис. населення і є найпоширенішим типом лейкозу серед дорослого населення у світі (близько 30% серед лейкозів) [2]. Хоча ХЛЛ традиційно відносять до патології старшої вікової групи, випадки захворювання в людей середнього віку не рідкі (близько 11% молодше за 55 років). Медіана віку пацієнтів за даними реєстру SEER (США) – 72 роки [20].

На етапі клінічної маніфестації хронічний лімфолейкоз є системним захворюванням, тому проведення тільки місцевого лікування (операція, променева терапія), є недостатнім і його необхідно доповнювати системною терапією [14]. В цьому плані найбільш перспективним є застосування комбінованої поліхіміотерапії (КПХТ). У відмінності від монохіміотерапії призначення двох і більше препаратів, що мають різний механізм дії, дозволяє збільшити відсоток повних ремісій до 15-60% [5], в залежності від стадії хвороби, за меншої токсичності [10]. Це пов'язане з різною чутливістю пухлинних клітин до застосовуваних цитостатиків [15]. В Україні найбільш поширені комбіновані лікувальні схеми, що включають поєднання циклофосфаміду з вінкристином та преднізолоном (СОР), циклофосфаміду, доксорубіцину, вінкристину (СНОР) та преднізолону (СНОР), флударабіну з циклофосфамідом (FC) які

мають різну ефективність, залежно від стадії хвороби [21, 26].

В сучасній онкогематології основним методом для оцінки відповіді на хіміотерапію є дані про нормалізацію клітинного складу периферичної крові й кістковому мозку (нормоклітинність, кількість лімфоцитів <30% відносно загальної кількості клітин крові з ядрами, відсутність нодулярної проліферації), оцінювані методами проточної цитометрії [25]. Даний метод надає можливість об'єктивно оцінити співвідношення клітинних популяцій у периферичній крові [9] та порівняти різні лінії комбінованої поліхіміотерапії за токсичністю та ефективністю впливу на пухлинні клони [16]. Крім того, методи проточної цитометрії дозволяють отримати інформацію про молекулярно-біологічні та імунологічні процеси за участю гострофазових білків, що відбуваються під час лікування.

Метою даного дослідження стала оцінка динаміки зміни концентрації альфа-1-кислого глікопротеїну (АГП) у плазмі та інтенсивності флуоресценції АГП-позитивних клітин крові хворих на ХЛЛ до лікування та на різних етапах після цитостатичної терапії за схемою комбінації циклофосфаміду з вінкристином та преднізолоном (ЦОП-терапія).

Об'єкт і методи дослідження. Матеріалом дослідження слугувала плазма крові хворих на ХЛЛ у віці 58-66 років в II-III стадії, згідно із класифікацією К. R. Rai [24]. Пацієнти до лікування склали групу I (n=25), далі призначали курс комплексної поліхіміотерапії за програмою СОР (ЦОП, поєднання циклофосфаміду з вінкристином та преднізолоном), яка є «золотим стандартом» серед протоколів первинної терапії хронічних лімфолейкозів (Наказ МОЗ України №647 від 30. 07. 2010р «Про затвердження клінічних протоколів надання медичної допомоги хворим зі спеціальності «Гематологія» із доповненнями згідно з Наказом МОЗ України №72 від 30.01.2013р») і широко застосовується у профільних

Таблиця

Концентрація α_1 -кислого глікопротеїну (г/л) плазми крові гематологічно здорових донорів та хворих на ХЛЛ

Група	n	Рівень АГП, г/л
Контрольна	20	0,713±0,042
Група хворих на ХЛЛ (до лікування)	25	1,026±0,067*
Група хворих на ХЛЛ (перша доба з початку проведення курсу стандартної поліхіміотерапії за схемою ЦОП)	25	0,426±0,041**
Група хворих на ХЛЛ (через два місяці після проведення першого курсу стандартної хіміотерапії за схемою ЦОП)	25	0,572±0,054*

Примітка: *-p<0,05; **-p<0,01 – достовірна різниця у порівнянні з показниками контрольної групи.

онкогематологічних відділеннях [1, 3]. Наступний відбір крові проводили після першої доби від початку лікування та через два місяці після проведення першого курсу стандартної хіміотерапії за схемою ЦОП – II та III група, відповідно. Групу контролю склали гематологічно здорові волонтери (n=20) у віці від 55 до 65 років. Всі пацієнти проходили лікування у спеціалізованому відділенні онкогематологічного центру КЗ міської багатопрофільної клінічної лікарні №4 ДОР м. Дніпропетровська (2011-2013рр.). 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. Відбір біологічного матеріалу виконувався згідно принципів біоетики та медичної деонтології. Всі обстежувані в письмовому вигляді давали згоду на участь у дослідженні.

Концентрацію АГП у плазмі визначали методом імунодот з використанням поліклональних кролячих антитіл до АГП. Отримані результати обчислювали за допомогою програми GelProAnalyser 0.32.

Зміну інтенсивності флуоресценції АГП-позитивних клітин встановлювали методом проточної цитометрії з використанням поліклональних антитіл до АГП (Life Span Biosciences, USA) та вторинних антитіл кролика, мічених фікоеритрином (Santa Cruz, USA). Кількість загиблих 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.

Статистична обробка даних виконана за допомогою пакета програм Statistics6. 0. Достовірність відмінностей в досліджуваних групах встановлювали за t-критерієм Стьюдента.

Результати досліджень та їх обговорення.

Концентрація АГП плазми крові у групі хворих на ХЛЛ до лікування достовірно (p<0,05) вище за норму (табл.). У попередніх дослідженнях нами було встановлено, що при еритремії цей показник в плазмі крові знижується на 32,3±0,6% [7], а при гострих лейкозах зростає майже вдвічі [6], що свідчить про

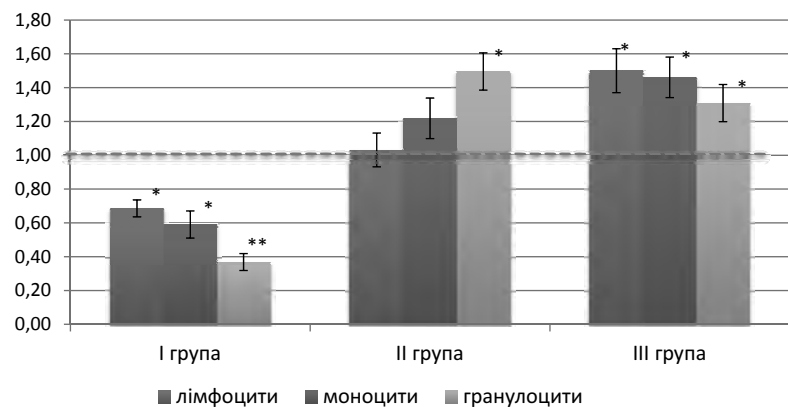


Рис. Зміна інтенсивності флуоресценції (у %) АГП-позитивних клітин крові за умов хронічного лімфолейкозу (флуоресцентна мітка – фікоеритрин).

Примітка: норма – штрихована лінія; досліджувані групи: 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; *-p<0,05; **-p<0,01 – достовірна різниця у порівнянні з показниками контрольної групи.

залежність концентрації АГП у плазмі крові від типу патологічного процесу.

Порівняння концентрації АГП у крові хворих на ХЛЛ під час лікування показало, що з першої доби від початку проведення курсу стандартної поліхіміотерапії за схемою ЦОП відбувається різке зниження вмісту АГП (більше ніж у 2 рази) (табл.). Цей ефект можна пояснити тим, що алкілююча терапія досить агресивна до проліферуючих клітин. Внаслідок введення токсичних препаратів мобілізуються захисні механізми організму. АГП у даному випадку виконує дезінтоксикаційну функцію, зв'язуючи та елімінуючи ксенобіотики. Інша частина АГП переходить з вільної фракції і зв'язується з поверхнею імунокомпетентних клітин, забезпечуючи їх захист.

Однак, через два місяці після проведення першого курсу хіміотерапії рівень АГП залишається значно нижчим за норму (табл.). З одного боку це є наслідком загибелі швидкопроліферуючих популяцій клітин, що здатні синтезувати АГП. З іншого – це результат токсичного впливу протипухлинних

препаратів на гепатоцити [4], що призводить до зниження їх дезінтоксикаційної функції та синтетичної активності.

Для більш детального аналізу зміни перерозподілу вільної та зв'язаної фракції АГП плазми крові ми провели аналіз отриманих зразків методом проточної цитометрії. В ході дослідження нами було показано динаміку змін інтенсивності експонування АГП на поверхні клітин крові. У групі хворих на хронічний лімфолейкоз до лікування інтенсивність експонування АГП на поверхні лімфоцитів, моноцитів та гранулоцитів була достовірно нижче у порівнянні із нормою: на $31,1 \pm 2,0\%$ ($p < 0,05$), на $41,0 \pm 1,8\%$ ($p < 0,05$) і на $62,8 \pm 2,1\%$ ($p < 0,01$), відповідно (рис.). Слід відзначити майже однакову тенденцію до зростання кількості АГП-позитивних клітин під час лікування цитостатиками. Вже на першій добі від початку курсу хіміотерапії за схемою ЦОП спостерігалось підвищення інтенсивності флуоресценції АГП-позитивних клітин в порівнянні із групою I. Так, це значення досягало меж норми для лімфоцитів та моноцитів та достовірно підвищувалось на 50% ($p < 0,05$) в порівнянні з контрольною групою у випадку гранулоцитів. Аналогічні дослідження популяцій клітин крові у хворих через 2 місяці після проведення першого курсу ЦОП-терапії виявили, що інтенсивність експонування АГП зростала як в порівнянні з групою II так і з групою контролю. Так, достовірне ($p < 0,05$) підвищення інтенсивності експонування АГП на $50,1 \pm 5,0\%$ у лімфоцитів, на $46,3 \pm 5,3\%$ у моноцитів та на $32,1 \pm 3,0\%$ у гранулоцитів в порівнянні з нормою (рис.) спостерігалось у III групі.

Отримані дані показують, що під час лікування онкогематологічних хворих відбувається зниження плазмового рівню АГП та підвищення його експонування на всіх клітинах крові. Особливо слід відзначити, що першими на цитостатичну терапію відповідають гранулоцити, кількість АГП на яких зростає в першу добу лікування хворих на ХЛЛ. З літературних джерел відомо, що АГП міститься у вторинних гранулах нейтрофілів, синтез високоглікозильованої форми якого підвищується під час запальних процесів [27], з іншого боку цей глікопротеїн потенціє продукування активних форм кисню у пептид-активованих нейтрофілів хемотаксису та пригнічує цей процес після фагоцитозу [18]. Можливо, що завдяки активації процесів фагоцитозу під впливом протипухлинної терапії, першим підвищується рівень експонування АГП на цих клітинах. Не менш показною була динаміка зміни кількості АГП-позитивних клітин серед популяції лімфоцитів – у перший же день, після призначення курсу хіміотерапії цей показник нормалізувався. А через два місяці кількість АГП-позитивних лімфоцитів стабілізувалась на рівні $150,1 \pm 5,0\%$ ($p < 0,05$). Лімфоцити – єдині клітини крові, здатні до модифікування власного проліферативного статусу [13]. І, як проліферуюча популяція клітин крові, відповідають на дію протипухлинних препаратів підвищенням кількості рибосомних генів [12]. Щодо ролі АГП у захисті лімфоцитів від дії токсинів та механізмах модифікування

їх проліферативного статусу питання залишається відкритим і вимагає подальших досліджень.

Висновки.

1. Встановлено підвищення концентрації АГП плазми крові у групі хворих на ХЛЛ та значне зниження (майже в 2,5 рази) цього показнику в першу добу та через два місяці від початку проведення курсу ЦОП-терапії.

2. У хворих на ХЛЛ, в порівнянні із контрольною групою, показано зниження інтенсивності експонування альфа-1-кислого глікопротеїну на поверхні лімфоцитів (на $31,1 \pm 2,0\%$, $p < 0,05$), моноцитів (на $41,0 \pm 1,8\%$, $p < 0,05$) та гранулоцитів (на $62,8 \pm 2,1\%$, $p < 0,01$).

3. Під час лікування хворих на ХЛЛ за протоколом ЦОП-терапії відмічено загальну тенденцію до підвищення експонування АГП на всіх клітинах крові.

Перспективи подальших досліджень. Альфа-1-кислий глікопротеїн присутній на поверхні майже усіх клітин імунної системи: лімфоцитів, тромбоцитів, нейтрофілів та мононуклеарних клітин. Він має різноспрямований вплив на ці клітини, який залежить не тільки від концентрації, але й від стану його вуглеводного компоненту [19]. Так, за попередніми даними, отриманими в нашій лабораторії, за умов ХЛЛ змінюється співвідношення плазмових глікоформ АГП за розгалуженністю гліканів, а саме спостерігається зниження вмісту біантенних вуглеводних гілок в його складі. Цей показник нормалізується після призначення цитостатиків [8]. Відомо, що такі глікоформи є специфічними інгібіторами анти-CD3-стимульованої проліферації лімфоцитів, з іншого боку – низькі концентрації АГП-А можуть стимулювати проліферацію мононуклеарних клітин, а саме моноцитів, Т- та В-лімфоцитів [23]. Існує думка, що саме неспецифічна імуносупресивна активність плазмової форми АГП є основною проблемою у онкохворих, оскільки ослаблений імунний захист сприяє більшій вразливості до дії інфекційних факторів [19]. Таким чином, підвищення рівню АГП зі зниженим вмістом біантенних N-гліканів та імуносупресивною активністю є поганим прогностичним критерієм за умов ХЛЛ.

Слід зауважити, що АГП не тільки безпосередньо взаємодіє із ліками [19], але й приймає опосередковану участь у відповіді організму на введення лікарських засобів. Наприклад, в експериментах *in vivo* італійськими дослідниками показано його значну роль в резистентності пухлинної лінії клітин BCR-ABL⁺ до введення ліків, що є інгібіторами процесів диференціювання та проліферації лейкоцидних клітин [17]. Дослідження взаємозв'язку впливу цитостатичних препаратів та рівню АГП проводились у хворих на ревматоїдний артрит. Так, зниження концентрації плазмової форми цього білку корелювало із позитивним прогнозом лікування таких хворих [19]. Щодо лікування лейкозів цитостатиками та ролі АГП в цих процесах, добре вивченими є взаємозв'язок між функціональною активністю імунитибу та рівнем АГП. Так, підвищення рівню АГП у хворих на хронічний мієлолейкоз асоціювалося із

зниженням ефективності цього препарату [22]. Ми передбачаємо, що саме такі закономірності мають місце у випадку хворих на ХЛЛ, що підлягали поліхіміотерапії за схемою ЦОП. Перспективою подальших досліджень є поглиблене вивчення механізмів дії компонентів протипухлинної терапії з урахуванням індивідуальних особливостей хворих: віку, ваги,

стану організму, а саме систем виведення та знешкодження лікарських засобів одночасно з іншими білками, що є активними учасниками імунної відповіді на введення цитостатиків. Отримані результати допоможуть більш детально описати вплив цього виду лікування на організм хворого за умов хронічного лімфолейкозу.

Література

1. Біловол О. М. Сучасна тактика лікування хронічних лейкозів / О. М. Біловол, І. І. Князькова // *Внутрішня медицина*. – 2008. – №3. – С. 37-44.
2. Жевак Т. Н. Хронический лимфолейкоз: современные концепции этиологии, патогенеза и особенностей клинического течения (обзор) / Т. Н. Жевак, Н. П. Чеснокова, Т. В. Шелехова // *Саратовский научно-медицинский журнал*. – 2011. – Т. 7, №2. – С. 377-385.
3. Крячок И. А. Современные подходы к терапии первой линии и последние мировые тенденции в лечении диффузной В-крупноклеточной лимфомы / И. А. Крячок, А. В. Мартынич, Е. С. Филоненко [и др.] // *Клиническая онкология*. – 2011. – №3 (3). – С. 76-80.
4. Курмуков И. А. Лекарственное поражение печени при лечении онкогематологических заболеваний / И. А. Курмуков // *Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика*. – 2010. – Т. 3, №1. – С. 60-67.
5. Маслак Г. С. Вплив протипухлинних препаратів на вміст глікопротеїнів плазми у хворих на хронічний лімфоїдний лейкоз / Г. С. Маслак, Н. С. Паша, О. В. Костюк, О. З. Бразалук, П. Ю. Каплан // *Одеський медичний журнал*. – 2013. – №5 (139). – С. 51-54.
6. Маслак Г. С. Експонування фібронектину та альфа-1 кислого глікопротеїну на поверхні лейкоцитів крові у хворих на гострий лейкоз / Г. С. Маслак, О. В. Костюк, А. О. Кулініч [та ін.] // *Медична хімія*. – 2011. – Т. 13; №4(49). – С. 42-44.
7. Маслак Г. С. Перерозподіл популяцій лейкоцитів за експресією фібронектину та альфа-1-кислого глікопротеїну при еритремії / Г. С. Маслак, І. В. Машейко, А. О. Кулініч [та ін.] // *Одеський медичний журнал*. – 2010. – Т. XXI; №6. – С. 4-5.
8. Маслак А. С. Степень разветвленности N-гликанов белков плазмы у больных хроническим лимфолейкозом / А. С. Маслак // *Журнал Гродненского государственного медицинского университета*. – 2013. – №4 (44). – С. 97-100.
9. Новицкий А. В. Протоочная цитометрия в дифференциальной диагностике хронических В-клеточных лимфолифферативных заболеваний / А. В. Новицкий, В. Ю. Никитин, И. А. Сухина, В. В. Тыренко, А. М. Иванов // *Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И. И. Мечникова*. – 2011. – Т. 3. – №2. – С. 149-165.
10. Семочкин С. В. Бендамустин: новый взгляд на терапию хронического лимфолейкоза и индолентных лимфом / С. В. Семочкин // *Онкогематология*. – 2011. – № Спец. вып. – С. 92-98.
11. Стадник Е. А. Хронический лимфолейкоз. Рекомендации по диагностике и лечению / Е. А. Стадник, В. В. Стругов, Ю. В. Вирц, А. Ю. Зарицкий // *Бюллетень Федерального Центра сердца, крови и эндокринологии им. В. А. Алмазова*. – 2012. – №6 (17). – С. 5-15.
12. Трубникова Е. В. Влияние химиотерапии на показатели транскрипционной активности рибосомных генов у больных со злокачественными лимфомами / Е. В. Трубникова, В. П. Иванов, Н. В. Стабровская [и др.] // *Архив внутренней медицины*. – 2012. – №(3). – С. 68-72.
13. Трубникова Е. В. Функциональная активность рибосомных генов у жителей Курской области и вклад полиморфизмов генов факторов их транскрипции и генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков в её формирование: автореф. дис. на соискание ученой степени доктора биол. наук: 03. 07. 02 / Трубникова Е. В.; Российский университет дружбы народов. – Москва, 2012. – 44 с.
14. Фиясь А. Т. Хронический лимфолейкоз диагностика и лечение / А. Т. Фиясь, Б. И. Френкель // *Журнал Гродненского государственного медицинского университета*. – 2011. – №4(36). – С. 93-97.
15. Eichhorst B. Treatment of elderly patients with chronic lymphocytic leukemia / B. Eichhorst, V. Goede, M. Hallek [et al.] // *Leuk Lymphoma*. – 2009. – Vol. 50, №2. – P. 171-178.
16. Flinn I. W. Phase III trial of fludarabine plus cyclophosphamide compared with fludarabine for patients with previously untreated chronic lymphocytic leukemia: US intergroup trial E2997 / I. W. Flinn, D. S., Neuberg M. R. Grever [et al.] // *Journal of Clinical Oncology*. – 2007. – Vol. 25, №7. – P. 793-798.
17. Gambacorti-Passerini C. Role of $\alpha 1$ Acid Glycoprotein in the In Vivo Resistance of Human BCR-ABL⁺ Leukemic Cells to the Abl Inhibitor STI571 / C. Gambacorti-Passerini, R. Barni, P. Coutre [et al.] // *JNCI J. Natl. Cancer Inst.* – 2000. – Vol. 92, №20. – P. 1641-1650.
18. Gunnarsson P. Sialic acid residues play a pivotal role in alpha(1)-acid glycoprotein (AGP)-induced generation of reactive oxygen species in chemotactic peptide pre-activated neutrophil granulocytes / P. Gunnarsson, L. Fornander, P. Pehlsson [et al.] // *Inflamm. Res.* – 2010. – Vol. 59, №2. – P. 89-95.
19. Hochepped T. Alpha(1)-acid glycoprotein: an acute phase protein with inflammatory and immunomodulating properties / T. Hochepped, F. G. Berger, H. Baumann [et al.] // *Cytokine Growth Factor Rev.* – 2003. – Vol. 14, №1. – P. 25-34.
20. Howlader N. SEER Cancer Statistics Review / N. Howlader, A. M. Noone, M. Krapcho [et al.] // *National Cancer Institute*. – Bethesda, 2009. – 246 p.
21. 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 [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2005. – Vol. 23, №18. – P. 4079-4088.
22. Le Coutre P. Determination of $\alpha 1$ -acid glycoprotein in patients with Ph⁺ chronic myeloid leukemia during the first 13 weeks of therapy with STI571 / P. Le Coutre, K. A. Kreuzer [et al.] // *Blood Cells Mol Dis.* – 2002. – №28. – P. 75-85.

23. Pos O. Con A-nonreactive human alpha-1-acid glycoprotein (AGP) is more effective in modulation of lymphocyte proliferation than Con A-reactive AGP serum variants / O. Pos, R. A. Oostendorp, M. E. van der Stelt [et al.] // *Inflammation*. – 1990. – Vol. 14, № 2. – P. 133-141.
24. Rai K. R. A critical analysis of staging in CLL. Chronic Lymphocytic Leukemia: recent progress and future directions / K. R. Rai, R. P. Gale [et al.] // Alan R. Liss Inc., New York, 1987. – P. 253-264.
25. Rawstron A. C. International standardized approach for flow cytometric residual disease monitoring in chronic lymphocytic leukaemia / A. C. Rawstron, N. Villamor, M. Ritgen [et al.] // *Leukemia*. – 2007. – Vol. 21, № 5. – P. 956-964.
26. Ruta Rao 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/ Rao Ruta, M. Jamile, Sari Shammo [et al.] // *Clinical Lymphoma*. – 2005. – Vol. 6, № 1. – P. 26-30.
27. Theilgaard-Munch K. Highly glycosylated α_1 -acid glycoprotein is synthesized in myelocytes, stored in secondary granules, and released by activated neutrophils / K. Theilgaard-Munch, L. S. Jacobsen, T. Rasmussen [et al.] // *J. Leukoc. Biol.* – 2005. – Vol. 78, № 2. – P. 462-470.

УДК 577. 112. 85:616. 155. 3:502. 175:616. 155. 392-036. 1-08:615. 277

ДИНАМІКА ЗМІН РІВНЯ ПЛАЗМОВОГО ТА АСОЦІЙОВАНОГО ІЗ ПОВЕРХНЕЮ КЛІТИН КРОВІ ГО-СТРОФАЗОВОГО альфа-1-кислого ГЛІКОПРОТЕЇНУ ЗА КОМБІНОВАНОЇ ХІМІОТЕРАПІЇ ХРОНІЧНОГО ЛІМФОЇДНОГО ЛЕЙКОЗУ

Маслак Г. С., Машейко І. В., Паша Н. С., Каплан П. Ю., Бразалук О. З.

Резюме. В роботі вперше досліджено та проаналізовано динаміку змін рівня альфа-1-кислого глікопротеїну (АГП) плазми та інтенсивності флуоресценції АГП-позитивних клітин крові у хворих на хронічний лімфолейкоз (ХЛЛ), що отримували лікування за схемою комбінації циклофосфаміду з вінкристином та преднізолоном (ЦОП-терапія). Визначено підвищення концентрації АГП плазми крові у групі хворих на ХЛЛ та значне зниження (майже в 2,5 рази) цього показника в першу добу та через два місяці від початку проведення курсу ЦОП-терапії. За допомогою проточної цитометрії показано зниження інтенсивності експонування альфа-1-кислого глікопротеїну на поверхні лімфоцитів, моноцитів та гранулоцитів за умов хронічного лімфолейкозу в порівнянні із контрольною групою на: $31,1 \pm 2,0\%$ ($p < 0,05$), на $41,0 \pm 1,8\%$ ($p < 0,05$) і на $62,8 \pm 2,1\%$ ($p < 0,01$), відповідно. Зростання популяції АГП-позитивних клітин крові було встановлено під час лікування цитостатиками. Отримані дані можуть бути корисними для розуміння біохімічних процесів під час проведення лікування цитостатиками за участю АГП та оцінки ефективності цієї терапії у хворих на ХЛЛ.

Ключові слова: хронічний лімфоїдний лейкоз, альфа-1-кислий глікопротеїн, проточна цитометрія, ЦОП-терапія.

УДК 577. 112. 85:616. 155. 3:502. 175:616. 155. 392-036. 1-08:615. 277

ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЙ УРОВНЯ ПЛАЗМЕННОГО И АССОЦИИРОВАННОГО С ПОВЕРХНОСТЬЮ КЛЕТОК КРОВИ ОСТРОФАЗОВОГО альфа-1-кислого ГЛИКОПРОТЕИНА ПОД ДЕЙСТВИЕМ КОМБИНИРОВАННОЙ ХИМИОТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКОГО ЛИМФОИДНОГО ЛЕЙКОЗА

Маслак А. С., Машейко И. В., Паша Н. С., Каплан П. Ю., Бразалук А. З.

Резюме. В работе впервые проведено исследование и анализ динамики изменений уровня альфа-1-кислого гликопротеина (АГП) плазмы и интенсивности флуоресценции АГП-положительных клеток крови у больных хроническим лимфолейкозом (ХЛЛ), получавших лечение по схеме комбинации циклофосфамида с винкристином и преднизолоном (ЦОП-терапия). Показано повышение концентрации АГП плазмы крови в группе больных ХЛЛ и значительное снижение (почти в 2,5 раза) этого показателя в первые сутки и через два месяца после начала проведения курса ЦОП-терапии. С помощью проточной цитометрии показано снижение интенсивности экспонирования альфа-1-кислого гликопротеина на поверхности лимфоцитов, моноцитов и гранулоцитов в условиях хронического лимфолейкоза по сравнению с контрольной группой на: $31,1 \pm 2,0\%$ ($p < 0,05$), на $41,0 \pm 1,8\%$ ($p < 0,05$) и на $62,8 \pm 2,1\%$ ($p < 0,01$), соответственно. Рост популяции АГП-позитивных клеток крови под действием лечения цитостатиками был установлен в ходе эксперимента. Полученные данные могут быть полезны для понимания биохимических процессов во время проведения лечения цитостатиками с участием АГП и оценки эффективности этой терапии у больных ХЛЛ.

Ключевые слова: хронический лимфоидный лейкоз, альфа-1-кислый гликопротеин, проточная цитометрия, ЦОП-терапия.

UDC 577. 112. 85:616. 155. 3:502. 175:616. 155. 392-036. 1-08:615. 277

Dynamics of Level Changes of Plasma and Blood Cells Acute Phase Alpha-1-Acid Glycoprotein under the Influence of Polychemotherapy in Patients with Chronic Lymphocytic Leukemia

Maslak G. S., Masheyko I. V., Pasha N. S., Kaplan P. Y., Brazaluk O. Z.

Abstract. Introduction. Chronic lymphocytic leukemia (CLL), is the most common type of leukemia in adults. Treatment options for CLL vary greatly, depending on the person's age, the disease risk group, and the reason for treating (like the symptoms the leukemia is causing). Commonly used treatments for patients with high-risk CLL (stages II and III) include COP-therapy: cyclophosphamide, oncovin (vincristine), and prednisone. It is the most

effective and toxic type of treatment. Efficiency gains treatment is determined by the change in the number of abnormal cells. There is very little information about the effects of this type of treatment for acute phase proteins in the literature. While these proteins such as alpha-1-acid glycoprotein plays an important role in processes related to immune system reactions to the treatment.

Objective. To investigate and analyze of changes in the level of alpha-1-acid glycoprotein (AGP) and the fluorescence intensity of AGP-positive blood cells in patients with chronic lymphocytic leukemia patients treated with the combination of cyclophosphamide scheme with vincristine and prednisolone (COP-therapy).

Methods. Blood and plasma of hematological healthy volunteers (n=20) in age 55-65 years was used as control. Patients with CLL in stages II or III, accordingly K. R. Rai classification, (n=25, age 58-66) before treatment – group I. Group II and III composed CLL patients in the first day of the beginning of a course of standard COP-chemotherapy and in two months after the first course of COP-chemotherapy, respectively. AGP plasma level was determined by dot-analyses with AGP antibodies and analyzed by GelProAnalyser 0.32. AGP exponation on lymphocytes, monocytes and granulocytes was investigated by flow cytometer Beckman Coulter EPICS with primary AGP-antibodies (Life Span Biosciences, USA) and secondary phicoeritrin-labeled antibodies (Santa Cruz, USA). The number of dead cells was monitored by binding them with propidiumiodide. Result analyzed with FC Express. Statistical analysis was performed using the software package Statistics 6.0. Statistical significance of differences in study groups was established by the Student t-test.

Results. It was shown an increase of plasma AGP concentration in patients with CLL and a significant decreased (about 2.5 times) of this parameter on the first day and two months after the start of the course COP-therapy. Flow cytometry was revealed a decreased of alpha-1-acid glycoprotein exponation on the surface of lymphocytes, monocytes and granulocytes in chronic lymphocytic leukemia in comparison with the control group by: $31.1 \pm 2.0\%$ ($p < 0.05$) at $41.0 \pm 1.8\%$ ($p < 0.05$) and $62.8 \pm 2.1\%$ ($p < 0.01$), respectively. An increasing of AGP-positive blood cells by the action of cytostatic treatment in the experiment was shown.

Conclusions. Obtained data could be useful for the understanding of the biochemical processes during cytostatic treatment with participation of AGP and estimation of efficiency of this therapy in patients with CLL.

Key words: chronic lymphocytic leukemia, alpha-1-acid glycoprotein, flow cytometry, COP-therapy.

Рецензент – проф. Скрипник І. М.

Стаття надійшла 25. 03. 2014 р.