



УДК 616.155.392 - 036.1: 615.277: 577.112.85: 547.631.7: 547.454

## СТУПІНЬ СІАЛЬОВАНОСТІ Й ГАЛАКТОЗИЛЬОВАНОСТІ ГЛІКОПРОТЕЇНІВ ПЛАЗМИ КРОВІ ЗА УМОВ АЛКІЛЮЮЧОЇ ПОЛІХІМІОТЕРАПІЇ ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ЛІМФОЛЕЙКОЗ

*Г. С. Маслак, О. В. Костюк, А. О. Кулініч, І. В. Машейко*

*ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»  
вул. Дзержинського, 9, Дніпропетровськ 49044, Україна  
e-mail: maslak\_anna@mail.ru*

Досліджували ступінь сіальованості й галактозильованості  $\alpha_1$ -кислого глікопротеїну та фібронектину плазми крові у групі хворих на хронічний лімфолейкоз до проведення алкілюючої терапії та на її різних етапах. Лікування хворих на хронічний лімфолейкоз призначали згідно з поліхіміотерапевтичними схемами за програмою ЦОП (циклофосфамід, онковін, преднізолон). У роботі використовували метод лектин-ферментного аналізу зі сіалоспецифічними лектинами маакії амурської МАА-II, бузини чорної SNA та галактозоспецифічний лектин рицини звичайної RCA. Встановлено достовірне зниження як сіальованості, так і галактозильованості обох досліджуваних білків при хронічному лімфолейкозі та показано динаміку змін цих показників у першу добу лікування та через два місяці. Проведення алкілюючої терапії у хворих на хронічний лімфолейкоз впливає на ступінь галактозильованості й сіальованості обох глікопротеїнів. Виявлено появу галактози у складі N-гліканів  $\alpha_1$ -кислого глікопротеїну та фібронектину після проведення поліхіміотерапії. Отримані дані можуть бути корисні для більш глибокого розуміння механізмів мобілізації захисних реакцій організму при даній тактиці лікування.

**Ключові слова:** фібронектин,  $\alpha_1$ -кислий глікопротеїн, сіалові кислоти, галактоза, хронічний лімфолейкоз, ЦОП-терапія.

### ВСТУП

Посттрансляційна модифікація білків часто призводить до появи наприкінці вуглеводних ланцюгів N-ацетил-5-глікозамінових залишків, які називають загальним терміном – сіалові кислоти (СК), а глікопротеїни, що їх включають, – сіальованими [1]. Одним із розповсюджених варіантів кінцевих послідовностей N-гліканів є наявність у складі вуглеводних ланцюгів:  $(\alpha 2 \rightarrow 6) \text{Gal}-(\beta 1 \rightarrow 4) \text{GlcNac}$  або  $(\alpha 2 \rightarrow 3) \text{Gal}-(\beta 1 \rightarrow 4) \text{GlcNac}$ . Відсутність сіалових кислот у їх складі обумовлює галактозильованість, а також існування ізомерних типів білків [2].

Наявність СК на вуглеводних гілках білків визначає час їхньої циркуляції у кровотоці та надає молекулам від'ємного заряду, який значно змінюється за відсутністю СК при патологічних процесах [3]. Так, десіальовані глікоформи  $\alpha_1$ -кислого глікопротеїну (АГП) за умов запальних і онкологічних процесів мають нижчу афінність до позитивно заряджених молекул біологічно активних медіаторів і гормонів. АГП є гострофазовим і високоглікозильованим білком (45% вуглеводної частки), функціональні властивості якого напрумя залежать від структури вуглеводного компоненту та змінюються при патологічних процесах. Побутує думка, що завдяки змінам ступеня сіальованості АГП в міжклітинному просторі порушується взаємодія між пухлинними клітинами, а це надає йому антиопсонічних властивостей [4].

Фібронектин (ФН) є глікопротеїном, що також відіграє ключову роль у процесах клітинного росту, міграції та диференціювання при онкопроліферативних захворюваннях [5]. Хоча вклад вуглеводної частки становить лише 9–11% від загальної маси, зміни у ступені сіальованості й галактозильованості її гліканів впливають на функцію ФН. Так, за даними Takizama et al. підвищення експресії сіалофібронектину у хворих на рак щитоподібної залози корелює зі ступенем метастазування лімфатичних вузлів [6].

Відомо, що глікозильованість білків може змінюватися під дією лікарських засобів. Так, американські вчені, використовуючи лінії клітин гострої В-лімфобластної лейкемії показали, що введення хімотерапевтичних препаратів призводить до підвищення експресії екстрацелюлярних сіалідаз, унаслідок чого змінюється сіальованість глікопротеїнів [7]. Більшість досліджень, що проводяться у хворих із онкопроліферативними патологіями, в основному спрямовані на вимірювання змін клініко-гематологічних показників під дією різних схем лікування для доказу ефективності їх використання. Однак у літературних джерелах зустрічаються лише поодинокі дані щодо впливу поліхімотерапевтичних препаратів на глікозильованість білків, тому метою нашої роботи було дослідити ступінь сіальованості й галактозильованості двох різних за вмістом вуглеводної частки білків плазми:  $\alpha_1$ -кислого глікопротеїну та фібронектину у групі хворих на хронічний лімфолейкоз (ХЛЛ) до проведення лікування та на його різних етапах.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Матеріалом дослідження слугувала плазма крові хворих на ХЛЛ ( $n = 20$ ) у віці 58–66 років, які, залежно від терміну лікування, поділили три групи: I – до лікування; II – перша доба з початку проведення курсу стандартної поліхіміотерапії (ПХТ) за схемою ЦОП (циклофосфамід 750 мг/м<sup>2</sup> в/в у 1-й день, вінкрисин (онковін) 1,4 мг/м<sup>2</sup> в/в у 1-й день, преднізолон у дозі 40 мг/м<sup>2</sup> 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 поліхімотерапевтичними схемами за програмою ЦОП призначали як першу лінію терапії хворим на хронічний лімфолейкоз, виходячи з конкретних клініко-гематологічних показників.

Клінічне обстеження пацієнтів проводили згідно зі стандартами медичної допомоги в умовах спеціалізованого стаціонару – гематологічного відділення комунального закладу «Міська багатопрофільна клінічна лікарня № 4» (м. Дніпропетровськ). Усі обстежені давали письмову згоду на участь у дослідженні.

Ступінь глікозилуваності ФН і АГП вивчали методом лектин-ферментного аналізу [8, 9] з використанням антитіл до ФН і АГП плазми, що були деглікозилувані за допомогою N-Glycosidase F (US Biological, США). Відсутність вуглеводів у складі деглікозилуваних імуноглобулінів, їх афінність і специфічність перевіряли лектин- та імунодот-аналізом. Використовували лектин маакї амурської – MAA (Sigma, США), бузини чорної SNA (Лектинотест, Україна), рицини звичайної RCA, що були кон'юговані з пероксидазою хрому в нашій лабораторії за методикою М. Д. Луцика та ін. [10]. Для контролю специфічності зв'язування лектинів із вуглеводними детермінантами ФН і АГП у реакційну суміш додавали відповідні моносахариди-інгібітори в концентрації 0,1 моль/л. Лектин-зв'язуючу активність оцінювали як відсоток зв'язування відповідного лектину з ФН і АГП плазми щодо норми у перерахунку на 1 мкг кожного білка.

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 ДОСЛІДЖЕНЬ І ЇХНЕ ОБГОВОРЕННЯ

Дослідження ступеня сіальованості глікопротеїнів проводили за допомогою двох лектинів: MAA-II та SNA. MAA-II є афінним до N-ацетилнейрамінових кислот поліантенних гліканів, зв'язаних  $\alpha(2\rightarrow3)$ -глікозидними зв'язками, а SNA взаємодіє із  $\alpha(2\rightarrow6)$ -сіаловими кислотами біантенних N-та O-гліканів. Саме ці лектини, на думку багатьох авторів, є найкращим інструментом дослідження сіальованості білків [11]. Слід відзначити, що нами не виявлено значної різниці між SNA- та MAA-II-зв'язуючою активністю (сіальованістю) як АГП, так і ФН у всіх досліджуваних зразках (рис. 1). Проведений кореляційний аналіз (за критерієм Пірсона) показав наявність позитивного зв'язку між MAA- та SNA-зв'язуючою активністю АГП і фібронектину в нормі ( $r=0,61$ ) та в групах хворих на ХЛЛ на різних етапах лікування ( $r=0,65$ ,  $r=0,63$  та  $r=0,63$  відповідно).

Встановлено, що до поліхіміотерапії ступінь сіальованості  $\alpha_1$ -кислого глікопротеїну та фібронектину був значно нижчим за норму для обох білків (рис. 1). Лектин-зв'язуюча активність АГП достовірно знижувалася на  $37,3\pm 5,0\%$  ( $p<0,05$ ), а фібронектину – на  $58,5\pm 9,0\%$  ( $p<0,01$ ). У першу добу лікування в плазмі крові визначали майже повністю сіальовані форми АГП, та ще більш (на  $78\pm 9,1\%$ ) десіальовані глікоформи фібронектину (рис. 1).

Лектин-зв'язуюча активність досліджуваних білків у III групі відрізнялася від показників, що отримані для II групи, але майже збігалася зі значеннями, отриманими в I групі. Ступінь сіальованості АГП порівняно з нормою був знижений на  $27\pm 5\%$  ( $p<0,05$ ), а фібронектину – майже удвічі (на  $51\pm 8\%$  ( $p<0,01$ )).

RCA-зв'язувальна активність АГП і фібронектину в I групі знижувалася щодо норми на  $30\pm 5,1\%$  ( $p<0,05$ ) та  $28\pm 4,4\%$  ( $p<0,05$ ), відповідно. Цей показник підвищувався на  $28,6\pm 4,1\%$  ( $p<0,05$ ) для  $\alpha_1$ -кислого глікопротеїну та залишався значно зниженим (на  $61\pm 7,3\%$  ( $p<0,01$ )) для фібронектину в II групі (рис. 2). Через два

місяці після проведення першого курсу стандартної хіміотерапії значення ступеня зв'язування досліджуваних білків з RCA достовірно не відрізнялися від отриманих у групі контролю.

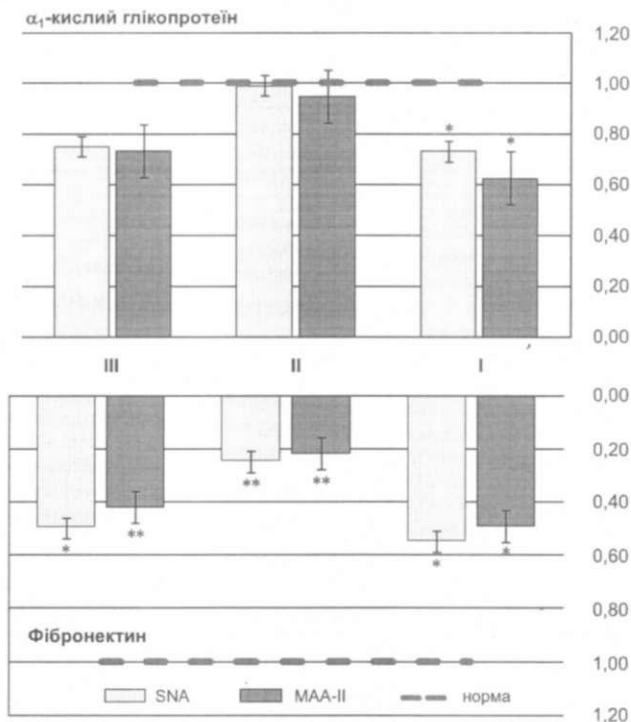


Рис. 1. Ступінь зв'язування (у %)  $\alpha_1$ -кислого глікопротеїну та фібронектину із MAA (лектин маакії амурської) та SNA (лектин бузини чорної) щодо норми (штрихована лінія) у трьох досліджуваних групах: I – до лікування; II – перша доба з початку проведення курсу стандартної поліхіміотерапії за схемою ЦОП; III – через два місяці після проведення першого курсу стандартної хіміотерапії за схемою ЦОП

Fig. 1. Rate of  $\alpha_1$ -acid glycoprotein and fibronectin binding (%) with *Maackia amurensis* lectin and *Sambucus nigra* lectin to normal state (shaded line) in group: I – before treatment, II – the first day of the beginning of a course of standard COP-chemotherapy, III – two months after the first course of COP-chemotherapy

АГП та фібронектин є глікопротеїнами (структура вуглеводних гілок представлена на рис. 3), вміст яких часто змінюється за умов запальних і онкологічних процесів [12]. Слід відзначити, що у хворих на ХЛЛ у плазмі крові спостерігаються підвищення вмісту десіальованих форм як АГП, так і фібронектину, що узгоджується з отриманими нами в попередніх дослідженнях даними щодо підвищення

вмісту сіалових кислот за умов хронічного лімфолейкозу [13]. Хіміотерапевтичне лікування по-різному впливає на ступінь сіальованості досліджуваних білків. Так, у першу добу проведення ЦОП-терапії ступінь сіальованості АГП не відрізняється від значень контрольної групи. Причому, за нашими попередніми даними, рівень сіалових кислот також перебуває у межах норми [13], а кореляційний аналіз показує існування позитивного зв'язку між цими показниками. Однак лектин-зв'язуюча активність фібронектину щодо сіалоспецифічних лектинів, навпаки, ще більше знижується під впливом хіміотерапії.

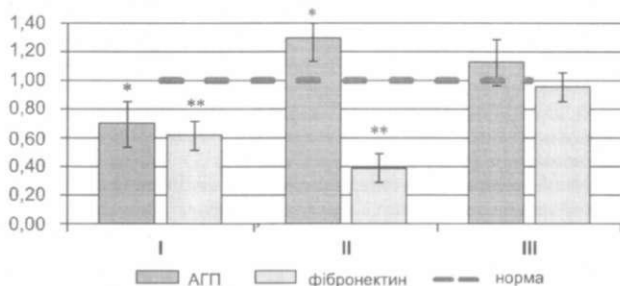


Рис. 2. Ступінь зв'язування (%)  $\alpha_1$ -кислого глікопротеїну та фібронектину із RCA (лектин рицини звичайної) щодо норми (штрихована лінія) у трьох досліджуваних групах: I – до лікування; II – перша доба з початку проведення курсу стандартної поліхіміотерапії за схемою ЦОП; III – через два місяці після проведення першого курсу стандартної хіміотерапії за схемою ЦОП

Fig. 2. Rate of  $\alpha_1$ -acid glycoprotein and fibronectin binding (%) with *Ricinus communis* lectin to norm (shaded line) in group: I – before treatment, II – the first day of the beginning of a course of standard COP-chemotherapy, III – two months after the first course of COP-chemotherapy

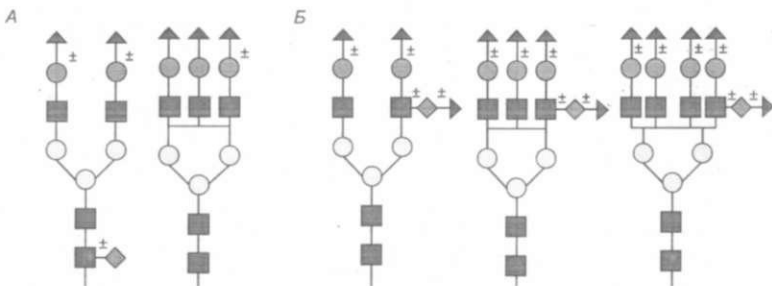


Рис. 3. Структура N-гліканів фібронектину плазми (А) та N-гліканів  $\alpha_1$ -кислого глікопротеїну плазми (Б): ■ – N-ацетил-глюкозамін, ○ – маноза, ● – галактоза, ◆ – фукоза, ▲ – N-ацетилнейрамінова кислота

Fig. 3. Structure of N-glycans of plasma fibronectin (A) and  $\alpha_1$ -acid glycoprotein (B): ■ – N-acetylglucosamine; ○ – manose; ● – galactose; ◆ – fucose; ▲ – N-acetylneuramic acid

Подальший аналіз ступеня сіальованості досліджуваних глікопротеїнів у групі хворих через два місяці після проведення першого курсу стандартної хіміотерапії показав, що вміст сіалоформ як АГП, так і фібронектину (тих, що мають у своєму складі СК) з часом знижується та майже не відрізняється від значень, отриманих у цих хворих до проведення терапії. Це може свідчити про відсутність впливу поліхіміотерапевтичного лікування на ступінь сіальованості досліджуваних глікопротеїнів.

Лектин-ферментний аналіз із використанням галактозоспецифічного лектину RCA показав, що рівень дегалактозильованих глікоформ як АГП, так і фібронектину плазми підвищувався у хворих на ХЛЛ до лікування. Причому і в нормі, і за ХЛЛ спостерігався позитивний кореляційний зв'язок між ступенями сіальованості й галактозильованості досліджуваних білків. Можна зробити висновок, що за хронічного лімфолейкозу спостерігаються значні зміни у структурі N-гліканів глікопротеїнів і з'являються їх дегалактозильовані форми. У першу добу після проведення курсу поліхіміотерапії галактозильованість АГП зростає та перевищує нормальні значення. Враховуючи специфічність обраного для досліджень лектину рицини [14], що взаємодіє не лише з біантеними, а й також із розгалуженими три- і тетраантеними N-гліканами, можна припустити, що хіміотерапевтичне лікування призводить до підвищення кількості глікоформ АГП з поліантеними N-гліканами. Ці форми продовжують циркулювати у крові хворих і через два місяці після проведення першого курсу поліхіміотерапії.

На відміну від АГП, фібронектин у першу добу після проведення хіміотерапії є дегалактозильованим порівняно з нормою. Через два місяці у плазмі крові хворих II групи ідентифікуються галактозильовані глікоформи фібронектину, що є характерним для групи гематологічно здорових волонтерів.

Таким чином, за ХЛЛ визначаються не тільки десіальовані, а й дегалактозильовані глікоформи АГП та фібронектину. В літературних джерелах є свідчення про зміни ступеня сіальованості фібронектину за умов проліферативних процесів. Так, гіпосіальовані або повністю десіальовані N- та O-вуглеводні детермінанти має онкофетальна ізоформа ФН, що продукується малігнізованими та фетальними тканинами [12]. А сіальованість АГП впливає на його неспецифічну імуномодуляторну активність [15]. Таким чином, за даними багатьох авторів ступінь сіальованості досліджуваних глікопротеїнів може впливати на імунну відповідь і процеси міжклітинної взаємодії, що є дуже важливими при розвитку онкопроліферативних процесів [16].

Нами вперше показано, що за умов ХЛЛ у плазмі крові хворих підвищується вміст дегалактозильованих глікоформ АГП та фібронектину. Галактоза, що входить до складу гліканів, визначає біологічне життя глікопротеїнів. Її поява в кінцевому положенні діє як сигнал для розпізнавання та деградації білків шляхом зв'язування із відповідними рецепторами плазматичних мембран клітин до асіалоглікопротеїнів [17]. Добре вивченою є галактозильованість і її вплив на функції імуноглобулінів за умов запальних процесів. Так, при ревматоїдному артриті значно підвищується рівень дегалактозильованих IgG, IgM, та IgA [18]. А відщеплення сіалових кислот і галактоз від N-гліканів IgG1 впливає на його цитотоксичну активність [19]. Однак у літературних джерелах відсутні свідчення щодо ступеня галактозильованості досліджуваних білків за умов лімфопрولیферативних процесів.

Під впливом хіміотерапії спостерігаються значні зміни у ступені глікозильованості фібронектину. Відомо, що розвиток будь-якого онкопроліферативного процесу (в тому числі ХЛЛ) супроводжується підвищенням клітинної проліферації та, безумовно, впливає на білки екстрацелюлярного матриксу, до яких належить і фібронектин, конформація та властивості якого при цьому змінюються [20]. Оскільки алкілююча хіміотерапія дуже токсична, то важливими є дослідження її впливу не тільки на проліферативні процеси, але й на захисні механізми за участю білків. Так, за даними японських вчених, фібронектинові фрагменти сприяють ретровірусній передачі глутатіон-S-трансферази ген  $\pi$  в CD34+ клітинах, щоб захистити їх від алкілюючих агентів [21]. Також доведено, що при розвитку пухлин фібронектин може змінювати конформацію так, що активні модулі маскуються і втрачають свої функції [22]. Можливо, зміни вуглеводної частки фібронектину, які призводять до його конформаційних змін, є одним із шляхів захисних реакцій організму на хіміотерапевтичне лікування.

Таким чином, нами вперше показано динаміку змін ступеня глікозильованості АГП та фібронектину під дією ЦОП-терапії. Проведення алкілюючої терапії у хворих на ХЛЛ впливає на ступінь галактозильованості й сіальованості обох глікопротеїнів. Поява галактози у складі N-гліканів АГП та фібронектину спостерігається після проведення поліхіміотерапії. Отримані дані можуть бути корисними для більш глибокого розуміння механізмів мобілізації захисних реакцій організму при даній тактиці лікування.

## ВИСНОВКИ

1. За умов хронічного лімфолейкозу знижується ступінь сіальованості й галактозильованості як АГП, так і фібронектину порівняно із нормою.
2. У першу добу після проведення поліхіміотерапії у плазмі хворих визначаються глікоформи АГП, ступінь сіальованості яких не відрізняються від норми, а ступінь галактозильованості зростає, тоді як ступінь галактозильованості фібронектину залишається зниженим.
3. Через два місяці після проведення першого курсу стандартної хіміотерапії ступені сіальованості як АГП, так і фібронектину залишаються зниженими, а галактозильованість обох білків відновлюється.

- 
1. Schauer R. Achievements and challenges of sialic acid research. *Glycoconj J*, 2000; 17: 485–499.
  2. Nakano M., Kakehi K., Tsai M. et al. Detailed structural features of glycan chains derived from  $\alpha_1$ -acid glycoproteins of several different animals: the presence of hypersialylated, O-acetylated sialic acids but not disialyl residues. *Glycobiol*, 2003; 14(5): 431–441.
  3. Varki A. Sialic acids in human health and disease. *Trends Mol. Med*, 2008; 14(8): 351–360.
  4. García-Muñoz A., Rodríguez M.A., Bologna-Molina R., Hernández-Hernández F.C. The orosomucoid 1 protein ( $\alpha_1$  acid glycoprotein) is overexpressed in odontogenic myxoma. *Proteome Science*, 2012; 10(49): 1477–1487.
  5. Dshui J., Mingxia Y., Xiaomin W., Xiangfang H. Development of a highly metastatic model that reveals a crucial role of fibronectin in lung cancer cell migration and invasion. *BMC Cancer*, 2010; 10(364): 1186–1192.

6. *Takeyama H., Kyoda S., Okamoto T., Manome Y.* The expression of sialic fibronectin correlates with lymph node metastasis of thyroid malignant neoplasmas. **Anticancer Res**, 2011; 31(4): 1395–1398.
7. *Higai K., Aoki Y., Azuma Y. et al.* Glycosylation of site-specific glycans of alpha1-acid glycoprotein and alterations in acute and chronic inflammation. **Biochim. Biophys. Acta**, 2005; 30(1): 128–135.
8. *Кулініч А.О., Шевцова А.І., Письменецька І.Ю., Маслак Г.С.* Пат. на корисну модель № 54113 Україна. МПК А61В 5/145. Спосіб визначення ступеню фукозилуваності фібронектину; заявник та патентовласник Дніпропетровська державна медична академія. – заявл. 05.05.2010; опубл. 25.10.2010, Бюл. № 20.
9. *Степльськова Н.І., Шевцова А.І., Бразалук О.З., Машейко І.В.* Пат. №53176 Україна, МПК7(2009) А61В 5/145. Спосіб визначення ступеню сіалюваності альфа-1-кислого глікопротеїну; заявник і патентовласник Дніпропетровська державна медична академія. – заявл. 02.04.2010; опубл. 27.09.2010, Бюл. № 18.
10. *Луцик М.Д., Детюк Е.С., Луцик Н.Д.* Лектини в гистохимії / под ред. Е.Н. Панасюка. Львов: Вища школа, 1989. 144 с.
11. *D'Souza Y.B., Jones C.J.P., Bonshok R.E.* Comparison of lectin binding of drusen, RPE, Bruch's membrane, and photoreceptors. **Molecular Vision**, 2009; 15: 906–911.
12. *Wing S.To., Kim S.* Midwood Plasma and cellular fibronectin: distinct and independent functions during tissue repair. **Fibrogenesis & Tissue Repair**, 2011, 4:21 doi:10.1186/1755-1536-4-21.
13. *Маслак Г.С., Костюк О.В., Бразалук О.З.* Сироваточний рівень сіалових кислот та активність нейрамінідази за умов хронічного лімфолейкозу та на фоні хіміотерапевтичного лікування. **Вчені записки Таврійського нац. ун-ту ім. Вернадського**, 2013; 26(65) №1: 105–111.
14. *Chen W.C., Completo G.C., Sigal D.S et al.* In vivo targeting of B-cell lymphoma with glycan ligands of CD22. **Blood**, 2011 May 19; 117(20): 5551.
15. *Van D.Brinkman-van Linden E.C., Haveeman.* Glycolation of L1-acid glycoprotein in health an disease occurrence, regulation and possible functional implications. **Trends Glycosci. Glycotechnol.**1998; 10: 235–45.
16. *Kelm S. Schauer R.* Sialic acids in molecular in cellular interactions. **In Rev. CetoI**, 1997; 157: 137–240.
17. *Stamatos M., Liang F., Nan X. et al.* Differential expression of endogenous sialidases of human monocytes during cellular differentiation into macrophages **FEBS J**, 2005; 272(10): 2545–56.
18. *Sumar N., Isenberg D.A., Bodman K.B. et al.* Reduction in IgG galactose in juvenile and adult onset rheumatoid arthritis measured by a lectin binding method and its relation to rheumatoid factor. **Ann. Rheum. Dis**, 1991 September; 50(9): 607–610.
19. *Boyd P.N., Lines A.C., Patel A.K.* The effect of the removal of sialic acid, galactose and total carbohydrate on the. **Mol. Immunol**, 1995; 32 (17–18): 1311–8.
20. *Vakonakis I., D. Staunton, Ellis I. R. et al.* Motogenic sites in human fibronectin are masked by long range interactions. **J. Biol. Chem**, 2009; 284(23): 15668–15675.
21. *Kuga T., Sakamaki S., Matsunaga T. et al.* Fibronectin fragment-facilitated retroviral transfer of the glutathione-S-transferase pi gene into CD34+ cells to protect them against alkylating agents. **Hum. Gene Ther**, 1997 Nov 1; 8(16): 1901–10.
22. *Millard C.J., Campbell I.D., Pickford R. A.* Gelatin binding to the 8F19F1 module pair of human fibronectin requires site-specific N-glycosylation. **FEBS Let**, 2005; 579 (20): 4529–4534.



**LEVEL OF SIALYLATION AND GALACTOSYLATION OF BLOOD PLASMA GLYCOPROTEINS UNDER THE INFLUENCE OF ALKYLATING CHEMOTHERAPY IN PATIENTS WITH CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA****G. S. Maslak, O. V. Kostyuk, A. O. Kulinich, I. V. Mashejko***State Institution «Dnipropetrovsk Medical Academy»,  
9, Dzerjynskiy St., Dnipropetrovsk 49044, Ukraine  
e-mail: maslak\_anna@mail.ru*

Level of sialylation, galactosylation of  $\alpha_1$ -acid glycoprotein and plasma fibronectin in patients with chronic lymphocytic leukemia before the alkylating therapy and at its different stages were studied. Treatment of patients with chronic lymphocytic leukemia destined chemotherapeutic regimens according to the program COP (cyclophosphamide, onkovin and prednisolone). Lectin-enzyme analyses with sialospecific *Maackia amurensis* lectin MAA-II, sambucus nigra lectin SNA and galactospecific ricinus communis lectin were used. Significant decrease of sialylation and galactosylation of both studied proteins in chronic lymphocytic leukemia and dynamic changes of these parameters during the first day of treatment and in two months were shown. Alkylating chemotherapy of chronic lymphocytic leukemia patients influences as the level of sialylation as the level of galactosylation both studied glycoproteins. Restoration of galactose within the N-glycans of  $\alpha_1$ -acid glycoprotein and fibronectin was observed after chemotherapy. Obtained data could be useful for the better understanding of the mechanisms of action of selected treatment and defense reactions of the organism.

**Keywords:** fibronectin,  $\alpha_1$ -acid glycoprotein, sialic acid, galactose, chronic lymphocytic leukemia, COP-therapy.

**СТЕПЕНЬ СІАЛІРОВАННОСТІ И ГАЛАКТОЗИЛІРОВАННОСТІ ГЛІКОПРОТЕІНІВ ПЛАЗМИ КРОВІ В УМОВИХ АЛКІЛІРУЮЩОЇ ПОЛІХІМІОТЕРАПІЇ У БОЛЬНИХ ХРОНИЧЕСКИМ ЛИМФОЛЕЙКОЗОМ****A. C. Маслак, О. В. Костюк, А. О. Кулинич, И. В. Машейко***ГУ «Днепропетровская медицинская академия МОЗ Украины»  
ул. Дзержинского, 9, Днепропетровск 49044, Украина  
e-mail: maslak\_anna@mail.ru*

Исследовали степень сialiрованности и галактозилированности  $\alpha_1$ -кислого гликопротеина и фибронектина плазмы крови в группе больных хроническим лимфолейкозом до проведения алкилирующей терапии и на её различных этапах. Лечение больных хроническим лимфолейкозом назначалось согласно полихимиотерапевтическим схемам по программе ЦОП (циклофосфамид, онковин, преднизолон). В работе использовали метод лектин-ферментного анализа с сиалоспецифическими лектинами маакии амурской MAA-II, бузины черной SNA и галактозо-специфическим лектином клещевины обыкновенной RCA. Установлено достоверное снижение как сialiрованности, так и галактозилированности обоих исследуемых белков при хроническом лимфолейкозе и показана динамика изменений этих

показателей в первые сутки лечения и через два месяца. Проведение алкилирующей терапии у больных хроническим лимфолейкозом влияет на степень галактозилированности и сиалированности обоих гликопротеинов. Появление галактозы в составе N-гликанов  $\alpha_1$ -кислого гликопротеина и фибронектина наблюдается после проведения полихимиотерапии. Полученные данные могут быть полезны для более глубокого понимания механизмов мобилизации защитных реакций организма при данной тактике лечения.

**Ключевые слова:** фибронектин,  $\alpha_1$ -кислый гликопротеин, сиаловые кислоты, галактоза, хронический лимфолейкоз, ЦОП-терапия.