DOI: 10.26693/jmbs06.06.134

УДК 616.831-006.5: 616.15:576.32/36

Маслак Г. С.¹, Черненко Г. П.²,Абрамов С. В.², Письменецька І. Ю.², Давиденко І. В.²,Лушня Л. М.², Макарець М. Ф.²

ДОСЛІДЖЕННЯ ГЛІКОБІОМУ ПОВЕХНІ ЛІМФОЦИТІВ ХВОРИХ НА В-КЛІТИННИЙ ХРОНІЧНИЙ ЛІМФОЛЕЙКОЗ

¹Дніпровський державний медичний університет,
Дніпро, Україна,

²Дніпровський медичний інститут традиційної і нетрадиційної медицини,
Дніпро, Україна

Мета. Дослідити у хворих на В-клітинний хронічний лімфолейкоз інтенсивність експонування поверхневих гліканів лімфоцитів периферичної крові шляхом вимірювання щільності лектин- або антиген-позитивних епітопів за умов протипухлинної терапії з метою оцінки її ефективності.

Матеріал та методи. Об'єкт дослідження – лімфоцити крові хворих (n=15) у віці 58-66 років до та після проведення курсу СОР-терапії, а також лімфоцити здорових волонтерів (n=15) у віці від 55 до 65 років. Виділення лімфоцитів проводили модифікованим методом А. Воут. Для отримання В-лімфоцитів суспензію лімфоцитів розділяли на фракції Т- і В-клітин, використовуючи колонки із синтетичною ватою методом Р. Terasaki. Життєздатність клітин визначали за допомогою триптанового синього (вона була понад 90%). Експонування α 1-кислого глікопротеїну та фібронектину визначали з використанням поліклональних антитіл до α 1-кислого глікопротеїну та вторинних антитіл кролика, мічених фікоеритрином. Експонування Тn-антигена та CD43 на лімфоцитах крові визначали за допомогою вторинних антитіл до імуноглобулінів миші, кон'югованих з ФІТЦ. Експонування гліканів на поверхні лімфоцитів вивчали з використанням набору із семи лектинів, мічених ФІТЦ. Дані реєстрували на проточному цитометрі Beckman Coulter EPICS.

Результати. Порівняно з контрольною групою у хворих на хронічний лімфолейкоз на поверхні лімфоцитів показано збільшення у 20 разів щільності експонування ConA-епітопів, у 10 разів - UEAI- та SNA-позитивних епітопів; щільності епітопів MAA II-, Тn- та CD43-антигенів були збільшені у 100 разів (p<0,01). Після СОР-терапії щільність експонування MAA II-, Тn- та CD43-позитивних епітопів на плазматичних мембранах лімфоцитів хворих знижувалася у 10 разів відносно даних до лікування, однак перевищувала показники контрольної групи у 10 разів.

Висновки. На плазматичних мембранах лімфоцитів у хворих на хронічний лімфолейкоз достовірно збільшена щільність залишків маннози та нейрамінової кислоти. СОР- терапія зменшила

щільність цих епітопів до контрольних значень. На плазматичних мембранах лімфоцитів у хворих на хронічний лімфолейкоз показано значне достовірне підвищення щільності маркерів канцерогенезу Тn- та CD43-антигенів. СОР-терапія зумовила часткове зменшення їх щільності, що свідчить тільки про часткову ефективність СОР-терапії, її нездатність повністю зупинити онкопроцес у хворих на хронічний лімфолейкоз.

Ключові слова: В-клітинний хронічний лімфолейкоз, лектини, моно- та поліклональні антитіла, мембрани лімфоцитів, щільність експонування гліканових епітопів.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Наукова робота є фрагментом комплексних тем «Посттрансляційні зміни (модифікації) білків за умов патологічних процесів» (№ державної реєстрації 0114U001279), та «Структурно-функціональні зміни білків при оксидативно-карбонільному стресі та їх корекція під дією терапевтичних заходів» (№ державної реєстрації 0118U006025).

Вступ. В-клітинний хронічний лімфолейкоз (ХЛЛ) складає понад 30% всіх випадків онкогематологічних захворювань і продовжує залишатись невиліковним [1]. Протягом останніх років при дослідженні закономірностей онкогенезу було з'ясовано суттєву роль хромосомних аберацій, що ведуть до пошкодження нормальної експресії генів при гомобластозах, а також виявлені зміни на епігенетичному рівні, що накопичуються у соматичних клітинах і призводять до порушення в них нормальних процесів метаболізму а також їх взаємодії з оточуючими стромальними клітинами [2, 3]. Одним з важливих різновидів проявів таких порушень є зміни у складі гліканових детермінант глікопротеїнів, розташованих на поверхні клітин [3, 4], які впливають на специфічну поведінку пухлинних клітин - міграцію, інвазію, стійкість до широкого спектру цитотоксичних та апоптичних стимулів, гіпоксію [5]. Серед можливих причин перебудови гліканових профілів розглядаються зміни експресії білкових структур глікопротеїнів [6], активностей

глікозилтрансфераз та глікозидаз [4,7], порушення компонентів сигнальних шляхів дозрівання та функціонування В-лімфоцитів, зокрема, тирозинкінази Бутона [8, 9], зміни в співвідношенні у сироватці крові ростстимулюючих та ростінгібуючих факторів [10]. Лікування таких хворих довгий час проводилося з використанням алкілюючого препарату хлорамбуцилу, який забезпечував стримуючу терапію. Згодом з'явилися розширені схеми лікування також з включенням алкілюючих агентів – COP, CAP CHOP та інш. [1].

Наразі розробляються ефективні методи протипухлинної терапії, які розглядають глікани як нові терапевтичні мішені, наприклад, синтезуючи кон'югат антитіло-лікувальний засіб, націлений на вуглеводний антиген [11], створення глікомодифікованих терапевтичних моноклональних антитіл [12].

Мета дослідження. Дослідити у хворих на В-клітинний хронічний лімфолейкоз інтенсивність експонування поверхневих гліканів лімфоцитів периферичної крові шляхом вимірювання щільності лектин- або антиген-позитивних епітопів за умов протипухлинної терапії з метою її оцінки для більш обґрунтованого підбору якісного та кількісного складу терапевтичних препаратів.

Матеріал та методи дослідження. Об'єктом дослідження були лімфоцити крові хворих на хронічний лімфолейкоз (n=15) у віці 58-66 років до та після проведення курсу стандартної хіміотерапії за схемою COP [1].

Дослідження виконані з дотриманням основних положень «Правил етичних принципів проведення наукових медичних досліджень за участю людини», затверджених Гельсінською декларацією (1964-2013 рр.), ICH GCP (1996 р.), Директиви ЄЕС № 609 (від 24.11.1986 р.), наказів МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р., № 944 від 14.12.2009 р., № 616 від 03.08.2012 р.

Експресія антигену CD19⁺ за результатами імуногістологічного та цитологічного аналізів виявлена у 85-90% клітин. Контрольну групу становили здорові волонтери (n=15) у віці від 55 до 65 років. Виділення лімфоцитів з гепаринізованої крові (20-25 ОД гепарину на 1 мл крові) проводили за модифікованим методом A. Boyum [13]. Кількість клітин підраховували у камері Горяєва. В-лімфоцити відокремлювали в суспензії клітин від фракції Т-лімфоцитів використовуючи колонки з синтетичною ватою за методом P. Terasaki. Життєздатність визначали за допомогою триптанового синього (вона була більше 90%), та готували робочу концентрацію лімфоцитів (300 тисяч/мл у кожному зразку). Експонування α_1 -кислого глікопротеїну (АГП) і фібронектину (ФН) визначали з використанням поліклональних антитіл до АГП (Life Span

Biosciences, USA) та вторинних антитіл кролика, мічених фікоеритрином (Santa Cruz, USA), а також моноклональних антитіл до матричного ФН (AbD Serotec, UK). Експонування **Тп-антигену та CD43 на лімфоцитах крові** визначали з використанням ФІТЦ-кон'югованих вторинних антитіл до імуноглобулінів миші (Millipore, USA). Для дослідження експонування гліканів на поверхні лімфоцитів використовували набір із семи лектинів, мічених ФІТЦ [14, 15]. Реєстрацію даних проводили на проточному цитометрі Beckman Coulter EPICS. Обробку результатів проводили за допомогою програми FCS3Express.

Результати дослідження та їх обговорення. Дослідження інтенсивності експонування лектин-позитивних епітопів на плазматичній мембрані лімфоцитів хворих на ХЛЛ шляхом вимірювання щільності їх розташування показали зміни цього параметру порівняно з контрольною групою.

Виявлено збільшення у 20 разів щільності експонування ConA - епітопів (**рис. 1-1**), які представлені залишками α -манози. Можливою причиною цього феномену може бути висока швидкість проліферації лімфоцитів у хворих на ХЛЛ, що може сприяти появі незрілих високоманозних форм глікопротеїнів, які утворюються на ранній стадії глікозилювання [16], можливо через дефіцит ферментів глікозилтрансфераз [7]. У 10 разів підвищилась щільність SNA-позитивних епітопів, які презентують нейрамінову кислоту (**рис. 1-2**), що узгоджується з твердженням про більш високий рівень сіалових кислот у складі глікопротеїнів пухлин [12].

Лектини, що зв'язують термінальні α -2,3-сіалові кислоти, пригнічують пухлинний рост [17]. Дослідження щільності MAA II-епітопів, **Тп-** та **CD43-антигенів** на поверхні клітин при хронічному лімфолейкозі також показало достовірне підвищення цих параметрів у 100 разів (p < 0,01) порівняно до контрольної групи (**рис. 1-4**).

Відомо, що антиген CD43 це негативно заряджений трансмембранний сіалоглікопротеїн I типу, що експресується більшістю гематопоетичних клітин, але не зрілими В-лімфоцитами; проявляє антиадгезивну активність і є одним з маркерів канцерогенезу [18]. У свою чергу, Тп антиген це моносахарид N-ацетилгалактозамін (GalNAc), пов'язаний з серином або треоніном за допомогою глікозидного зв'язку. Він є пухлиноспецифічним антигеном, який з'являється на ракових клітинах в результаті аберантного О-глікозилювання [19, 20]. Інтенсивність експонування на плазматичній мембрані лімфоцитів епітопів PHA-L (зв'язує N-глікозидні ланцюги) та фукозоспецифічного лектину LABA у хворих не відрізнялась від контрольних значень (**рис. 1-3**), а рівень фібронектину да АГП на поверхні цих клітин знижувався майже на

Рис 1 – Інтенсивність флуоресценції мВ ФІТЦ-Con A – 1, ФІТЦ- UEA – 2, ФІТЦ-LABA – 3, антитіл до CD43 – 4, до α_1 -кислого глікопротеїну – 5, фібрoneктину – 6 лімфоцитів здорового донора (чорна лінія) та хворого на хронічний лімфолейкоз (червона лінія) за даними проточної цитометрії на Beckman Coulter EPICS

третину (рис. 1-5;6). Фібрoneктин є білком з групи інтегринів, які забезпечують ліганд-рецепторні взаємодії клітин ХЛЛ з ендотелієм судин і відіграє суттєву роль у метастазуванні тканинних пухлин [18].

Після проведення COP-терапії щільність експонування лектин- або антиген-позитивних епітопів на поверхні лімфоцитів периферичної крові хворих на ХЛЛ змінювалась по-різному. Так, інтенсивності експонування РНА-L- та LABA-фукозоафінних епітопів під дією COP-терапії залишалися незмінними (рис. 2-1). Зниження показників до контрольних значень було виявлено при використанні ФІТЦ- ConA, ФІТЦ-SNA та MAA II- (рис. 2-2;3) що свідчить про зменшення кількості маннозних та сіалових детермінант і вірогідно, про сповільнення проліферації лімфоцитів у хворих на ХЛЛ.

Показники щільності експонування Tn- та CD43-позитивних епітопів на плазматичній мембрані лімфоцитів у хворих на ХЛЛ, які отримували COP-терапію, знижувалися у 10 разів відносно даних до лікування, однак залишалися вищими в

10 разів у порівнянні з групою здорових донорів (рис. 2-4). Достатньо висока щільність антигенів CD43 та Tn, що залишається на мембранах лімфоцитів хворих після COP-терапії, поряд із позитивним зниженням щільності маннозних та сіалових детермінант, свідчить тільки про часткову ефективність цієї терапії, її нездатність повністю зупинити онкопроцес у хворих на ХЛЛ. Необхідна додаткова ефективна імунотерапія, дія якої буде спрямована на вуглеводні епітопи, що презентують антигени Tn, CD43.

Висновки

1. На плазматичних мембранах лімфоцитів у хворих на ХЛЛ достовірно збільшена інтенсивність експонування гліканів, що містять залишки манози та нейрамінової кислоти (ConA- та SNA-позитивні епітопи). COP- терапія зменшила щільність цих епітопів до контрольних значень.
2. На плазматичних мембранах лімфоцитів у хворих на ХЛЛ показано значне достовірне підвищення щільності маркерів

Рис. 2 – Інтенсивність флуоресценції мВ ФІТЦ-RHA-L – 1, ФІТЦ-Con A – 2, ФІТЦ-UEA – 3, антитіл до CD43 – 4 на лімфоцитах здорового донора (чорна лінія) та хворого на хронічний лімфолейкоз після проведення COP-терапії (червона лінія) за даними проточної цитометрії на Beckman Coulter EPICS

Примітка: на рисунку, який відповідає ФІТЦ-RHA-L синьою лінією позначено інтенсивність флуоресценції цього лектину на лімфоцитах хворого на хронічний лімфолейкоз до лікування.

канцерогенезу Tn- та CD43-антигенів. COP-терапія зумовила часткове зменшення їх щільності, що свідчить тільки про часткову ефективність COP-терапії, її нездатність повністю зупинити онкопроцес у хворих на ХЛЛ.

Перспективи подальших досліджень Проведене дослідження показало недостатню ефективність COP-терапії з використанням алкілюючих агентів, тому подальша робота буде присвячена пошуку і випробуванню таргетних терапевтичних та діагностичних препаратів – гліуканів, лектинів, антитіл.

References

1. Kryachok YA Khronichnyy limfoleykoz: nove v likuvanni. Pidkholdy do terapiyi pershoyi liniyi ta yikh evolyutsiya [Chronic lymphocytic leukemia: new in treatment. Approaches to first-line therapy and their evolution]. *Klinicheskaya onkologiya*. 2013;3(11):121-129. [Ukrainian]
2. Laird PW. Cancer epigenetic. *Hum Mol Genet*. 2005 Apr 15;14 Spec No 1:R65-76. PMID: 15809275. doi: 10.1093/hmg/ddi113
3. Altucci L, Clarke N, Nebbioso A, Scognamiglio A, Gronemeyer H. Acute myeloid leukemia: Therapeutic impact of epigenetic drugs. *Int J Biochem Cell Biol*. 2005;37(9):1752-1762. PMID: 15964234. doi: 10.1016/j.biocel.2005.04.019
4. Jones RB, Dorsett CA, Hjelmeland AB, Bellis SL. Sialyltransferase ST6Gal-I protects tumor cells from hypoxia by enhancing HIF-1 alpha signaling. *J Biol Chem*. 2018 Apr 13;293(15):5659-5667. PMID: 29475939. PMCID: PMC5900773. doi: 10.1074/jbc.RA117.001194
5. Li F, Din J. Sialation is involved in deciding the fate of cells during the development, reprogramming, and progression of cancer. *Protein cell*. 2019 Aug;10(8):550-565. PMID: 30478534. PMCID: PMC6626595. doi: 10.1007/s13238-018-0597-5
6. Thu CT, Mahal LK. Sweet Control: MicroRNA Glycome Regulation. *Biochemistry*. 2020 Sep 1;59(34):3098-3110. PMID: 31585501. doi: 10.1021/acs.biochem.9b00784

7. Dorsett KA, Marciel MP, Hwang J, Ankenbauer KE, Bhalerao N, Bellis SL. Regulation of sialyltransferase ST-6GAL1 expression in cancer cells. *Glycobiology*. 2021 Jun 3;31(5):530-539. PMID: 33320246. doi: 10.1093/glycob/cwaa110
8. Poddubnaya IV, Byalyk TO, Glonina NN. Rol' ingibitorov tirozinkinazy Brutona II pokoleniya v lechenii khronicheskogo limfoleikoza [The role of II generation Bruton tyrosine kinase inhibitors in the treatment of chronic lymphocytic leukemia]. *Sovr Onkologiya*. 2019;21(4):45-76. [Russian]. doi: 10.26442/18151434.2019.4.190725
9. Petrova AN, Ionova TI, Chelysheva EYu, Shukhov OA, Bykova AV, Nemchenko IS, et al. Kachestvo zhizni bol'nykh khronicheskim miyeloleykozom s glubokim molekulyarnym otvetom do i posle otmeny terapii ingibitorami tirozinkinaz [Quality of life in patients with chronic myeloid leukemia with a deep molecular response before and after discontinuation of therapy with tyrosine kinase inhibitors]. *Vestnik gematologii*. 2021;XVII(1):17-27. [Russian]
10. Zhevak TN, Chesnokova NP, Shelekhova TV, Ivanova SN, Shutova AS. Zakonomernosti izmeneniya soderzhaniya v syvorotke krovi roststimuliruyushchikh i rostingibiruyushchikh faktorov pri V-kletichnom khronicheskom limfoleikoze i ikh diagnosticheskoye znachenie [Regularities of changes in the content of growth-stimulating and growth-inhibiting factors in blood serum in B-cell chronic lymphocytic leukemia and their diagnostic significance]. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2017;62(4):235-239. [Russian]
11. Sedlik C, Heitzmann A, Viel S, Ait Sarkouh R, Batisse C, Schmidt F, et al. Effective antitumor therapy based on a novel antibody-drug conjugate targeting the Tn carbohydrate antigen. *Oncoimmunology*. 2016 Apr 22;5(7):e1171434. PMID: 27622021. PMCID: PMC5006918. doi: 10.1080/2162402X.2016.1171434
12. Dorokhov YuL, Sheshukova EV, Kosobokova EN, Shindyapina AV, Kosorukov VS, Komarova TV. Rol' uglevodnykh ostatkov v funktsionirovaniy immunoglobulina G cheloveka i terapevticheskikh monoklonal'nykh antitel [The role of carbohydrate residues in the functioning of human immunoglobulin G and therapeutic monoclonal antibodies]. *Biokhimiya*. 2016;81(8):1069-1090. [Russian]. PMID: 27677552. doi: 10.1134/S0006297916080058
13. Boyum A. Separation of leukocytes from blood and bone marrow. *Scand J Clin Lab Investig*. 1968;21(97):1-9.
14. Lutsik MD, Kusen' SI. Issledovaniye membrannykh glikoproteinov eritrotsitov s primeneniym lektinov [Study of erythrocyte membrane glycoproteins using lectins]. *Ukr Biokhim zhurn*. 1987;59(6):3-8. [Russian]
15. Netronina OV, Maslak AS, Novik EYu. Uroven' lektin-svyazyvayushchikh leykotsitov v krovi bol'nykh dobrokachestvennymi pervichnymi opukholyami [The level of lectin-binding leukocytes in the blood of patients with benign primary tumors]. *Materialy nauch-prakt konf k 60-letiyu Grodnenskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta. Grodno; 2018*. 2018. s. 570-572. [Russian]
16. Zalai D, Hever H, Lovasz K, Molnar D, Wechselberger P, Hofer A, et al. A control strategy to investigate the relationship between specific productivity and high mannose glycoforms in CHO cells. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2016 Aug;100(16):7011-24. PMID: 26910040. PMCID: PMC4947490. doi: 10.1007/s00253-016-7380-4
17. Ochoa-Alvarez JA, Krishnan H, Shen Y, Acharya NK, Han M, McNulty DE, et al. Plant lectin can target receptors containing sialic acid exemplified by padoplanin to inhibit transformed cell growth and migration. *PLoS One*. 2012;7(7):e41845. PMID: 22844530. PMCID: PMC3402461. doi: 10.1371/journal.pone.0041845
18. Isacke CM, Horton MA. 2 - Adhesion Molecule Families. In: *The Adhesion Molecule Facts Book* (2nd Edition). Kindle Edition; 2000. 325 p. doi: 10.1016/B978-012356505-1/50003-4
19. Matsumoto Y, Kudelka MR, Hanes MS, Lehoux S, Dutta S, Jones MB, et al. Identification of Tn antigen O-GalNAc-expressing glycoproteins in human carcinomas using novel anti-Tn recombinant antibodies. *Glycobiology*. 2020 Apr 20;30(5):282-300. PMID: 32415964. PMCID: PMC7724743. doi: 10.1093/glycob/cwaa044
20. Shuvalova ML, Kopylov AT, Mazurov DV, Pichugin AV, Bovin NV, Filatov AV. Tn antigen v sostave molekuly CD44 kak novyy biomarker opukholevykh kletok s aberrantnym glikozilirovaniyem [Tn antigen in the CD44 molecule as a new biomarker of tumor cells with aberrant glycosylation]. *Biokhimiya*. 2020;85(9):1285-1293. [Russian]. PMID: 33050853. doi: 10.1134/S0006297920090060

УДК 616.831-006.5: 616.15:576.32/36

ИССЛЕДОВАНИЕ ГЛИКОБИОМА ПОВЕРХНОСТИ ЛИМФОЦИТОВ БОЛЬНЫХ В – КЛЕТОЧНЫМ ХРОНИЧЕСКИМ ЛИМФОЛЕЙКОЗОМ

Маслак А. С., Черненко Г. П., Абрамов С. В., Письменецкая И. Ю.,
Давиденко И. В., Лушня Л. М., Макарец М. Ф.

Резюме. Цель. Исследовать у больных В-клеточным хроническим лимфолейкозом интенсивность экспонирования поверхностных гликанов лимфоцитов периферической крови путем измерения плотности лектин- или антиген-положительных эпитопов в условиях противоопухолевой терапии с целью оценки ее эффективности.

Материал и методы. Объект исследования - лимфоциты крови больных (n=15) в возрасте 58-66 лет до и после проведения курса СОР-терапии, а также здоровых волонтеров (n=15) в возрасте от 55 до 65 лет. Выделение лимфоцитов проводили модифицированным методом А. Boyum.

Плотность экспонирования α 1-кислого гликопротеина и фибронектина определяли с использованием поликлональных антител к α 1-кислому гликопротеину и вторичных антител кролика, меченных фикоэритрином), Tn-антигена и CD43 определяли с помощью вторичных антител к иммуноглобулинам мыши, конъюгированных с ФИТЦ. Плотность гликанов изучали с использованием набора из семи лектинов, меченных ФИТЦ. Данные регистрировали на проточном цитометре Beckman Coulter EPICS.

Результаты. По сравнению с контрольной группой у больных хроническим лимфолейкозом на поверхности лимфоцитов в 20 раз увеличена плотность экспонирования ConA-эпитопов, в 10 раз - UEAI- и SNA-положительных эпитопов; плотности MAA II-эпитопов, Tn- и CD43-антигенов были увеличены в 100 раз ($p < 0,01$). После COP-терапии плотность экспонирования MAA II-, Tn- и CD43-положительных эпитопов на плазматической мембране лимфоцитов больных хроническим лимфолейкозом снижалась в 10 раз относительно данных до лечения, однако превышала показатели контрольной группы в 10 раз.

Выводы. На плазматических мембранах лимфоцитов у больных хроническим лимфолейкозом достоверно увеличена плотность экспонирования остатков маннозы и нейраминовой кислоты. COP-терапия уменьшила плотность этих эпитопов до контрольных значений. Показано достоверное повышение плотности маркеров канцерогенеза - Tn- и CD43-антигенов на плазматических мембранах лимфоцитов больных хроническим лимфолейкозом. COP-терапия обеспечила лишь частичное уменьшение их плотности, что свидетельствует о недостаточной эффективности COP-терапии, ее неспособности полностью остановить онкопроцесс у больных хроническим лимфолейкозом.

Ключевые слова: В-клеточный хронический лимфолейкоз, лектины, моно- и поликлональные антитела, мембраны лимфоцитов, плотность экспонирования гликановых эпитопов.

UDC 616.831-006.5: 616.15:576.32/36

Glycobiom Lymphocytes Surface Study of Patients with B-Cell Chronic Lymphocytic Leukemia

Maslak G. S., Chernenko G. P., Abramov S. V., Pismenetska I. Yu., Davydenko I. V., Lushnya L. M., Makarets M. F.

Abstract. The purpose of the study was to investigate the intensity of exposure of peripheral blood lymphocyte surface glycans in patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia by measuring the density of lectin- or antigen-positive epitopes under antitumor therapy in order to evaluate it for a more reasonable selection of qualitative and quantitative composition of therapy.

Materials and methods. The objects of the study were blood lymphocytes of patients with chronic lymphocytic leukemia ($n=15$) aged 58-66 years before and after a course of standard chemotherapy according to the COP scheme. The control group consisted of healthy volunteers ($n=15$) aged 55 to 65 years. Isolation of lymphocytes was performed by a modified method of A. Boyum. Polyclonal antibodies to α 1-acid glycoprotein and fibronectin were used. Exposure to Tn antigen and CD43 on blood lymphocytes was determined with secondary antibodies to mouse immunoglobulins conjugated to FITC (Millipore, USA). To study the exposure of glycans on the surface of lymphocytes, we used a set of seven lectins labeled with FITC. Data recording was performed on a Beckman Flow Cytometer EPICS flow cytometer. Processing of the results was done using the program FCS3 Express.

Results and discussion. Compared with the group of hematologically healthy donors on the surface of lymphocytes in patients with chronic lymphocytic leukemia, a 20-fold increase in the density of exposure to ConA epitopes, 10 times – UEAI- and SNA-positive epitopes were shown; MAA II epitope, Tn, and CD43 antigen densities were increased 100-fold ($p < 0.01$). Exposure densities of MAA II-, Tn-, and CD43-positive epitopes on the plasma membrane of lymphocytes in patients with chronic lymphocytic leukemia receiving alkylation therapy decreased 10-fold relative to treatment data, but remained 10-fold higher than in the group of healthy hematologists.

Conclusion. On the plasma membranes of lymphocytes in patients with chronic lymphocytic leukemia, the density of exposure of mannose and neuraminic acid residues was significantly increased. COP therapy reduced the density of these epitopes to control values.

A significant increase in the density of carcinogenesis markers – Tn- and CD43-antigens on the plasma membranes of lymphocytes in patients with chronic lymphocytic leukemia has been shown. COP therapy provided only a partial decrease in their density, which indicates the insufficient effectiveness of COP therapy, its inability to completely stop the oncological process in patients with chronic lymphocytic leukemia.

Keywords: B-cell chronic lymphocytic leukemia, lectins, mono- and polyclonal antibodies, lymphocyte membranes, exposure density of glycan epitopes.

ORCID and contributionship

Ganna S. Maslak : 0000-0003-3573-8606 ^{A,B,D,F}

Galina P. Chernenko : 0000-0001-9340-6269 ^{A,D,E,F}

Sergey V. Abramov : 0000-0002-7088-1865 ^{A,C}

Iryna Yu. Pismenetska : 0000-0002-5223-0903 ^{C,E}

Inna V. Davydenko : 0000-0002-9231-5194 ^{B,C,E}

Leonid M. Lushnya : 0000-0002-9058-5801 ^{C,E}

Nikolay F. Makarets : 0000-0002-5271-5791 ^{B,C}

A – Work concept and design, B – Data collection and analysis,
C – Responsibility for statistical analysis, D – Writing the article,
E – Critical review, F – Final approval of the article

CORRESPONDING AUTHOR

Galina P. Chernenko

Dnipro Medical Institute Traditional and Non-traditional Medicine

Department of Fundamental Disciplines

17, Sevastopolskaya St., Dnipro 49001, Ukraine

tel: +380968169694, e-mail: golem0104@gmail.com

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.

Стаття надійшла 03.11.2021 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування