



УДК 616.155.191-008.853:577.218:577.112

Г. С. Маслак¹, І. В. Машейко¹, А. О. Кулініч¹,
Т. П. Ніколаєнко-Камишова², О. З. Бразалук¹, А. І. Шевцова¹

ПЕРЕРОЗПОДІЛ ПОПУЛЯЦІЙ ЛЕЙКОЦИТІВ ЗА ЕКСПРЕСІЄЮ ФІБРОНЕКТИНУ ТА АЛЬФА-1-КИСЛОГО ГЛІКОПРОТЕЇНУ ПРИ ЕРИТРЕМІЇ

¹Дніпропетровська державна медична академія,

² КЗ «Міська багатопрофільна клінічна лікарня № 4», Дніпропетровськ

Вступ

Альфа-1-кислий глікопротеїн (АГП) і фібронектин (ФН) – білки плазми крові, що синтезуються переважно гепатоцитами і виконують різні функції. Перший — гострофазовий білок, є імуномодулятором і транспортує гідрофобні ліганди [1]. Другий має широкий спектр біологічної активності, здатен зв'язуватися з рецепторами клітин, гепарином, колагеном та забезпечувати елімінацію імунних комплексів [2]. Останнім часом з'явилися дані стосовно того, що обидва глікопротеїни можуть синтезуватися окремими клітинами крові [3], але популяційний поліморфізм лейкоцитів за розподілом цих білків не вивчався. Втім, проліферативні захворювання крові характеризуються не тільки змінами кількості клітин крові, а також зміною експресії окремих білків [4].

Метою роботи було дослідження змін концентрації ФН та АГП у крові та розподілу популяцій лейкоцитів за експресією даних білків при еритремії.

Матеріали та методи дослідження

Рівень ФН і АГП визначали в плазмі здорових донорів (n=12) і хворих на еритремію (n=12) методом імунодоту з використанням поліклональних кролячих антитіл до ФН й АГП і подальшою обробкою за допомогою програми GelPro-Analyser. 32. Розподіл клітин за локалізацією АГП визначали методом проточної цитофлуориметрії з використанням поліклональних антитіл до АГП (Life Span Biosciences, USA) та вторинних антитіл, мічених фікоеритрином (Santa Cruz, USA). Одночасно визначали локалізації ФН, використовуючи моноклональні антитіла до матричного ФН (AbD Serotec, UK) та антитіла до імуноглобулінів миші, що кон'юговані з ізотіоціанатом флуоресцеїну (Millipore, USA). Пермеабілізацію клітин проводили розчином 0,025 % дигітоніну (Fluka, Швеція). Статистичну обробку даних здійснювали за допомогою програми Statistics 6.0.

Результати дослідження та їх обговорення

Рівень АГП і ФН у плазмі крові за норми становив $(0,842 \pm 0,039)$ і $(0,325 \pm 0,015)$ г/л відповідно. У хворих на еритремію концентрація цих глікопротеїнів зменшувалася до $(0,620 \pm 0,064)$ та $(0,241 \pm 0,013)$ г/л. Співвідношення ФН/АГП практично не змінювалось і становило 0,386 у нормі та 0,389 при еритремії.

Розподіл лейкоцитів за наявністю АГП і ФН при еритремії відрізнявся від норми. Так, при еритремії визначалося зменшення кількості клітин з поверхневою та внутрішньоклітинною локалізацією АГП: гранулоцитів — на 68,53 та 26,06 %, моноцитів — на 24,96 та 64,74 %, лімфоцитів — на 13,36 та 31,9 % відповідно. Інша картина спостерігалася при вивченні розподілу клітин крові, що містять ФН. При еритремії зареєстровано лише збільшення кількості лімфоцитів з поверхнево-асоційованим (на 31,39 %) та внутрішньоклітинним ФН (на 45,24 %), кількість



інших клітин практично не змінювалася (таблиця).

Рівень АГП і ФН змінюється при різних захворюваннях і не корелює з типом патологічного процесу. Більш інформативним є співвідношення концентрацій ФН/АГП, але згідно з нашими дослідженнями, при еритремії воно практично не відрізнялось від норми.

Окрім розчинної форми, що циркулює в плазмі, досліджувані глікопротеїни можуть бути асоційованими з клітинами. Відомо, що поверхнево-зв'язаний ФН може посилювати інфільтраційну здатність лімфоцитів і прямо, шляхом зв'язування з рецепторами, чи опосередковано, індукуючи вивільнення стимуляторних цитокінів, стимулювати проліферацію цих клітин. Фібронектин буває ендogenous чи екзогенного походження [5]. Враховуючи, що внутрішньоклітинний ФН може бути лише ендogenous походження, логічно припустити, що при розвитку еритремії збільшується саме здатність лімфоцитів синтезувати ФН й експонувати його на поверхню. Експресія ФН моноцитами та гранулоцитами при еритремії не змінюється.

За нашими даними, при еритремії достовірно знижувалася кількість лейкоцитів, які експресують АГП, що може бути наслідком порушення рецепції даного глікопротеїну. Цей факт узгоджується з отриманими іншими авторами даними, що АГП значно пригнічує проліферативну відповідь лімфоцитів периферичної крові людини на фітогемаглютинін L та конканавалін А [6].

Отже, при еритремії експресія ФН й АГП лімфоцитами спрямована на стимуляцію проліферації даних клітин. Роль змін ФН і АГП в інших популяціях лейкоцитів за умов проліферативних захворювань

Розподіл популяцій лейкоцитів за експресією фібронектину і альфа-1-кислого глікопротеїну, $M \pm m$, %

Досліджуваний глікопротеїн	Локалізація	Популяція клітин	В нормі	При еритремії
ФН	На поверхні клітин	Лімфоцити	66,89±3,22	98,28±0,43***
		Моноцити	98,13±0,64	91,10±6,20
		Гранулоцити	98,63±0,99	99,83±0,12
	Всередині клітин	Лімфоцити	53,98±1,92	99,22±0,15***
		Моноцити	93,45±1,96	96,63±2,12
		Гранулоцити	95,47±3,69	99,16±0,50
АГП	На поверхні клітин	Лімфоцити	14,87±1,56	1,51±0,17***
		Моноцити	78,98±4,84	54,02±6,13*
		Гранулоцити	95,96±0,74	27,43±2,20**
	Всередині клітин	Лімфоцити	32,55±2,11	0,65±0,16*
		Моноцити	97,66±1,24	32,92±1,66**
		Гранулоцити	96,13±3,25	70,07±5,60***

Примітка. * — вірогідна різниця порівняно з контролем при $P < 0,05$; ** — $P < 0,01$; *** — $P < 0,001$.

крові потребує подальших досліджень.

Слід відзначити, що коефіцієнт клітинного співвідношення ФН/АГП при еритремії значно відрізнявся від норми і становив 51,99 для лімфоцитів із поверхневою експресією досліджуваних глікопротеїнів (у нормі — 4,7) та 132,14 — із внутрішньоклітинною локалізацією (в нормі — 1,67). Отже, співвідношення лімфоцитів за локалізацією ФН і АГП може бути використане в діагностиці та моніторингу еритремії.

Висновки

1. Концентрація ФН й АГП у крові при еритремії знижується, але їх співвідношення не відрізняється від норми.

2. Кількість лімфоцитів з поверхневою та внутрішньоклітинною локалізацією ФН зростає, а кількість лімфоцитів, гранулоцитів і моноцитів, що експресують АГП, знижується при еритремії.

3. Співвідношення лімфоцитів за локалізацією ФН і АГП може бути використане в

діагностиці та моніторингу еритремії.

ЛІТЕРАТУРА

1. α_1 -Acid glycoprotein modulates apoptosis in bovine monocytes / F. Ceciliani, V. Pocatqua, M. Alba [et al.] // *Veterinary Immunology and Immunopathology*. — 2007. — Vol. 116. — P. 145–152.
2. Schmidt D. The interrelated role of fibronectin and interleukin-1 in biomaterial-modulated macrophage function / D. Schmidt, W. Kao // *Biomaterials*. — 2007. — N 3. — P. 371–382.
3. Acute phase protein response in an experimental model of ovine caseous lymphadenitis / P. Eckersall, F. Lawson, L. Bence [et al.] // *BMC Veterinary Research*. — 2007. — N 35. — P. 1746–1750.
4. Voccaccio C. A functional role for hemostasis in early cancer development / C. Voccaccio, P. Comoglio // *Cancer Research*. — 2005. — N 65. — P. 8579–8582.
5. Fibronectin on activated T lymphocytes is bound to gangliosides and is present in detergent insoluble microdomains / S. Blum, F. Hug, G. Hänsch, C. Wagner // *Immunology and Cell Biology*. — 2005. — N 83. — P. 167–174.
6. McEver R. Role of selectins in leukocyte adhesion to platelets and endothelium / R. McEver // *Annals of the New York Academy of Sciences*. — 1994. — Vol. 714. — P. 185–189.

