

УДК 616.155.392-097:615.277

Вплив протипухлинної терапії на експонування Tn-антигену на мембранах лейкоцитів хворих на лейкози

Г.С. Маслак

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», Дніпропетровськ, Україна

Проаналізовано експонування Tn-антигену на поверхні лімфоцитів, моноцитів і гранулоцитів у групах хворих на мієлопроліферативні захворювання: еритремію, сублейкемічний мієлоз і у хворих із хронічним лімфолейкозом. Оцінено вплив цитостатичних терапій за схемами: COP (циклофосфамід, вінкрисдин, преднізолон) та FC (комбінація флударабіну із циклофосфамідом) на інтенсивність експонування Tn-антигену під час лікування хворих на хронічний лімфолейкоз. Цей вуглеводний антиген не виявлено на поверхні клітин крові (лімфоцитів, моноцитів, гранулоцитів) у хворих на еритремію та сублейкемічний мієлоз. За допомогою проточної цитометрії ідентифіковано Tn-антиген на поверхні понад 80% лімфоцитів, показано значне (в 100 разів) зростання інтенсивності його експонування на цих клітинах за хронічного лімфолейкозу. Після лікування таких хворих за схемами COP та FC виявлено зниження кількості лімфоцитів із поверхневим Tn-антигеном до $28,1 \pm 0,8$ % та до $9,5 \pm 0,5$ %, відповідно. Показано позитивний вплив цитотоксичних терапій, використаних у лікуванні хворих на хронічний лімфолейкоз, на інтенсивність експонування Tn-антигену на поверхні лімфоцитів. Більш дієва щодо зниження кількості поверхневого Tn-антигену під час лікування хронічного лімфолейкозу терапія комбінацією флударабіну з циклофосфамідом.

Ключові слова: Tn-антиген; лімфоцити; цитостатична терапія; хронічний лімфолейкоз

Effect of anticancer therapy on Tn antigen exposure on the leucocyte membranes in patients with leukemia

G.S. Maslak

State Institution "Dnipropetrovsk Medical Academy", Dnipropetrovsk, Ukraine

Tn-antigen (Thomsen-nouvelle antigen) is tumor-associated carbohydrate antigen with only one GalNAc residue attached to serine or threonine of polypeptide chain. There is not enough data about the expression of this glycotope in hematologic processes. But the correlations between increasing Tn-antigen expression on the cell surface and tumor growth progression, invasion, and activation of cell migration are well known. Therefore, the currently important area of modern research is studying of the impact of anticancer therapy by expression of this carbohydrate antigen in the onco-proliferative process. There are two types of cytostatic therapies in clinical hospitals of Ukraine: COP-therapy (cyclophosphamide, vincristine, prednisone) and FC-therapy (fludarabine, cyclophosphamide), which are the most popular due to their effectiveness and low price. The aim of our study was to investigate Tn-antigen exposure on the surface of lymphocytes, monocytes and granulocytes in polycythemia vera and subleukemic myelosis; to examine the influence of COP- and FC-therapies on Tn-antigen exposition in patients with chronic lymphocytic leukemia. The objects of the study were blood cells of patients with chronic lymphocytic leukemia (n = 25), polycythemia vera (n = 15) and subleukemic myelosis (n = 15) aged 58–66 years. Healthy hematologic volunteers (n = 15) aged 55 to 65 years were in the control group. Lymphocytes of patients with chronic lymphocytic leukemia (n = 25) were also studied after the chemotherapy treatment of patients divided into two groups: those who took COP-therapy (n = 13); and those who treated with FC-therapy (n = 12). Tn-antigen exposure on lymphocytes, monocytes and granulocytes was investigated by Beckman Coulter EPICS flow cytometer with primary monoclonal Tn-antigen antibodies (Institute of Immunology, Moscow, Russia) and secondary fluorescein isothiocyanate labeled antibodies (Millipore, USA). The number of dead cells was monitored by binding them with propidium iodide. The result was analyzed with FC Express. According to our data, Tn-antigen exposure was not detected on the surface of blood cells (lymphocytes, monocytes and granulocytes) in the control group and in patients with polycythemia vera and subleukemic myelosis. Nevertheless, Tn-antigen was identified on the surface of more than 80% of lymphocytes in chronic lymphocytic leukemia patients. The intensity of this

*ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», вул. Весела, 30, Дніпропетровськ, 49024, Україна
State Institution "Dnipropetrovsk Medical Academy", Veselay str., 30, Dnipropetrovsk, 49024, Ukraine
Tel.: +3-099-903-37-22. E-mail: maslak_anna@mail.ru*

tumor-associated antigen exposure on lymphocytes membrane was 100 times higher compared with that in normal lymphocytes. In chronic lymphocytic leukemia patients after COP-treatment the number of lymphocytes with surface Tn-antigen was equal to $28,1 \pm 0,8\%$, and after FC-treatment it decreased to $9,5 \pm 0,5\%$. Moreover, positive effect of cytotoxic therapy used in treatment of patients with chronic lymphocytic leukemia on intensity of Tn-antigen exposure on the surface of lymphocytes was shown. FC-therapy (fludarabine, cyclophosphamide) is more effective; compared with the data prior to this treatment it 40 times reduced the relevant index. Therefore, it can be applied in Ukraine for chemotherapeutic treatment schemes effective against Tn-antigen.

Keywords: Tn-antigen; lymphocytes; cytostatic therapy; chronic lymphocytic leukemia

Вступ

Tn-антиген (Thomsen-nouvelle antigen) – пухлино-асоційований вуглеводний антиген, який являє собою тільки один залишок GalNAc, приєднаний α -зв'язком до серину чи треоніну поліпептидної ланки. Він є основою для подальшого формування O-гліканів у нормі, коли внаслідок добудови вуглеводного ланцюга ця послідовність повністю маскується. За умов розвитку пухлин такі процеси значно порушуються або блокуються (Springer, 1984), а Tn-антиген ідентифікований та охарактеризований як один із найспецифічніших пухлино-асоційованих структур на поверхні патологічних клітин у майже 90% видів раку молочної та підшлункової залози, легенів і простати (Freire and Osipaga, 2003). Відносно експресії цього глікотопу під час онкогематологічних процесів літературних даних недостатньо. З одного боку, відомо, що за хронічного лімфолейкозу (ХЛЛ) – онкологічного захворювання лімфатичної тканини, підвищується експресія Tn-антигену на поверхні В-лімфоцитів (Libisch et al., 2014). З іншого – цей пухлино-асоційований вуглеводний антиген гетерогенно експресується тільки на клітинах Рід-Штернберга за лімфоми Ходжкіна, та дуже незначною мірою в разі інших онкогематологічних захворювань, у тому числі на В-хронічний лімфолейкоз (Lawrie et al., 2006). Отже, питання щодо експонування цього глікотопу на лейкоцитах при ХЛЛ залишається нез'ясованим. Слід зазначити, що дослідження лейкозів в основному сконцентровані на виявленні Tn-антигену на поверхні клітин пухлинного клону, не беручи до уваги інші клітинні лінії. Відтак, за літературними даними, при мієлолейкозах вуглеводний та ліпідний обмін лімфоцитів змінюється, знижується їх антиоксидантний захист (Savchenko et al., 2008). Нині зовсім відсутні дослідження саме цих клітин за еритремії (Polycythemia vera) та сублейкемічного мієлозу, які характеризуються надмірним формуванням клітин мієлоїдного ростку (Lakey et al., 2010).

Відомий факт кореляції експонування Tn-антигену на поверхні клітин із прогресуванням росту пухлин, активацією процесів клітинної міграції, інвазії та ухилення її від впливу імунної системи хворої людини. Тому важливим сучасним напрямом досліджень є вивчення впливу протипухлинної терапії на експонування цього вуглеводного антигену (Li et al., 2009). У клінічних лікарнях України застосовується протипухлинна терапія COP (циклофосфамід, вінкрисин, преднізолон), яка є однією з найпоширеніших завдяки її ефективності та невеликій вартості, та комбінація флударабіну з циклофосфамідом (FC-терапія) – антиметаболітна терапія на клітини пухлинного клону більш високої дії, ніж COP терапія (Flinn et al., 2007). За попередніми даними, отриманими в нашій лабораторії, комбінована

COP терапія може впливати на експонування альфа-1-кислого глікопротеїну, а саме знижувати його кількість на поверхні лейкоцитів за умов ХЛЛ порівняно з групою гематологічно здорових донорів (Maslak et al., 2014). Враховуючи викладене вище, метою роботи було дослідити вплив COP та FC терапії на експонування Tn-антигену за ХЛЛ, з'ясувати наявність цього глікотопу на поверхні лімфоцитів, моноцитів і гранулоцитів при мієлолейкозі (еритремія та сублейкемічний мієлоз).

Матеріал і методи досліджень

Об'єкт дослідження – клітини крові хворих на хронічний лімфолейкоз ($n = 25$), еритремію ($n = 15$) та сублейкемічний мієлоз ($n = 15$) віком 58–66 років. Контрольну групу становили гематологічно здорові волонтери ($n = 15$) віком 55–65 років. Лімфоцити групи хворих на хронічний лімфолейкоз ($n = 25$) також досліджували після призначення хворим курсу комплексної поліхіміотерапії та поділу їх на дві групи: тих, які приймали ліки за програмою COP ($n = 13$), та тих, які проходили лікування за схемою FC ($n = 12$).

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

Виділення лімфоцитів із гепаринізованої крові (20–25 ОД гепарину на 1 мл крові) робили за модифікованим методом А. Воуям (1976), заснованим на седиментації клітин у градієнті густини фікол-урографіну ($\rho = 1,077$ г/мл) (Kovalchuk et al., 2010). Для цього у центрифужну пластикову пробірку наливали 2–3 мл градієнта густини, на нього нашаровували 4–6 мл відстояної попередньо розведеної удвічі у фізіологічному розчині плазми та верхній шар еритроцитів. Пробірки центрифугували упродовж 40 хв із прискоренням 200 g за кімнатної температури. Інтерфазне кільце з лімфоцитів відбирали у суху конічну центрифужну пробірку. Отриману суспензію клітин двічі відмивали в забуференому фізіологічному розчині (ЗФР) таким чином: до суспензії лімфоцитів додавали 3–4 мл ЗФР, уміст пробірки ретельно перемішували та центрифугували з прискоренням 200–300 g за кімнатної температури, потім рідину над осадом відбирали. Після відмивання клітини ресуспендували у ЗФР, підраховували їх кількість у камері Горяєва. Життєздатність клітин (понад 90%) визначали за допомогою триптанового синього та готували робочу концентрацію лімфоцитів (300 тис./мл у кожному зразку). Клітини крові для аналізу розподілу фракцій лейкоцитів готували таким чином: проводили лізис еритроцитів за допомогою розчину OptiLyse C (Beckman Coulter, USA), фіксацію клітин 8% параформальдегідом.

Локалізацію Тп-антигену у перелічених фракціях клітин крові визначали методом проточної цитофлуориметрії з використанням моноклональних антитіл до Тп-антигену (Інститут імунології, Москва, Росія) та вторинних антитіл до імуноглобулінів миші, кон'югованих із флуоресцеїн-ізоціанатом – ФІТЦ (Millipore, USA). Кількість мертвих 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.

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою пакета програм Statistica 6.0. Достовірність відмінностей у групах порівняння встановлювали з використанням t-критерію Стюдента.

Результати та їх обговорення

Першим етапом роботи було дослідження перерозподілу лейкоцитів (лімфоцитів, моноцитів, гранулоцитів) за експонуванням на їх поверхні Тп-антигену у гематологічно здорових донорів та в усіх групах хворих з онкопроліферативними порушеннями. Зв'язування з антитілами до цього пухлино-асоційованого вуглеводного антигену було відсутнє на досліджуваних клітинах у групах хворих на еритремію та сублейкемічний мієлоз та в контрольній групі. Тп-антиген виявлено тільки на поверхні мембран лімфоцитів у групі хворих на ХЛЛ, які уперше звернулись до лікарні (табл.).

Таблиця

Кількість лейкоцитів крові з поверхневою локалізацією Тп-антигену у хворих на еритремію, сублейкемічний мієлоз і хронічний лімфолейкоз до та після проходження поліхіміотерапевтичного лікування (додатково показано інтенсивність експонування досліджуваного антигену)

| Група | Моноцити | Гранулоцити | Лімфоцити | |
|---|-------------|-------------|---------------|---|
| Еритремія, n = 15 | не виявлено | не виявлено | не виявлено | не виявлено |
| Сублейкемічний мієлоз, n = 15 | не виявлено | не виявлено | не виявлено | не виявлено |
| Хронічний лімфолейкоз до лікування, n = 15 | не виявлено | не виявлено | 82,09 ± 8,00 | інтенсивність експонування вища у 100 разів ^{°°} |
| Хронічний лімфолейкоз після СОР-лікування, n = 15 | не виявлено | не виявлено | 9,50 ± 0,50** | інтенсивність експонування вища удесятеро [°] |
| Хронічний лімфолейкоз після ФС-терапії, n = 15 | не виявлено | не виявлено | 28,07 ± 0,80* | інтенсивність експонування вища удвічі [°] |

Примітки: * – вірогідна різниця порівняно з групою хворих на ХЛЛ до лікування за $P < 0,05$, ** – $P < 0,01$; ° – вірогідна різниця порівняно з контрольною групою за $P < 0,05$, °° – $P < 0,01$.

Для другого етапу дослідження проведено виділення лімфоцитів тільки у хворих на ХЛЛ до лікування та у групах цих хворих після терапії за схемами СОР та ФС. За даними проточної цитофлуориметрії кількість лімфоцитів, яка взаємодіяла з Тп-антигеном у хворих на ХЛЛ до проходження поліхіміотерапевтичного лікування, складала 82,1 ± 8,0%. У групі хворих на ХЛЛ після проведення лікування за схемою СОР кількість лімфоцитів із поверхневим Тп-антигеном складала 28,1 ± 0,8%. Значення цього показника у групі хворих на ХЛЛ, які проходили лікування ФС-терапією, було нижчим порівняно з групою хворих після СОР-лікування ($P < 0,05$) – 9,5 ± 0,5%.

Дослідження інтенсивності експонування Тп-антигену на плазматичній мембрані лімфоцитів показали їх значне та достовірне підвищення у 100 разів ($P < 0,01$) при хронічному лімфолейкозі порівняно з контрольною групою (рис. 1). Ефективнішим відносно зниження цього показника було лікування хворих на ХЛЛ комбінацією флударабіну з циклофосфамідом, яке сприяло нормалізації показника, що був вищим за норму лише в 2,5 раза (рис. 2).

У хворих на ХЛЛ після СОР-лікування показник експонування Тп-антигену на плазматичній мембрані лімфоцитів знижувався у 10 разів порівняно з даними цих хворих до лікування, однак залишився вищим за норму у 10 разів. Отже, цей тип лікування не давав значних результатів відносно зниження інтенсивності експонування Тп-антигену на плазматичній мембрані лімфоцитів хворих на ХЛЛ. Таким чином, поліхіміотерапевтичне лікування хворих на ХЛЛ впливає як на кількість лімфоцитів із поверхневим Тп-антигеном, так на інтенсивність його експонування плазматичній мембрані.

Ми не виявили досліджуваній антиген на моноцитах, гранулоцитах і лімфоцитах, які не є онкогенними за еритремією та сублейкемічним мієлозом, що підтверджує дані відносно його наявності тільки на поверхні клітин пухлинного клону (Freire and Osinaga, 2003). Експресія Тп-антигену (або CD175 антигену) присутня на еритробластних клітинах при гострій еритроїдній лейкемії, яка може розвиватися з еритремії (Blum and Angelillo-Scherrer, 2012). Оскільки хворі, яких ми досліджували, перебували на II стадії цього захворювання та не мали клінічних та біохімічних ознак його злоякісної трансформації, можливо, Тп-антиген на поверхні клітин не було виявлено.

За нашими даними, цей пухлино-асоційований вуглеводний антиген ідентифіковано на поверхні лімфоцитів хворих на хронічний лімфолейкоз. Іншими дослідниками методами імунопреципітації, гістології та проточної цитометрії на поверхні лейкоцитарних клітин виявлено такі вуглеводні структури: Тп-антиген, сіаліл-Тп-антиген та ТF-антиген, які на думку авторів можуть входити до складу глікофінголіпідів та глікопротеїнів мембран клітин, найбільшим серед яких є сіалофорін – CD43 (Cao et al., 2008). Тп-антиген може бути також вуглеводною часткою CD162 та CD45 та протеогліканів, таких як подібний до муцинів синдекан-3 (Akita et al., 2001; Blixt et al., 2012).

Уведення флударабіну (пуринового аналогу) у В-клітинні лінії MEC2 та Raji блокує експресію CD-антигенів на поверхні досліджуваних клітин (Cassano et al., 2010). Механізм дії флударабіну на лейкоцитарні клітинні лінії досить добре вивчений. Він впливає на синтез ДНК та РНК пухлинних клітин, активує протеїнази,

які, у свою чергу, фосфорилують p53, p63 та p73 – чинники, які сприяють експресії генів апоптозу (Christopher et al., 2014). Цей процес супроводжується порушенням фолдингу та посттрансляційної модифікації білків, у тому числі процесів глікозилювання. А оскільки Tn-антиген є O-глікановою часткою CD-антигенів, експресія яких порушується за дії флударабіну (Cassano et al., 2010),

можна припустити, що саме за таким механізмом цей пуриновий аналог викликає зниження експонування Tn-антигену на поверхні лімфоцитів, яке ми отримали в роботі. Ці дані безумовно потребують додаткового підтвердження після проведення експериментів на лейкомічних клітинних лініях, які в літературних джерелах доки відсутні.

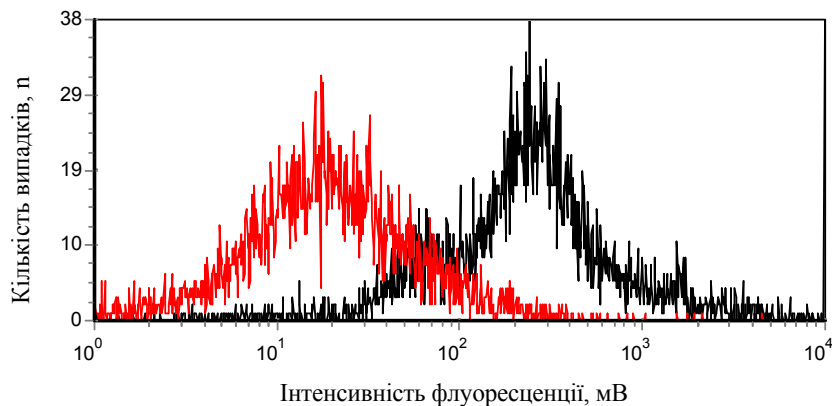


Рис. 1. Інтенсивність флуоресценції антитіл до Tn-антигену на лімфоцитах гематологічно здорового донора (червона лінія) та хворого на хронічний лімфолейкоз до лікування (чорна лінія) за даними проточної цитометрії на Beckman Coulter EPICS

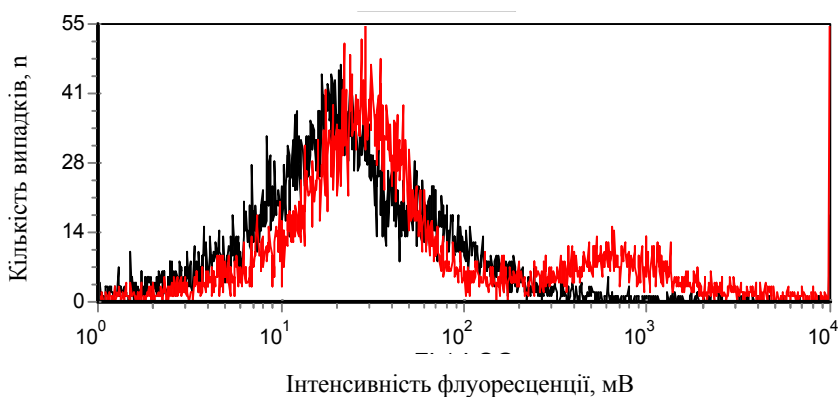


Рис. 2. Інтенсивність флуоресценції антитіл до Tn-антигену на лімфоцитах гематологічно здорового донора (чорна лінія) та хворого на хронічний лімфолейкоз після лікування комбінацією флударабіну із циклофосфамідом – FC-терапією (червона лінія) за даними проточної цитометрії на Beckman Coulter EPICS

Циклофосфамід є алкілувальним препаратом, який чинить цитотоксичну дію та широко застосовується в онкології (Rao et al., 2005). Досліджено вплив циклофосфаміду на пухлинні клітини при різних онкологічних захворюваннях (Kurtenkov et al., 2005). Miles et al. (1996) показано, що попереднє введення циклофосфаміду значно стимулює імунну відповідь та викликає більший ефект специфічних антитіл до Tn- та сіаліл-Tn-антигенів, які потім уводяться хворим на рак молочної залози. А комбінації протипухлинних препаратів за участі циклофосфаміду: ЦМФ (циклофосфамід, метотрексат, фторурацил) та ЦАФ (циклофосфамід, доксорубіцин, фторурацил) стимулюють імунну відповідь на пухлино-асоційовані вуглеводні антигени (TF, Tn та α Gal) у пацієнтів із пухлинами молочної залози. Крім того, перед оперативним лікуванням II–III стадії цієї хвороби внаслідок прийому ад'ювантної терапії за участі циклофосфаміду, високий рівень антитіл до TF-антигену корелює з позитивною динамікою та гарним прогнозом одужання таких хворих. Отже, поліхімотерапевтичні пре-

парати, які містять циклофосфамід, не тільки впливають на експресію Tn-антигену, а і стимулюють імунну відповідь і продукування антитіл до цього O-глікану (Kurtenkov et al., 2005).

У хворих на ХЛЛ під впливом COP- та FC-терапії знижується кількість лімфоцитів, які мають на поверхні Tn-антиген, і значно падає інтенсивність його експонування, що можна пояснити, тим, що до складу обох як основний діючий засіб входить циклофосфамід. А комбінація цього препарату з флударабіном, за нашими даними, має більший ефект у напрямі зниження обох показників.

Tn-антиген бере безпосередню участь у пухлинному процесі, а зниження його експресії на поверхні клітин є одним із завдань сучасної онкології. Нині розроблено нові терапевтичні засоби для лікування ХЛЛ, які поєднують фототерапію та біологічні агенти – комбінація порфірину (TnMPyP) та лектину (Moriga G), які високоафінно зв'язують T- та Tn-антигени на поверхні клітини-носія та призводять до її загибелі (Poignon et al., 2011). Досить дієвими, незважаючи на високу токсичність цикло-

осфаміду, вважаються схеми лікування, основані на комбінації біологічних та цитотоксичних агентів, одним із яких є поєднання циклофосфаміду з антитілами до пухлино-асоційованих вуглеводних антигенів (Pallasch et al., 2014). За нашими даними, поліхіміотерапевтичне лікування за схемами СОР (циклофосфамід, вінкристин, преднізолон) та FC (флударабін, циклофосфамід), яке застосовують для хворих на хронічний лімфолейкоз у клінічних лікарнях України, має позитивний вплив за зниження Tn-антигену на поверхні лімфоцитів.

Висновки

Експонування Tn-антигену на поверхні клітин крові (лімфоцитів, моноцитів, гранулоцитів) у контрольній групі та у хворих на еритремію та сублейкемічний мієлоз не виявлено. При хронічному лімфолейкозі Tn-антиген ідентифікований на поверхні понад 80% лімфоцитів. Інтенсивність експонування цього пухлино-асоційованого вуглеводного антигену на лімфоцитах у 100 разів вища за цей показник у нормі. У групі хворих на хронічний лімфолейкоз після проведення лікування за схемою СОР кількість лімфоцитів із поверхневим Tn-антигеном склала $28,1 \pm 0,8\%$, а після лікування FC-терапією знизилась до $9,5 \pm 0,5\%$. Поліхіміотерапевтичне лікування хворих на хронічний лімфолейкоз за схемами СОР та FC зумовило зниження інтенсивності експонування Tn-антигену на поверхні лімфоцитів. Дієвіша FC-терапія, яка, порівняно з даними до лікування, зменшувала цей показник у 40 разів.

Бібліографічні посилання

- Akita, K., Fushiki, S., Fujimoto, T., Munesue, S., Inoue, M., Oguri, K., Okayama, M., Yamashina, I., Nakada, H., 2001. Identification of the core protein carrying the Tn antigen in mouse brain: Specific expression on syndecan-3. *Cell Struct. Funct.* 26(5), 271–278.
- Blixt, O., Lavrova, O.I., Mazurov, D.V., Cló, E., Kracun, S.K., Bovin, N.V., Filatov, A.V., 2012. Analysis of Tn antigenicity with a panel of new IgM and IgG1 monoclonal antibodies raised against leukemic cells. *Glycobiol.* 22(4), 529–542.
- Blum, S., Angelillo-Scherrer, A., 2012. Block of red blood cell maturation in acute erythroid leukemia. *Blood.* 120(10), 1974.
- Cao, Y., Merling, A., Karsten, U., Goletz, S., Punzel, M., Kraft, R., Butschak, G., Schwartz-Albiez, R., 2008. Expression of CD175 (Tn), CD175s (sialosyl-Tn) and CD176 (Thomsen-Friedenreich antigen) on malignant human hematopoietic cells. *Int. J. Cancer.* 123(1), 89–99.
- Cassano, C., Mactier, S., Mulligan, S.P., Belov, L., Huang, P., Christopherson, R.I., 2010. Cladribine and fludarabine nucleoside change the levels of CD antigens on B-lymphoproliferative disorders. *Int. J. Proteomics.* 5, 2010:964251.
- Christopherson, R.I., Mactier, S., Almazi, J.G., Kohnke, P.L., Best, O.G., Mulligan, S.P., 2014. Mechanisms of action of fludarabine nucleoside against human Raji lymphoma cells. *Nucleos. Nucleot. Nucl.* 33, 375–383.
- Flinn, I.W., Neuberger, D.S., Grever, M.R., Dewald, G.W., Bennett, J.M., Paietta, E.M., Hussein, M.A., Appelbaum, F.R., Larson, R.A., Moore, D.F., Tallman, M.S., 2007. Phase III trial of fludarabine plus cyclophosphamide compared with fludarabine for patients with previously untreated chronic lymphocytic leukemia: US intergroup trial E2997. *J. Clin. Oncol.* 25(7), 793–798.
- Freire, T., Osinaga, E., 2003. Immunological and biomedical relevance of Tn antigen. *Immunologia* 22(1), 27–38.
- Kovalchuk, L.V., Ignatieva, G.A., Ganovskaya, L.V., 2010. *Immunologia: Praktikum [Immunology: Workshop]* Geotar-Media, Moscow (in Russian).
- Kurtenkov, O., Klaamas, K., Rittenhouse-Olson, K., Vahter, L., Sergejev, B., Miljukhina, L., Shljapnikova, L., 2005. IgG immune response to tumor-associated carbohydrate antigens (TF, Tn, alphaGal) in patients with breast cancer: Impact of neoadjuvant chemotherapy and relation to the survival. *Exp. Oncol.* 27(2), 136–140.
- Lakey, M.A., Pardanani, A., Hoyer, J.D., Nguyen, P.L., Lasho, T.L., Tefferi, A., Hanson, C.A., 2010. Bone marrow morphologic features in polycythemia vera with JAK2 exon 12 mutations. *Am. J. Clin. Path.* 133, 942–948.
- Lawrie, C.H., Marafioti, T., Hatton, C.S.R., Dirnhofer, S., Roncador, G., Went, P., Tzankov, A., Pileri, S.A., Pulford, K., Banham, A.H., 2006. Cancer-associated carbohydrate identification in Hodgkin's lymphoma by carbohydrate array profiling. *Int. J. Cancer* 118(12), 3161–3166.
- Li, Q., Anver, M.R., Butcher, D.O., Gildersleeve, J.C., 2009. Resolving conflicting data on expression of the Tn antigen and implications for clinical trials with cancer vaccines. *Mol. Cancer. Ther.* 8(4), 971–979.
- Libisch, M.G., Casás, M., Chiribao, M., Moreno, P., Cayota, A., Osinaga, E., Oppezzo, P., Robello, C., 2014. GALNT11 as a new molecular marker in chronic lymphocytic leukemia. *Gene* 533(1), 270–279.
- Maslak, G.S., Masheiko, I.V., Pasha, N.S., Kaplan, P.Y., Brazaluk, O.Z., 2014. Dinamika zmin rivnay plazmovogo ta asociovanogo iz poverhneyu klitun krovi gastrofazovogo alfa-1-kislogo glikoproteinu za kombinovanoi himioterapii hronichnogo limfoidnogo leukozu [Dynamics of changes in the plasma and associated with the surface of blood cells acute phase alpha 1-acid glycoprotein by combination chemotherapy of chronic lymphoid leukemia]. *Bull. Probl. Biol. Med.* 3(2), 164–169 (in Ukrainian).
- Miles, D.W., Towilson, K.E., Graham, R., Reddish, M., Longenecker, B.M., Taylor-Papadimitriou, J., Rubens, R.D., 1996. A randomised phase II study of sialyl-Tn and DETOX-B adjuvant with or without cyclophosphamide pretreatment for the active specific immunotherapy of breast cancer. *Br. J. Cancer* 74(8), 1292–1296.
- Pallasch, C.P., Leskov, I., Braun, C.J., Vorholt, D., Drake, A., Soto-Feliciano, Y.M., Bent, E.H., Schwamb, J., Iliopoulou, B., Kutsch, N., van Rooijen, N., Frenzel, L.P., Wendtner, C.M., Heukamp, L., Kreuzer, K.A., Hallek, M., Chen, J., Hemann, M.T., 2014. Sensitizing protective tumor microenvironments to antibody-mediated therapy. *Cell* 156(3), 590–602.
- Poiroux, G., Pitié, M., Cullerrier, R., Lafont, E., Ségui, B., Van Damme, E.J., Peumans, W.J., Bernadou, J., Levade, T., Rougé, P., Barre, A., Benoist, H., 2011. Targeting of T/Tn antigens with a plant lectin to kill human leukemia cells by photochemotherapy. *PLoS One* 6(8), e23315.
- Rao, R., Shammo, J.M., Enschede, S.H., Porter, C., Adler, S.S., Venugopal, P., Gregory, S.A., 2005. The combination of fludarabine, cyclophosphamide, and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in the treatment of patients with re-plapsed chronic lymphocytic leukemia and low-grade Non-Hodgkin's lymphoma. *Clin. Lymphoma* 6(1), 26–30.
- Savchenko, A.A., Smirnova, O.V., Manchuk, V.T., 2008. Metabolicheskiy status limfocitov krovi pri chronicheskom mieloleukoze i chronicheskom limfoleukoze [Metabolic status of blood lymphocytes in chronic myeloid leukemia and chronic lymphoid leukemia]. *Med. Immun.* 1, 21–26 (in Russian).
- Springer, G.F., 1984. T and Tn, general carcinoma autoantigens. *Science* 224(4654), 1198–1206.

Надійшла до редколегії 31.08.2014