

УДК 577.112.853+776.314.6
© Коллектив авторов

ПРИМЕНЕНИЕ ФУКОЗОСПЕЦИФИЧНЫХ ЛЕКТИНОВ В ДИАГНОСТИКЕ И ИЗУЧЕНИИ НОВООБРАЗОВАНИЙ.

О.Ю.Прайзель^{1,2}, И.А.Ямсков¹, Р.П.Евстигнеева²

¹Институт элементоорганических соединений им. А.Н.Несмеянова РАН,
119991, Москва, ул.Вавилова, 28

²Московская государственная академия тонкой химической технологии
им.М.В.Ломоносова, 117571, Москва, ул.Вернадского, 86
эл. почта: preiselus@yahoo.com

Рассмотрены вопросы практического применения фукозоспецифичных лектинов в качестве селективных гистохимических маркеров и их диагностическая и прогностическая ценность при различных формах патологии.

Представлена углеводная специфичность наиболее изученных и перспективных в диагностике фукозоспецифичных лектинов, приведены примеры их применения в изучении закономерностей дифференцировки и функционирования клетки. Показано, что фукозоспецифичные лектины могут быть полезными диагностическими реагентами в патоморфологических и клинко - лабораторных исследованиях.

Ключевые слова: фукоза, лектины, диагностика, опухолевоассоциированные антигены.

ВВЕДЕНИЕ. Характерным свойством большинства, а, возможно, и всех белков, является их способность специфично и обратимо связываться с различными лигандами [1].

Лектины - это группа белков неиммунного происхождения, обладающих общим свойством обратимо и избирательно связывать углеводы и углеводные детерминанты биополимеров без изменения их ковалентной структуры.

Хотя вопрос о биологической роли лектинов в настоящее время окончательно не решен, по-видимому, специфическое лектин-углеводное узнавание является универсальным молекулярным механизмом, лежащим в основе взаимосвязи и функционирования всех живых систем - от вирусов до человека [2].

Разнообразные возможности практического использования лектинов до конца не изучены. Перспективным оказалось применение меченых лектинов в изучении изменения клеточных мембран и структуры секреторных гликоконъюгатов при патологических процессах [3,4], в том числе злокачественном росте [5,6].

За последние 10 - 15 лет появилось большое число публикаций, на основании которых можно сделать вывод о том, что α -L-фукоза является важным компонентом секреторных гликоконъюгатов и определяет фенотип многих клеточных популяций человека [7-11]. Так как L-фукоза входит в состав многих антигенных детерминант, в том числе антигенов групп крови [12,13] и раковоэмбриональных антигенов [14], экспрессированных при различных онкологических заболеваниях, то изучение фукозоспецифичных лектинов

ФУКОЗОСПЕЦИФИЧНЫЕ ЛЕКТИНЫ В ДИАГНОСТИКЕ

представляет особый интерес в связи с возможностью их использования в исследовании патологии клетки и секреторных углеводных биополимеров.

Целью данного обзора является обсуждение основных характеристик фукозоспецифичных лектинов и возможности их применения в качестве диагностико-прогностических маркеров при заболеваниях человека.

1. Важная роль α -L-фукозы в патологических процессах.

1.1. Антигены групп крови, изменение их экспрессии, ассоциируемое с патологическими трансформациями клетки.

Антигены групп крови относятся к структурным детерминантам углеводов мембранных гликоконъюгатов эритроцитов и ряда других клеток разных индивидуумов. Как и другие хорошо изученные природные углеводсодержащие биополимеры человека, у антигенов групп крови имеется тонкая гетерогенность по углеводному строению, что приводит к появлению большого количества антигенных структур [15]. Фукоза является компонентом H, A и B детерминант АВН(О) групп крови, а также входит в состав так называемых антигенов системы Льюис Le^a , Le^b , Le^x , Le^y (табл.1).

Сейчас стало очевидно, что секреторные гликоконъюгаты и мембранные гликополимеры разных тканей также обладают антигенными детерминантами, сходными с таковыми для антигенов эритроцитов [16-21].

Антигены групп крови экспрессируются на эпителиальных клетках носоглотки, пищевода, желудка, толстой и тонкой кишки, легких, влагалища, где в большинстве случаев происходит первичный контакт с патогенами [22]. Более того, развитие патологического процесса может сопровождаться изменением экспрессии антигенов групп крови [23], что может приводить к образованию ассоциированных с опухолями углеводных антигенов. Так, например, к ассоциированным с опухолями антигенам относят Le^y и Le^b детерминанты, в составе мембранных гликоконъюгатов клеток рака толстой кишки. При развитии карциномы толстой кишки происходит трансформация A и B антигенов гликоконъюгатов эпителиальных клеток, экспрессируемых при нормальном функционировании, в H/ Le^y / Le^b антигенные детерминанты. Для диагностики этого заболевания можно использовать меченые фуколектины, специфичные к H/ Le^y / Le^b эпитопам.

1.2. Проявление фукозосодержащих опухолевых углеводных антигенов на мембранах злокачественных клеток.

Многие ассоциированные с опухолями антигены являются содержащими углеводы биополимерами. Опухолевые углеводные антигены изучаются уже более 30 лет. Их также обозначают как раковоэмбриональные антигены, так как многие из этих антигенов появляются на ранних стадиях развития эмбриона, а также обнаруживаются в молоке и моче беременных. Хакомори разделил опухолевые углеводные антигены на 3 главных класса:

- углеводные производные лактозных цепей тип 1 и тип 2;
- углеводные производные O-связанных муцинов;
- предшественники гликофинголипидов.

Углеводные опухолевые антигены 1 класса включают антигены системы Льюис и их олигомеры (табл. 1). Некоторые из данных антигенов могут быть сульфатированы. Они могут экспрессироваться как на гликофинголипидах, так и на гликопротеинах.

Антигены системы Льюис, а также их сульфатированные, сialiрированные, димерные и полимерные производные могут экспрессироваться раковыми клетками у больных аденокарциномой [5,24], болезнью Ходжкина [25], определенными лейкозами [26], меланомой [27]. Антигены системы Льюис Le^a , Le^y , SLe^a , SLe^y , а так же H-детерминанта, экспрессируются и нормальными клетками, но на раковых клетках чаще встречаются более сложные фукозилированные антигены: сialiрированные димерные антигены системы Льюис ($SdiLe^a$), трифукозилированные антигены системы Льюис ($triLe^y$, $triLe^b$), димерные

Прайзель и др.

Таблица 1. Структура фукозосодержащих антигенов групп крови

Структура	Обозначение
$\begin{array}{c} \text{DGal}\beta 1\text{-3DGlcNAc}\beta 1\text{-R} \\ \text{2} \\ \text{LFuc}\alpha 1 \end{array}$	H тип 1
$\begin{array}{c} \text{DGal}\beta 1\text{-4DGlcNAc}\beta 1\text{-R} \\ \text{2} \\ \text{LFuc}\alpha 1 \end{array}$	H тип 2
$\begin{array}{c} \text{DGlcNAc}\alpha 1\text{-3DGal}\beta 1\text{-3DGlcNAc}\beta 1\text{-R} \\ \text{2} \\ \text{LFuc}\alpha 1 \end{array}$	A тип 1
$\begin{array}{c} \text{DGlcNAc}\alpha 1\text{-3DGal}\beta 1\text{-4DGlcNAc}\beta 1\text{-R} \\ \text{2} \\ \text{LFuc}\alpha 1 \end{array}$	A тип 2
$\begin{array}{c} \text{DGlc}\alpha 1\text{-3DGal}\beta 1\text{-3DGlcNAc}\beta 1\text{-R} \\ \text{2} \\ \text{LFuc}\alpha 1 \end{array}$	B тип 1
$\begin{array}{c} \text{DGlc}\alpha 1\text{-3DGal}\beta 1\text{-4DGlcNAc}\beta 1\text{-R} \\ \text{2} \\ \text{LFuc}\alpha 1 \end{array}$	B тип 2
$\begin{array}{c} \text{DGal}\beta 1\text{-4DGlcNAc}\beta 1\text{-R} \\ \text{3} \\ \text{LFuc}\alpha 1 \end{array}$	Le^x
$\begin{array}{c} \text{DGal}\beta 1\text{-4DGlcNAc}\beta 1\text{-R} \\ \text{2} \quad \text{3} \\ \text{LFuc}\alpha 1 \quad \text{LFuc}\alpha 1 \end{array}$	Le^y
$\begin{array}{c} \text{DGal}\beta 1\text{-3DGlcNAc}\beta 1\text{-R} \\ \text{4} \\ \text{LFuc}\alpha 1 \end{array}$	Le^a
$\begin{array}{c} \text{DGal}\beta 1\text{-3DGlcNAc}\beta 1\text{-R} \\ \text{2} \quad \text{4} \\ \text{LFuc}\alpha 1 \quad \text{LFuc}\alpha 1 \end{array}$	Le^b
$\begin{array}{c} \text{DNeuAc}\alpha 2\text{-3DGal}\beta 1\text{-3DGlcNAc}\beta 1\text{-R} \\ \text{4} \\ \text{LFuc}\alpha 1 \end{array}$	SLe^a
$\begin{array}{c} \text{DNeuAc}\alpha 2\text{-3DGal}\beta 1\text{-4DGlcNAc}\beta 1\text{-R} \\ \text{3} \\ \text{LFuc}\alpha 1 \end{array}$	SLe^x
$\begin{array}{c} \text{DGal}\beta 1\text{-4DGlcNAc}\beta 1\text{-3DGal}\beta 1\text{-4DGlcNAc}\beta 1\text{-R} \\ \text{3} \quad \text{3} \\ \text{LFuc}\alpha 1 \quad \text{LFuc}\alpha 1 \end{array}$	димерный Le^x (diLe^x)
$\begin{array}{c} \text{DNeuAc}\alpha 2\text{-3DGal}\beta 1\text{-4DGlcNAc}\beta 1\text{-3DGal}\beta 1\text{-4DGlcNAc}\beta 1\text{-R} \\ \text{3} \quad \text{3} \\ \text{LFuc}\alpha 1 \quad \text{LFuc}\alpha 1 \end{array}$	SdiLe^x
$\begin{array}{c} \text{DGal}\beta 1\text{-4DGlcNAc}\beta 1\text{-3DGal}\beta 1\text{-4DGlcNAc}\beta 1\text{-R} \\ \text{2} \quad \text{3} \quad \text{3} \\ \text{LFuc}\alpha 1 \quad \text{LFuc}\alpha 1 \quad \text{LFuc}\alpha 1 \end{array}$	Le^y-Le^x

ФУКОЗОСПЕЦИФИЧНЫЕ ЛЕКТИНЫ В ДИАГНОСТИКЕ

антигены системы Льюис (Le^x- Lex, Leb- Lea, Lea- Lea) [28] (табл. 1). Было сделано предположение о взаимосвязи между потерей дифференцировки злокачественными клетками и появлением определенных опухолевых углеводных антигенов [24]. Доказано, что метастатические клетки экспрессируют более сложные углеводные антигены, чем клетки первичной опухоли. По возникновению олигомерных фукозилированных антигенов можно предсказывать ряд злокачественных новообразований [29].

Антигены системы Льюис являются биомаркерами злокачественной неоплазии и могут быть использованы в диагностике и лечении этого заболевания [30]. Антитела к этим антигенам, конъюгированные с токсином, способны связываться с злокачественной клеткой - мишенью, проникать в нее и индуцировать гибель. В настоящее время в некоторых клиниках используют в качестве терапевтического средства для лечения злокачественной неоплазии антитела BR96 против антигена Le^x [31,32].

Фуколиганды мембранных гликоконъюгатов играют важную роль в клеточной адгезии - фактора, важного для метастазирования. Этот факт доказывает то, что уменьшение или увеличение синтеза фуколигандов на поверхности клеток опухоли, соответственно, уменьшает или увеличивает их адгезию и другие свойства, присущие неоплазии.

Для обнаружения фукозосодержащих детерминант гликоконъюгатов клеточной поверхности необходимо совершенствование методов применения фуколектинов и расширение знаний об их тонкой углеводной специфичности.

2. Фуколектины. Распространение, выделение и получение диагностических реагентов. Тонкая углеводная специфичность.

2.1. Скрининг организмов на присутствие в них фукозоспецифичных лектинов.

Хотя лектины обнаруживаются в любой живой системе, концентрация их в различных видах неравномерна. Ряд источников, такие как бактерии, растения, морские организмы содержат большие количества этих белков и могут служить для препаративного получения лектинов. Лектины млекопитающих присутствуют в малых концентрациях и обычно труднодоступны. Однако ценность данных лектинов заключается в том, что они являются селективными маркерами отдельных клеток, а также тканевых структур.

Скрининг новых источников фукозоспецифичных лектинов растительного и животного происхождения остается важной проблемой. Важен так же поиск токсичных лектинов для конъюгации с антителами. Кроме того, скрининг растений на присутствие в них нужных лектинов далеко не исчерпал свои возможности, поскольку в одном и том же источнике (видовом) часто присутствует спектр лектинов. Если раньше искали, в основном, специфичные к моносахаридам лектины, то теперь в центре внимания находятся лектины с олигосахаридной специфичностью, в том числе из ранее охарактеризованных лектинов [33-48].

В таблице 2 представлены данные о фукозоспецифичных лектинах из следующих видов организмов: бактерии, стрептомицеты, аксомицеты, высшие растения, простейшие, моллюски, ракообразные, рыбы, млекопитающие [49-82].

2.2. Выделение фуколектинов и получение диагностических реагентов.

Простым способом обнаружения фуколектинов в биологическом материале является исследование экстракта из этого материала на его способность агглютинировать эритроциты или осаждать фукополисахариды или фукогликопротеины.

Для очистки фукозоспецифичных лектинов обычно используют аффинные сорбенты на основе таких иммобилизованных лигандов, как гликопептиды муцина с анти-Н активностью из слизи оболочки желудка свиньи, β-фукозиламин, фукозосодержащие олигосахариды, фукозилированный бычий сывороточный альбумин, L-фукозилгликозиды и другие [46-48].

В качестве матрицы для ковалентного присоединения используют

традиционные макропористые гидрофильные сорбенты сферон и сепарон, фрактогель 55-65, сефарозу 4 В и 6 В, биогели Р-150 и Р-200, сефадексы G 150-200 и другие.

Следует отметить разнообразие способов получения одних и тех же лектинов в зависимости от выбираемого аффинного сорбента.

Лектины, как обычные белки, также можно выделять традиционными методами: ионообменной хроматографией, гель-хроматографией, однако, выходы существенно ниже, чем при применении аффинной хроматографии.

После аффинной хроматографии полученные препараты лектинов представляют собой, как правило, семейство так называемых изолектинов, различающихся изоэлектрической точкой, рядом физико-химических свойств, а часто и тонкой углеводной специфичностью. С помощью аффинной хроматографии разделить изолектины достаточно сложно, и чаще используют ионообменную хроматографию.

Перспективными источниками фуколлектинов являются отходы сельскохозяйственного производства, такие как зародыши семян, растительные соки, белковые пасты из соков кормовых трав, отжимы масличных семян, отжимы гемолимфы из морских организмов, икра рыб.

Возможен путь отбора мутантных клеток растительного и животного происхождения и, особенно, микроорганизмов (в первую очередь бактерий и грибов) по признаку максимального продуцирования в среду того или иного лектина или группы лектинов.

Для использования лектинов в качестве диагностических реагентов получают их конъюгаты с электронно-плотными метками. В настоящее время используют многочисленные маркеры, представленные ферритином, коллоидным железом, гемоцианином, вирусными частицами, полистирольными, метилметакрилатными, кремневыми микросферами. Широко используются частицы коллоидного золота [83,84].

Другой тип метки представляют гликопротеины - ферменты, в частности, пероксидазы. Для их обнаружения обычно применяют субстраты, продукты окисления которых выявляются в виде электронно-плотных отложений.

2.3. Тонкая олигосахаридная специфичность.

В настоящее время получено достаточное количество фукозоспецифичных лектинов в чистом виде, однако только для немногих образцов изучена тонкая углеводная специфичность, лежащая в основе их взаимодействия с углеводными структурами биополимеров. Именно эта характеристика определяет ценность того или иного лектина и его конкурентоспособность с антителами как гисто- и цитохимического реагента.

Лектины обладают уникальным свойством избирательного связывания с углеводными детерминантами гликопротеинов, гликолипидов и протеогликанов, не вызывая химических превращений, при этом каждый лектин проявляет характерную специфичность взаимодействия с углеводами. К сожалению, еще не для каждого лектина изучена с достаточной полнотой тонкая углеводная специфичность. Это в значительной мере связано с ограниченной доступностью олигосахаридов.

Исследование тонкой специфичности лектина требует наличия коллекции соответствующих олигосахаридов, получаемых либо путем многостадийных синтезов, либо непосредственно из природных источников. При этом для однозначной интерпретации результатов исследования гликопротеинов животных тканей необходимо, чтобы лектин проявлял специфичность к одному антигену и не взаимодействовал с близкими по структуре сахарами.

Далее рассматриваются именно те фукозоспецифичные лектины, для которых изучена тонкая углеводная специфичность, установлена структура взаимодействующих с ними углеводных фукозосодержащих детерминант и применение которых наиболее перспективно.

ФУКОЗОСПЕЦИФИЧНЫЕ ЛЕКТИНЫ В ДИАГНОСТИКЕ

Таблица 2 Фуколектины и фукоагглютинины из различных источников

Источники фуколектинов	Моносахаридная специфичность
Бактерии <i>Aeromonas salmonicida</i> [34] <i>Aeromonas hydrophila</i> [35,36] <i>Pseudomonas aeruginosa</i> – III [37-39] <i>Rhizobium lupini</i> [40] <i>Candida albicans adhesin</i> [41] <i>Streptococcus mutans</i> SR [42,43]	Fuc, Man Fuc, Man, Gal Fuc, Man Fuc Fuc Fuc
Стрептомицеты <i>Streptomyces</i> sp [44,45]	Fuc, Man
Аксомицеты <i>Aleuria aurantia</i> алеурия оранжевая [46] <i>Melastiza chateri</i> Lectin [47] <i>Peziza badia</i> Merat Lectin [48]	 Fuc Fuc Fuc
Высшие растения <i>Griffonia simplicifolia</i> GS IV, семена [49] <i>Galactia tenuiflora</i> , семена [50] <i>Laburnum anagyroides</i> бобовник анагириolistный кора [51] <i>Machaerocereus erica</i> MeAll кактус, сок стеблей [52,53] <i>Sambucus ebulus</i> , бузина, плоды [54] <i>Tetragonolobus purpurea</i> (<i>Lotus tetragonolobus</i>), семена [55-60] <i>Tulipa gesneriana</i> луковица тюльпана [61] <i>Ulex europaeus</i> улекс европейский, семена [62,63] <i>Cytisus multiflorus</i> Lectin I u II, семена [64-66] <i>Erythrina corallodendron</i> Lectin, семена [67,68]	Fuc анти-Н Fuc Fuc анти-Н Fuc Fuc, Man Fuc (анти-Н) анти-Н анти-Н
Простейшие <i>Plasmodium falciparum</i> [69] <i>Plasmodium berghei</i> [70] <i>Plasmodium chabandi</i> [70]	Fuc Fuc Fuc
Источники фуколектинов	Моносахаридная специфичность
Мерозонты <i>Hyprophorus hypothejus</i> Lectin [71]	анти-А, анти-В
Ракообразные <i>Squilla mantis</i> гемолимфа [72] <i>Anticarsia gemmatilis</i> Lectin [73] <i>Horseshoe Crab</i> Lectin [74]	анти-Н Fuc, Lac, Gal анти-Н, анти-А
Рыбы <i>Anguilla anguilla</i> , угорь, сыворотка [75,76] <i>Perca fluviatilis</i> III окунь обыкновенный [77,78] <i>Stizostedion luciperca</i> III, судак обыкновенный [77] <i>Percichthyidae Dicentrarchus labrax</i> лаврак обыкновенный [79]	Fuc Fuc Fuc
Млекопитающие Гепатоциты печени крыс и мышей [80] Эпидермальные клетки Лангерганса человека [81] Конглютинин сыворотки крупного рогатого скота [82]	Fuc Fuc, Man Fuc, Man

Таблица 3. Структура и активность олигосахаридов взаимодействующих с лектином *Lotus tetragonolobus* [57].

Соединение	Название	Концентрация, вызывающая 50% ингибирование (нМ)
$\text{DGal}\beta 1\text{-4DGlcNAc}\beta 1\text{-6R}$ $\text{LFuc}\alpha 1$	Н тип 2 антиген в составе разветвленных N-гликанов	5,5
$\text{DGal}\beta 1\text{-4DGlcNAc}\beta 1\text{-6R}$ $\text{LFuc}\alpha 1$ $\text{LFuc}\alpha 1$	Le ^y антиген в составе разветвленных N-гликанов	16
$\text{DGal}\beta 1\text{-4DGlc}$ $\text{LFuc}\alpha 1$	2'-фукозиллактоза	65
$\text{DGal}\beta 1\text{-4DGlc}$ $\text{LFuc}\alpha 1$ $\text{LFuc}\alpha 1$	лактодифуко-тетраоза	180
$\text{DGal}\beta 1\text{-3DGlcNAc}\beta 1\text{-3DGal}\beta 1\text{-4DGlc}$ $\text{LFuc}\alpha 1$	лакто-N-фукопентаоза I	2000
$\text{DGal}\beta 1\text{-3DGlcNAc}\beta 1\text{-3DGal}\beta 1\text{-4DGlc}$ $\text{LFuc}\alpha 1$ $\text{LFuc}\alpha 1$	лакто-N-дифукогексаоза I	380; (16% ингибирование)
L-Fuc	L- фукоза	5000
$\text{DGal}\beta 1\text{-3DGlcNAc}\beta 1\text{-3DGal}\beta 1\text{-4DGlc}$ $\text{LFuc}\alpha 1$	лакто-N-фукопентаоза II	нет ингибирования при 6000
$\text{DGal}\beta 1\text{-4DGlcNAc}\beta 1\text{-3DGal}\beta 1\text{-4DGlc}$ $\text{LFuc}\alpha 1$	лакто-N-фукопентаоза III	нет ингибирования при 1500
$\text{DGal}\beta 1\text{-4DGlc}$ $\text{LFuc}\alpha 1$	3'-фукозиллактоза	2000; (8% ингибирование)

Наиболее известными и лучше изученными являются препараты семян утесника европейского (*Ulex europaeus*), аспарагуса (*Lotus tetragonolobus*), гриффонии (*Griffonia simplicifolia*), галлактии (*Galactia tenuiflora*), гриба педицы оранжевой (*Aleuria aurantia*) и плазмы морского угря (*Anguilla anguilla*).

В семенах *U. europaeus* находятся три типа лектинов: тип 1, специфичный по отношению к L-фукозе, тип 2, специфичный по отношению к олигомерам N-ацетил-D-глюкозамина и тип 3 специфичный на полилактозаминные цепи ($\text{DGal}\beta 1\text{-4DGlcNAc}$) [62,63,85].

Лектины *U. europaeus* I и *U. europaeus* II являются металлопротеинами, содержащими два атома Ca^{2+} и один атом Zn^{2+} или Mn^{2+} на молекулу, однако только лектин II полностью теряет способность к осаждению углеводов после обработки ЭДТА или кислотами.

ФУКОЗОСПЕЦИФИЧНЫЕ ЛЕКТИНЫ В ДИАГНОСТИКЕ

Таблица 4. Структура и активность олигосахаридов взаимодействующих с лектином *Lotus tetragonolobus* [57].

Соединение	Концентрация, вызывающая полное ингибирование (мМ)		
	LTL-A	LTL-B	LTL-C
L-Fuc	1,6	3,1	3,1
$\begin{array}{c} \text{DGlcNAc}\beta 1\text{-2DMan-OH} \\ \text{LFuc}\alpha 1 \end{array}$	1,5	1,6	3,0
$\begin{array}{c} \text{LFuc}\alpha 1 \\ \text{DGlcNAc}\beta 1\text{-2DMan-OH} \\ \text{DGal}\alpha 1 \end{array}$	1,5	1,2	3,0
$\begin{array}{c} \text{DGal}\beta 1\text{-4DGlc-OH} \\ \text{LFuc}\alpha 1 \end{array}$	1,6	-	-
$\begin{array}{c} \text{DGal}\beta 1\text{-4DGlc-OH} \\ \text{LFuc}\alpha 1 \quad \text{LFuc}\alpha 1 \end{array}$	1,5	2,9	3,0
$\begin{array}{c} \text{LFuc}\alpha 1\text{-3DGlcNAc}\beta 1\text{-2DMan}\alpha 1 \\ \text{DMan-OH} \\ \text{LFuc}\alpha 1\text{-3DGlcNAc}\beta 1\text{-2DMan}\alpha 1 \end{array}$	1,2	-	2,3
$\begin{array}{c} \text{LFuc}\alpha 1 \\ \text{DGal}\beta 1\text{-4DGlcNAc}\beta 1\text{-2DMan}\alpha 1 \\ \text{DMan-OH} \\ \text{DGal}\beta 1\text{-4DGlcNAc}\beta 1\text{-2DMan}\alpha 1 \\ \text{LFuc}\alpha 1 \end{array}$	1,8	-	-
$\begin{array}{c} \text{LFuc}\alpha 1 \\ \text{DGlcNAc}\beta 1 \\ \text{DGal}\beta 1 \\ \text{LFuc}\alpha 1 \\ \text{DGal}\beta 1\text{-4DGlc-OH} \\ \text{DGlcNAc}\beta 1 \\ \text{DGal}\beta 1 \end{array}$	7,9	-	-
$\begin{array}{c} \text{LFuc}\alpha 1 \\ \text{DGlcNAc}\beta 1 \\ \text{DGal}\beta 1 \\ \text{LFuc}\alpha 1\text{-2DGal}\beta 1 \\ \text{DGal}\beta 1\text{-4DGlc-OH} \\ \text{DGlcNAc}\beta 1 \end{array}$	8,7	-	-

Лектин I состоит из трех субъединиц, имеющих молекулярную массу 30-32 кДа каждая, и на одну субъединицу приходится один углеводсвязывающий сайт.

Лектин *U. europaeus* I является гликопротеином с $pI=6,0-6,1$, содержащим 7,2% нейтральных углеводов. Манноза и глюкозамин являются доминирующими моносахаридами, кроме которых также присутствуют фукоза, ксилоза и галактоза. Аминокислотный анализ продемонстрировал присутствие аспарагиновой кислоты, серина и глицина, и в больших количествах триптофана, цистеина, метионина. Было показано, что серин присутствует только на N-конце белка.

Лектин *U. europaeus* I специфичен к олигосахаридам последовательности типа 2 (DGal β 1 - 4DGlcNAc). Лучшим ингибитором его активности является трисахарид Н тип 2 (табл. 1). Добавление второй α -L-фукозы, связанной α 1-3 связью с N-ацетил-D-глюкозамином, уменьшает активность олигосахарида как ингибитора в 2-3 раза (табл. 3).

Из семян *L. tetragonolobus* выделен фукозоспецифичный лектин - металлопротеин, существующий в трех изоформах с молекулярными массами 120 кДа (А), 58 кДа (В) и 117 кДа (С). Активность всех изоформ ингибирует L-фукоза, при этом ее α -аномер в 10 раз эффективнее как ингибитор, чем β -аномер [55-60].

Лектин *L. tetragonolobus*-А (LTL-A) и *L. tetragonolobus*-С (LTL-C) являются тетрамерами, а *L. tetragonolobus*-В (LTL-B) - димером. Все три изолектина имеют разную аффинность к фукозилированным олигосахаридам (табл. 4).

Присутствие двух α -Fuc моносахаридов практически не влияет на активность лектинов. Наличие D-Gal в олигосахаридах тоже не влияет на аффинность, но влияет на температурную чувствительность и на кинетику реакций преципитации.

Определенные дифукозилированные олигосахариды способны образовывать перекрестные связи и осаждать тетрамерные изолектины LTL-A и LTL-C, но не димерный LTL-B.

Биантенные олигосахариды, содержащие Le^x или Le^a тип 2 антигены на невосстанавливающихся концах, являются бивалентными лигандами, в то время как биантенный олигосахарид, содержащий только одну Le^x детерминанту, и моноантенные олигосахариды связываются с LTL, но без осаждения (табл. 4).

Лектины *L. tetragonolobus* взаимодействуют с углеводными детерминантами, обладающими активностью Н-антигена, проявляя специфичность к олигосахаридным цепям антигена Н типа 2 (табл. 1). Замена этой связи на β 1-3 полностью блокирует активность олигосахарида как ингибитора.

Лектин *A. aurantia* представляет собой белок, молекулярная масса которого составляет 72 кДа. Молекула его состоит из двух полипептидных цепей (36 кДа), каждая из которых содержит один углеводсвязывающий сайт.

В молекуле лектина отсутствуют серосодержащие аминокислоты и углеводы, а также нейтральные и аminosахара.

Лектин *A. aurantia* агглютинирует эритроциты человека всех ABO и Le типов [46] (табл. 5).

Лектин *A. aurantia* способен связывать последовательность L-Fuc α 1-3DGlcNAc, которая входит в состав фукозилированных структур гликопептидов мозга и может быть использован для их выделения и изучения.

A. aurantia лектин связывается с Le^a антигенной детерминантой и с последовательностью L-Fuc α 1-6 DGlcNAc β 1-4Asn, в то время как лектины *U. europaeus* I и *L. tetragonolobus* обладают слабой аффинностью к этим гликанам.

Гликаны, в составе которых присутствуют группы антигенов Н тип 1 и тип 2, слабо связываются лектином *A. aurantia*.

При исследовании клеток мышц человека и мыши с миодистрофией Дюшенна на связывание с лектинами *U. europaeus* I, *L. tetragonolobus* и *A. aurantia* наблюдалось четкое связывание с *A. aurantia* лектином.

Лектин IV из семян растения *G. simplicifolia* специфически связывается с антигенными детерминантами Le^b и Le^y (табл. 1) [49].

ФУКОЗОСПЕЦИФИЧНЫЕ ЛЕКТИНЫ В ДИАГНОСТИКЕ

Таблица 5. Структура и активность олигосахаридов, взаимодействующих с лектином *Aleuria aurantia* [46].

Соединение	Название	Концентрация, вызывающая полное ингибирование (мМ)
D-Fuc	D - фукоза	>50
L-Fuc	L - фукоза	0,78
$\begin{array}{c} \text{DGal}\beta 1\text{-4DGlc} \\ \text{2} \\ \text{LFuc}\alpha 1 \end{array}$	2'-фукозиллактоза	1,6
$\begin{array}{c} \text{DGal}\beta 1\text{-4DGlc} \\ \text{3} \\ \text{LFuc}\alpha 1 \end{array}$	3'-фукозиллактоза	3,65
$\begin{array}{c} \text{DGal}\beta 1\text{-3DGlcNAc}\beta 1\text{-3DGal}\beta 1\text{-4DGlc} \\ \text{2} \\ \text{LFuc}\alpha 1 \end{array}$	лакто-N-фукопентаоза I	5,0
$\begin{array}{c} \text{DGal}\beta 1\text{-3DGlcNAc}\beta 1\text{-3DGal}\beta 1\text{-4DGlc} \\ \text{4} \\ \text{LFuc}\alpha 1 \end{array}$	лакто-N-фукопентаоза II	2,5
$\begin{array}{c} \text{DGal}\beta 1\text{-3DGlcNAc}\beta 1\text{-3DGal}\beta 1\text{-4DGlc} \\ \text{2} \quad \text{4} \\ \text{LFuc}\alpha 1 \quad \text{LFuc}\alpha 1 \end{array}$	лакто-N-дифукогексаоза I	5,0

Это гетеродимерный металлогликопротеин, каждая субъединица которого содержит один ион Ca^{2+} , один Mn^{2+} и один углеводсвязывающий сайт.

Фуколектин плазмы угря *A. anguilla* взаимодействует с рядом H-содержащих антигенов (Le^x -H тип 1>H тип 2> Le^b) и распознает Le^a -антигенную детерминанту [75,76].

Лектин семян *G. tenuiflora* связывает H-антиген независимо от несущей последовательности, но не взаимодействует с дифукозилированными антигенами Le^b и Le^y [50].

Перспективным диагностическим реагентом является изолектин икры окуня *Perca fluviatilis* II. Данный фуколектин распознает H-дисахаридную детерминанту в том числе в составе дифукозилированных структур. Наибольшее сродство лектин проявляет к H-типу 1 антигенной детерминанте, не проявляя сродства к нефукозилированным олигосахаридам и к Le^x и Le^a -антигенам, однако связывает Le^b -детерминанту, являющуюся биоспецифическим маркером клеток рака толстой кишки [86,87].

Из коры бобовника золотой дождь (*Laburnum anagyroides*) получен фукозоспецифичный лектин [51]. В составе лектина обнаружено 13,1% углеводов. Для аминокислотного состава характерно высокое содержание серина, треонина, кислых аминокислот и отсутствие цистина и цистеина.

Лектин агглютинирует эритроциты человека, однако наиболее высокий титр наблюдается с эритроцитами H(O), что свидетельствует о специфичности анти-H-данного лектина. Кроме того, выявлены существенные различия титра геммагглютинации с индивидуальными образцами эритроцитов одной и той же группы крови. Например, титр геммагглютинации эритроцитов нулевой группы колебался в пределах 1:32 - 1:512. Эритроциты группы A агглютинировались при титре 1:32 - 1:64, эритроциты группы B - 1:1 - 1:32. Вероятно, дифференцировка эритроцитов в пределах одной группы крови зависит от количества остатков L-фукозы на поверхности эритроцита.

На основании изложенного выше можно заключить, что, используя избирательность отдельных фуколектинов по отношению к определенным концевым углеводным остаткам олигосахаридной цепи, можно определить химическую структуру фукозосодержащих детерминант и их распределение на клеточной поверхности. Важно, что знание углеводной специфичности позволяет избежать эмпирического подхода к применению этих белков для интерпретации результатов на основе химической структуры сахаридов.

3. Применение фукозоспецифичных лектинов в диагностике и изучении новообразований.

Способность к избирательному накоплению в клетках специфических фукозосодержащих гликоконъюгатов сохраняется на всех стадиях эмбрионального и постэмбрионального развития [88]. При этом при дифференцировке различия между отдельными популяциями клеток по составу и топографии рецепторов фукозоспецифичных лектинов возрастают [89]. В связи с этим некоторые фуколектины завоевывают прочные позиции в качестве селективных гистохимических маркеров определенных разновидностей клеток и тканевых неклоточных структур.

Характер гистотопографии рецепторов лектинов зависит от уровня дифференцировки составляющих клеточных популяций и существенно изменяется при патологии [90]. Вместе с тем, динамика тканевых и клеточных фуколигандов подчинена определенным закономерностям [91]. Это позволяет применять лектины в эмбриологических исследованиях, а также в патоморфологической диагностике, в частности, в качестве опухолеспецифических маркеров и для уточнения гистогенеза опухолей [92]. Существенно, что изменения претерпевают фукополимеры в клетках или внеклеточном матриксе в зоне патологического процесса [93]; селективность маркирования других тканевых структур или клеточных популяций, как правило, не изменяется.

Первые результаты по применению лектинов для изучения злокачественно трансформированных клеток получены еще 30 лет назад, однако особенно широкое внедрение лектинов как инструмента исследований патоморфологии отмечается в последние годы. Это обусловлено расширением знаний об олигосахаридной специфичности лектинов.

Используя наборы фуколектинов с различной углеводной специфичностью, можно проследить этапы злокачественной трансформации тканевых и секреторных гликоконъюгатов при различных видах новообразований. В таблице 6 представлена специфичность фуколектинов к углеводсодержащим опухолевоассоциированным антигенам [94-95].

Среди новообразований наиболее детально изучены опухоли пищеварительного аппарата - желудка, тонкой и толстой кишки, поджелудочной железы а также печени.

Показана диагностическая ценность лектинов утесника (*U. europaeus* L) и аспарагуса (*L. tetragonolobus*) при раке толстой кишки и поджелудочной железы [96,97].

Различными исследователями показано, что фукозоспецифичный лектин утесника является селективным гистохимическим маркером эндотелиоцитов человека [98,99]. Клетки большинства опухолей эндотелиального происхождения сохраняют высокое сродство к этому лектину, причем в ряде случаев обнаружение рецепторов лектина утесника служит более постоянным свидетельством эндотелиального генеза опухоли.

Отсутствие в норме рецепторов лектина утесника в печени, костном мозге и лимфатических сосудах предложено использовать для дифференциальной диагностики гемангиом и лимфангиом [100,101].

С помощью лектина утесника L уточнен гистогенез недифференцированных назофарингеальных карцином, диагностируются гипернефромы. При исследовании нефробластом обнаружены существенные изменения в связывании,

ФУКОЗОСПЕЦИФИЧНЫЕ ЛЕКТИНЫ В ДИАГНОСТИКЕ

Таблица 6. Диагностическое применение фуколектинов в патоморфологических исследованиях.

Антиген	Иммуногенность антигена	UEA I [62,63]	LTA A [55-60]	AAL [46,94]	AAA [75,76]	GSL IV [49,95]	GTL [50]	PFL II [86]
Н тип 1	Увеличение экспрессии Н антигена клетками карциномы человека [15].	-	-	+	+++	-	+	+++
Н тип 2		+++	++	++	++	-	+++	-
А	Уменьшение экспрессии А- и В- антигенов коррелируется со степенью метастазирования клеток [15].	-	-	+	*	-	-	+
В		-	-	-	*	+	+	++
Le ^x	Специфический маркер метастатических клеток печени [6].	-	++	++	-	-	+	-
Le ^y	Маркеры раковых эпителиальных клеток толстой кишки [14,15].	+++	+++	++	++	+++	-	*
Le ^b		+	-	++	+++	+++	-	++
Le ^a	Рецептор патогенных микроорганизмов [21].	-	-	+	+	-	-	-
SLe ^x	Маркеры сильно метастазированных раковых клеток карцином легких и толстой кишки человека [93].	-	*	+++	*	*	*	*
diSLe ^a		-	*	+++	*	*	*	*
Fuca1-6 в коровой последовательности	Повышение содержания Fuca1-6 эпитопа в гликоконъюгатах мышц с миодистрофией Дюшенна [94].	-	+	+++	-	*	*	*

Примечания: -отсутствие взаимодействия; + слабое взаимодействие; ++ среднее взаимодействие; +++ сильное взаимодействие; * данные отсутствуют; UEA I - лектин *Ulex europaeus* I; LTA A - лектин *Lotus tetragonolobus* A; AAL - лектин *Aleuria aurantia*; AAA - лектин *Anguilla anguilla*; GSL IV - лектин *Griffonia simplicifolia* IV; GTL - лектин *Galactia tenuiflora*; PFL II - лектин *Perca fluviatilis* II.

что позволило предположить, что в клетках нефробластом имеет место незавершенность конечных этапов биосинтеза углеводсодержащих биополимеров, подобно тому, как это описано при опухолях желудочно-кишечного тракта и мочевого пузыря.

Показано также, что лектин аспарагуса может служить информативным маркером, позволяющим отличать высокодифференцированные почечно-клеточные карциномы (их клетки дают интенсивную реакцию с этим лектином) от низкодифференцированных (*L. tetragonolobus* - ареактивных) [102].

При использовании лектинов в качестве клеточных маркеров необходимо, однако, учитывать, что рецепторы отдельных лектинов, считающихся строго специфичными маркерами определенной популяции клеток, могут встречаться и в составе других клеточных популяций. Так, лектин утесника, признанный многими исследователями селективным гистохимическим маркером эндотелиоцитов человека, проявляет выраженное сродство к эпителиоцитам волосянных фолликулов, а также к гликоконъюгатам, накапливающимся в составе злокачественных клеток при опухолях толстой кишки, печени, почек - новообразованиях не эндотелиального происхождения [103]. Напротив, ряд опухолей эндотелиального генеза, характеризующихся особенно быстрым и агрессивным ростом, способность к связыванию лектина утесника утрачивает.

В завершении целесообразно отметить, что, хотя маркирование лектинами дает возможность выявить начало патологического процесса, максимальной объективности можно достичь, сочетая лектины с моноклональными антителами или другими высокоспецифичными маркерами антигенных детерминант клетки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Анализ предоставленного материала позволяет заключить, что малейшие нарушения в жизнедеятельности клеток неизбежно отражаются на составе и характере распределения рецепторов фуколектинов поверхности клеточных мембран, что служит одним из наиболее ранних и объективных признаков патологии. Применение фукозоспецифичных лектинов обеспечивает получение надежной информации об изменениях состава и свойств гликоконъюгатов клеток и тканей в соответствии с характером и выраженностью многих патологических процессов, позволяет проводить раннюю диагностику ряда важных заболеваний человека, улучшить понимание их механизмов, а в ряде случаев - прогнозирование течения болезни и эффективности ее лечения.

Наиболее ценными и перспективными для диагностических целей фукозоспецифичными лектинами, в настоящее время представляются лектины утесника (*U. europaeus* I), аспарагуса (*L. tetragonolobus*), гриффонии (*G. simplisifolia* IV), галлаксии (*G. tenuiflora*), алеурии оранжевой (*A. aurantia*), морского угря (*A. anguilla*), икры окуня (*P. fluviatilis* II).

Необходимо учитывать, что при ряде заболеваний гистохимические реакции с использованием лектинов по информативности превосходят традиционные методы гистохимии углеводов, а в некоторых случаях лектины являются более чувствительными и стабильными опухолевоспецифичными маркерами, чем моноклональные антитела к антигенным детерминантам клеток.

Актуален вопрос о выпуске препаратов фуколектинов, и также представляет интерес дальнейшее расширение исследований фуколектинов с целью определения их диагностической и прогностической ценности.

ЛИТЕРАТУРА

1. De Wolf F.A., Brett G.M. (2000) Pharmacol.Rev., **52**, 207-236.
2. Franz. H. (1989) Advances in lectin research. Verlag und Gesundheit, Berlin, 2.
3. Tamura K., Manabe N., Uchio K., Miyamoto M., Yamaguchi M., Ogura A., Yamamoto Y., Nagano N., Furuya Y., Miyamoto H. (2000) J.Vet.Med.Sci., **62**, 379-390.
4. Poland D.C., Schalkwijk C.G., Stehouwer C.D., Koeleman C.A., van het Hof B., van Dijk W. (2001) Glycoconj.J., **18**, 261-268.
5. Fernandez-Rodriguez J., Feijoo-Carnero C., Merino-Trigo A., Paez de la Cadena M., Rodriguez-Berrocal F.J., De Carlos A., Butron M., Martinez-Zorzano V.S. (2000) Tumour Biol., **21**, 153-164.
6. Ohkura T., Hada T., Higashino K., Ohue T., Kochibe N., Koide N., Yamashita K. (1994) Cancer Res., **54**, 55-61.
7. Liljeblad M., Ryden I., Ohlson S., Lundblad A., Pahlsson P. (2001) Analyt. Biochem., **288**, 216-224.
8. Moloney D. J., Lin A.I., Haltiwanger R.S. (1997) J. Biol. Chem., **272**, 19046-19050.
9. Brown G.M. (1996) Biochem.J., **319**, 137-141.
10. Schroter S., Derr P., Conradt H.S., Nimtz M., Hale G., Kirchhoff Ch. (1999) J. Biol. Chem., **274**, 29862-29873.
11. Smalla K.H., Angenstein F., Richter K., Gundelfinger E.D., Staak S. (1998) Membrane Biochem. Biophys., **9**, 813-817.
12. Finne J., Breimer M.E., Hansson G., Karlsson K.A., Leffler H., Vliegthart J.F.G., van Halbeek H. (1989) J. Biol. Chem., **264**, 5720-5735.
13. Mollicone R., Caillard T., Le Pendu J., Francois A., Sansonetti N., Villaroya H., Oriol R. (1988) Blood, **71**, 1113-1119.
14. Feizi T., Childs R.A. (1985) Trends in Biochem.Sci., **10**, 24-29.
15. S. Hakomori S. (1999) Biochim. Biophys. Acta., **1473**, 247-266.

ФУКОЗОСПЕЦИФИЧНЫЕ ЛЕКТИНЫ В ДИАГНОСТИКЕ

16. Madrid J.F., Leis O., Diaz-Flores L., Hernandez F. (1998) *Histochem. Cell. Biol.*, **110**, 295-301.
17. Matsui T., Fujimura Y., Nishida S., Titani K. (1993) *Blood*, **82**, 663-668.
18. Amerongen A.V.N., Bolscher J.G.M., Veerman E.C.I. (1995) *Glycobiology*, **5**, 733-740.
19. Irimura T., Denda K., Iida S., Takeuchi H., Kato K. (1999) *J.Biochem.*, **126**, 975-985.
20. Giannasca P.J., Giannasca K.T., Leichtner A.M., Neutra M.R. (1999) *Infect. Immun.*, **67**, 946-953.
21. Ligteneberg A.J., Veerman E.C., Amerongen A.V.N. (2000) *Antonie Van Leeuwenhoek*, **77**, 21-30.
22. Cameron B.J., Douglas L.J. (1996) *Infect. Immun.*, **64**, 891-896.
23. Cordel S., Goupille C., Hallouin F., Meflan K., Le Pendu J. (2000) *International J. Cancer*, **85**, 142-148.
24. Konno A., Hoshino Y., Terashima S., Motoki R., Kawaguchi T. (2002) *Clin. Exp. Metastasis*, **19**, 61-70.
25. Davey F., Elghetany M., Kurec A. (1990) *Am. Clin. Pathol.*, **93**, 17-26.
26. Uchiyama T., Ishikawa T., Imura A. (1995) *Leuk. Lymphoma*, **16**, 407-412.
27. Ravindranath M.H., Amiri A.A., Bauer P.M., Kelley M.C., Essner R., Morton D.L. (1997) *Cancer*, **79**, 1686-1697.
28. Easton E.W., Schiphorst W., van Drunen E., van der Schoot C.E., van den Eijnden D. II. (1993) *Blood*, **81**, 2978-2986.
29. Ohyama C., Tsuboi S., Fukuda M. (1999) *EMBO J.*, **18**, 1516-1525.
30. Ogawa J., Inoue H., Koide S. (1997) *Cancer*, **79**, 1678-1685.
31. Trail P.A., Willner D., Lasch S.J., Henderson A.J., Hofstead S., Casazza A.M., Firestone R.A., Hellstrom I., Hellstrom K.E. (1993) *Science*, **261**, 212-215.
32. Siegall C. (1995) *Semin. Cancer Biol.*, **6**, 289-295.
33. Zenteno E., Vazquez L., Chavez R., Cordoba F., Wieruszeski J.M., Montreuil J., Debray H. (1995) *Glycoconj.J.*, **12**, 699-706.
34. Brooks D.E., Trust T.J. (1983) *J.Gen.Microbiol.*, **129**, 3661-3669.
35. Quinn D.M., Wong C.Y., Atkinson H.M., Flower R.L. (1993) *Infect. Immun.*, **61**, 371-377.
36. Vadivelu J., Puthucheary S.D., Phipps M., Chee Y.W. (1995) *J. Med. Microbiol.*, **42**, 171-174.
37. Gilboa-Garber N., Katcoff D.J., Garber N.C. (2000) *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, **29**, 53-57.
38. Lerrer B., Gilboa-Garber N. (2001) *Can.J.Microbiol.*, **47**, 1095-1100.
39. von Bismarck P., Schneppenheim R., Schumacher U. (2001) *Klin.Padiatr.*, **213**, 285-287.
40. Wisniewski J.P., Monsigny M., Delmotte F.M. (1994) *Biochimie*, **76**, 121-128.
41. Tosh F.D., Douglas L.J. (1992) *Infect. Immun.*, **60**, 4734-4739.
42. Wang J.R., Stinson M.W. (1994) *Infect. Immun.*, **62**, 1268-1274.
43. Soell M., Holveck F., Scholler M., Wachsmann R.D., Klein J.P. (1994) *Infect.Immun.*, **62**, 1805-1812.
44. Kameyama T., Oishi K., Aida K. (1979) *Biochim. Biophys. Acta.*, **587**, 407-414.
45. Matsui I., Oishi K. (1986) *J.Biochem (Tokyo)*, **100**, 115-121.
46. Kochibe N., Furukawa K. (1980) *Biochemistry*, **19**, 2841-2846.
47. Ogawa S., Otta Y., Ando A., Nagata Y. (2001) *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **65**, 686-689.
48. Антонюк В.А. (1997) *Биохимия*, **62**, 841-844.
49. Spohr U., Hindsgaul O., Lemieux R.U. (1985) *Can.J.Chem.*, **63**, 2644-2660.
50. Cromer R., Spohr U., Khare D.P., Le Pendu J., Lemieux R.U. (1992) *Can. J. Chem.*, **70**, 1511-1523.
51. Луцук М.Д., Антонюк В.А. (1982) *Биохимия*, **47**, 1710-1715.
52. Zenteno E., Debray H., Montreuil J. (1988) *FEBS Lett.*, **238**, 95-100.

53. Zenteno E., Vazquez L., Chavez R. (1995) *Glycoconj. J.*, **12**, 699-706.
54. Lalaurie M., Berlan J., Janicot M. (1981) *C.R. Seances Soc. Biol. Fil.*, **175**, 490-495.
55. Du M., Spohr U., Lemieux R. (1994) *Glycoconj. J.*, **11**, 443-461.
56. Ogata S., Kamachi Y., Arita Y., Sato M., Muramatsu T. (1985) *Carbohydrate Res.*, **144**, 297-304.
57. Bhattacharyya L., Fant J., Lonn H., Brewer C.F. (1990) *Biochemistry*, **29**, 7523-7530.
58. Yan L., Wilkins P.P., Alvarez-Manilla G., Do S., Smith D.F., Cummings R.D. (1997) *Glycoconjugate J.*, **14**, 45-55.
59. Cheng W., Bullitt E., Bhattacharyya L., Brewer C.F., Makowski L. (1998) *J. Biol. Chem.*, **273**, 35016-35022.
60. Haselhorst T., Weimar T., Peters T. (2001) *J. Am. Chem. Soc.*, **123**, 10705-10714.
61. Oda Y., Minami K. (1986) *Eur. J. Biochem.*, **159**, 239-245.
62. Yamamoto K., Konami Y., Osawa T., Irimura T. (1992) *J. Biochem.*, **111**, 436-439.
63. Konami Y., Yamamoto K., Osawa T. (1992) *J. Chromatography*, **597**, 213-219.
64. Y. Konami Y., K. Yamamoto K., T. Tsuji T., I. Matsumoto I., T. Osawa T. (1983) *J. Pharmacobiodyn.*, **6**, 737-747.
65. Konami Y., Tsuji T., Toyoshima S., Matsumoto I., Osawa T. (1989) *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, **37**, 729-731.
66. Konami Y., Yamamoto K., Osawa T., Irimura T. (1992) *FEBS Lett.*, **304**, 129-135.
67. Sudakevitz D., Gilboa-Garber N., Levene C., Sela R., Bhattacharyya L. (1991) *Zentralbl. Bakteriologie*, **275**, 343-350.
68. Moreno E., Teneberg S., Adar R., Sharon N., Karlsson K.A., Angstorm J. (1997) *Biochemistry*, **36**, 4429-4437.
69. Carlson J., Wahlgren M. (1992) *J. Exp. Med.*, **176**, 1311-1317.
70. Schrevel J., Philippe M., Bernard F. (1986) *Biol. Cell.*, **56**, 49-55.
71. Veau B., Guillot J., Damez M., Dusser M., Konska G., Botton B. (1999) *Biochim. Biophys. Acta.*, **1428**, 39-44.
72. Amirante G.A., Basso V. (1984) *Dev. Comp. Immunol.*, **8**, 721-726.
73. Pendland J.C., Boucias D.G. (1985) *Dev. Comp. Immunol.*, **9**, 21-30.
74. Inamori K., Saito T., Iwaki D., Nagira T., Iwanaga S., Arisaka F., Kawabata S. (1999) *J. Biol. Chem.*, **274**, 3272-3278.
75. Baldus S.E., Thiele J., Park Y.O., Hanisch F.G., Bara J., Fischer R. (1996) *Glycoconj. J.*, **13**, 585-590.
76. Honda S., Kashiwagi M., Miyamoto K., Takei Y., Hirose Sh. (2000) *J. Biol. Chem.*, **275**, 33151-33157.
77. Krajhanzl A., Horejsi V., Kocourek J. (1978) *Biochim. Biophys. Acta.*, **532**, 215-224.
78. Krajhanzl A., Kocourek J. (1986) *Lectins, Biology, Biochemistry, Clinical Biochemistry*, **5**, 257-275.
79. Topliss J., Rogers D. (1985) *Med. Lab. Sci.*, **42**, 199-200.
80. Lehrman M.A., Haltiwanger R.S., Hill R.L. (1986) *J. Biol. Chem.*, **261**, 7426-7432.
81. Condaminet B., Peguet-Navarro J., Stahl P.D., Dalbiez-Gauthier C., Schmitt D., Berthier-Vergnes O. (1998) *Europ. J. Immunol.*, **28**, 3541-3551.
82. Loveless R.W., Feizi T., Childs R.A., Mizuochi T., Stoll M.S., Oldroyd R.G., Lachmann P.J. (1989) *Biochem. J.*, **258**, 109-113.
83. Hainfeld J.F., Powell R.D. (2000) *J. Histochem. Cytochem.*, **48**, 471-480.
84. Bendayan M. (2001) *Science*, **291**, 1363-1365.
85. Pereira M., Kismilus E. (1978) *Archiv Biochem. Biophys.*, **185**, 108-115.
86. Евстигнеева Р.П., Ямсков И.А., Прайзель О.Ю., Пискарев В.Е. (2003) *Докл. РАН*, **389**, 1-4.
87. Пискарев В.Е., Прайзель О.Ю., Евстигнеева Р.П., Ямсков И.А. (2003) *Прикл. биохим. микробиол.*, **39**, 94-97.

ФУКОЗОСПЕЦИФИЧНЫЕ ЛЕКТИНЫ В ДИАГНОСТИКЕ

88. Caputo M., Infante V., Talevi R., Vaccaro M.C., Carotenuto R., Campanella C. (2001) Mol. Reprod. Dev., **58**, 318-329.
89. Quondamatteo F., Gotz W., Lubben U., Herken R. (1997) Histochem. Cell. Biol., **107**, 223-228.
90. Szumanska G., Krzywicka J. (2001) Folia.Neuropathol., **39**, 81-90.
91. Andersson M., Sevelius E. (2001) Vet.Rec., **148**, 14-17.
92. Elias L., Van Epps D.E. (1984) Blood, **63**, 1285-1290.
93. Delwel R., Touw I., Bot F., Lowenberg B. (1986) Blood, **68**, 41-45.
94. Fukuda M.N., Ohyana C., Lowitz K., Matsuo O., Pasqualini R., Ruoslahti E., Fukuda M. (2000) Cancer.Res., **60**, 450-456.
95. Kirkeby S., Moe D., Bog-Hansen T.C. (1993) Histochem.J., **25**, 619-627.
96. Delbaere L.T.J., Vandonselaar M., Prasad L., Quail J.W., Pearlstone J. R., Carpenter M R, Smillie L.B., Nikrad P.V., Spohr U., Lemieux R.U. (1990) Can. J. Chem., **68**, 1116-1127.
97. Takano Y., Teranishi Y., Terashima S., Motoki R., Kawaguchi T. (2000) Surg. Today., **30**, 1073-1082.
98. Jackson C.J., Garbett P.K., Nissen B., Schrieber L. (1990) J. Cell. Science., **96**, 257-262.
99. Gomez D.E., Yoshiji H., Kim J.C., Thorgeirsson U.P. (1995) Biochem. Biophys. Research. Commun., **216**, 177-182.
100. Spicer S.S., Schulte B.A. (1982) Lab.Invest., **47**, 2-4.
101. Boye E., Yu Y., Paranya G., Mulliken J.B., Olsen B.R., Bischoff J. (2001) J. Clin. Invest., **107**, 745-752.
102. Alirison R.T. (1986) Med. Lab. Sci., **43**, 369-376.
103. De Carlos A., Caride-Castro A., Martinez-Zorzano V.S., De La Cadena M.P., Rodriguez-Berrocal F.J. (2002) Int. J. Oncol., **20**, 367-372.

Поступила 01. 03.2003

FUCOLECTINS IN DIAGNOSTIC AND NEOPLASM INVESTIGATION.

O.Yu. Priesel^{1,2}, I.A. Yamskov¹, R.P. Evstigneeva¹

¹Nesmeyanov Institute of Organoelement Compounds, Russian Academy of Sciences, 28 Vavilov street, Moscow 119991, Russia

²Moscow Institute of Fine Chemical Technology, Moscow 117571, Russia.

Problems of practical application of fucose-binding lectins as selective histochemical markers and their diagnostical and prognostical value under different pathological states are considered. Special attention is paid to carbohydrate specificity of the most investigated and perspective fucoslectins which are already applied in investigation of regularity of cell's functioning and differentiation. It is shown that fucose-specific lectins are useful diagnostic reagents in pathomorphological and clinical investigations.

Key words: fucose, lectins, diagnostic, tumor-differentiation antigens.