

УДК 612.111.44:615.373.34

ПЕРСПЕКТИВЫ ИЗУЧЕНИЯ АГГЛЮТИНАЦИИ ЭРИТРОЦИТОВ, ИНДУЦИРОВАННОЙ ЛЕКТИНАМИ, ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫХ РОДОВ

^{1,2}Циркин В.И., ³Анисимов А.Ю., ⁴Дмитриева С.Л., ⁴Братухина О.А.,
⁵Хлыбова С.В., ²Шушканова Е.Г., ²Марьяна А.В., ²Безмельцева О.М.

¹ГОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ,
Казань, e-mail: tsirkin@list.ru;

²ГОУ ВО «Вятский государственный университет, Мунобра РФ, Киров, e-mail: tsirkin@list.ru;

³ГОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ,
Екатеринбург, e-mail: kuanisimov@mail.ru;

⁴КОГБУЗ «Кировский областной клинический перинатальный центр» Минздрава РФ,
Киров, e-mail: swdmtr09@yandex.ru;

⁵ГОУ ВО «Кировская государственная медицинская академия», Киров, e-mail: svekhlybova@yandex.ru

Цель обзора – привлечь внимания исследователей к использованию лектинов (фитогемагглютининов, ФГА) для диагностики преждевременных родов по характеру фоновой и вызванной (адреналином и другими гормонами) агглютинации эритроцитов. Рассматривается феноменология и механизм агглютинации эритроцитов, антигены эритроцитов и факторы, модулирующие агглютинацию. Дается общее представление о лектинах, их строении, истории открытия, классификации, физиологической роли, в частности об участии эндогенных лектинов в процессах адгезии, репродукции, иммунитете, противоопухолевой защите, в реализации детоксикационной функции и о применении лектинов в клинической и лабораторной практике. Рассматривается способность лектинов вызывать агглютинацию эритроцитов, в том числе с учетом природы источника и групповой принадлежности крови, механизмы агглютинации, индуцируемые лектинами. Охарактеризованы лектины гороха посевного (*Pisum sativum* L.) и фасоли обыкновенной (*Phaseolus vulgaris* L.) в связи с их использованием авторами обзора. Приводятся сведения об изменении агглютинабельности и скорости фоновой и вызванной агглютинации эритроцитов, вызываемой различными способами, в том числе лектинами, у женщин при беременности, при наличии угрозы преждевременных родов (УПР) и родовой деятельности. Авторы заключают, что использование лектин-вызванной агглютинации эритроцитов как доступного и несложного метода исследования повысит точность прогнозирования преждевременных родов.

Ключевые слова: эритроциты, агглютинация, лектины, беременность, роды, угроза преждевременных родов

OUTLOOK STUDY OF ERYTHROCYTE AGGLUTINATION INDUCED LECTIN TO DIAGNOSE OF PRETERM LABOR

^{1,2}Tsirkin V.I., ³Anisimov A.Yu., ⁴Dmitrieva S.L., ⁴Bratuhina O.A., ⁵Hlybova S.V.,
²Shushkanova E.G., ²Maryina A.V., ²Bezmeltseva O.M.

¹Kazan State Medical University, Kazan, e-mail: tsirkin@list.ru;

²Vyatka State University, Kirov, e-mail: tsirkin@list.ru;

³Ural State Medical University, Ekaterinburg, e-mail: kuanisimov@mail.ru;

⁴Kirov Regional Clinical Perinatal Center, Kirov, e-mail: Swdmtr09@yandex.ru;

⁵Kirov State Medical Academy, Kirov, e-mail: svekhlybova@yandex.ru

The purpose of the review – to attract the attention of researchers to the use of lectins (phytohemagglutinins PHA) for the diagnosis of preterm labor in character background and evoked (adrenalin and other hormones) agglutination of erythrocyte. We consider the phenomenology and the mechanism of erythrocyte agglutination, antigens of erythrocyte and factors that modulate erythrocyte agglutination. It provides an overview of lectins, their structure, the history of its opening, classification, physiological role, in particular on the participation of endogenous lectins in adhesion processes, reproduction, immunity, anti-tumor protection in the implementation of deintoxication function and use of lectins in clinical and laboratory practice. We consider the ability of lectins cause agglutination of the erythrocyte, including with regard to the nature and source of blood groups, and mechanisms of agglutination induced by lectins. We characterize lectins of pea (*Pisum sativum* L.) and common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in connection with their use of the review authors. Provides information about changing of agglutinability and speed of the background and the evoked agglutination of erythrocyte caused by a variety of ways, including lectins, in women during pregnancy, in the presence of preterm or term labor. The authors conclude that the use of lectin-induced agglutination of erythrocytes as a available and simple method of research will improve the accuracy of prediction of preterm labor.

Keywords: erythrocytes, agglutination, the lectins, pregnancy, labor, the threat of premature labor

Преждевременные роды (ПР), на долю которых приходится 5–12% от всех родов, являются самой актуальной проблемой акушерства, так как они сопровождаются

высокой перинатальной заболеваемостью и смертностью, высоким уровнем инвалидности детей и подростков и многими другими негативными последствиями для

ребенка [12, 47, 54]. Угроза преждевременных родов (УПР) наблюдается значительно чаще, чем ПР, так как во многих случаях все-таки удается предотвратить переход УПР в начавшиеся ПР [12, 54]. Но, к сожалению, до настоящего времени ежегодно во всем мире преждевременно рождаются до 15 миллионов детей [47]. Поэтому оценка вероятности перехода УПР в ПР, т.е. прогнозирование ПР – одна из актуальных задач, которую сегодня решают отечественные и зарубежные акушеры. Наш обзор посвящен изучению изменения фоновой и/или вызванной (например, адреналином) способности эритроцитов к агглютинации, индуцированной различными способами (сывороточными поликлональными антителами, моноклональными антителами, или цитокинами, лектинами) при неосложненном течении беременности и родов, а также при УПР. При этом, базируясь на представлениях о том, что с самого начала беременности формируется иммунологическая толерантность матери к полуаллогенному плоду, а индукция родов представляет собой разрешение иммунного конфликта между матерью и плодом, которое протекает по типу воспаления [48, 79], мы предполагали, что эритроциты могут отражать изменения иммунных процессов, которые происходят при беременности и родах, а также отражать изменения реактивности клеток организма к адреналину, ацетилхолину, окситоцину, серотонину, прогестерону, эстрогенам и к другим биологически активным веществам (БАВ), в том числе при УПР. Аналитическому обзору этих данных мы предпосылаем экскурс в вопросы агрегации, адгезии и агглютинации эритроцитов и участия лектинов в этом процессе. В связи с относительной малочисленностью информации о лектинах в обзоре также сообщается о распространенности лектинов в природе и их физиологической роли. Конечной целью обзора является привлечение внимания исследователей к использованию лектинов в диагностике преждевременных родов и их прогнозировании.

1. Агрегация, адгезия и агглютинация эритроцитов

Агглютинация эритроцитов рассматривается отдельными авторами как частный случай межклеточного взаимодействия, в том числе как вариант агрегации или адгезии эритроцитов, и как вариант иммунной реакции, так как при агглютинации имеет место взаимодействие антитела, или его

аналога в виде фитогемагглютинаина (ФГА), с антигеном [76].

1.1. Агрегация эритроцитов. Основными механизмами агрегации являются электростатическое взаимодействие между эритроцитами и взаимодействие эритроцитов по типу макромолекулярного связывания [13, 14, 15, 27]. Считается, что электростатические силы взаимодействия обусловлены притяжением между двумя противоположно заряженными ионизированными группами, например аминогруппой NH лизина, входящего в состав одного белка, и карбоксильной группой COO глютаминовой кислоты, входящей в состав другого белка. Однако этому процессу противостоит электростатическое отталкивание одноименно заряженных частиц на эритроцитах. Сила отталкивания характеризуется ζ -потенциалом (дзета-потенциалом), или «электрораспором», который в норме составляет 15 мВ со знаком минус по отношению к плазме крови. Полагают, что у эритроцита 2% отрицательного заряда поверхности обусловлено нейраминовыми кислотами, а 5% – сиаловыми кислотами. Снижение этого потенциала позволяет эритроцитам сближаться, т.е. агрегировать. Агрегации способствуют и водородные связи (силы Ван-дер-Ваальса), образующиеся между такими гидрофильными группами как OH, NH₂ и COOH, которые находятся на поверхности эритроцитов. Но эти связи относительно слабы. Согласно мостиковой теории, агрегация эритроцитов может быть обусловлена процессами сорбции фибриногена, глобулинов, иммуноглобулинов, полиглобулина и других макромолекул на мембране эритроцита, которые образуют мостики между эритроцитами. Если макромолекула типа фибриногена имеет размеры, которые превышают барьер отталкивания, то она одновременно прикрепляется и на соседнем эритроците, образуя между этими эритроцитами «мостик», что и приводит к агрегации эритроцитов. В процессе агрегации или адгезии эритроцитов выделяют 4 этапа:

- 1) транспорт;
- 2) клеточную активацию (эндогенную или экзогенную);
- 3) морфологические, физические или пространственные перегруппировки;
- 4) образование межклеточных контактов [76].

1.2. Агглютинация. Считается [13–15, 27], что в нормальных условиях агглютинация эритроцитов не происходит. Она возникает при появлении в среде иммуноглобулинов,

либо их аналогов – ФГА, которые взаимодействуют с «рецепторами» эритроцитов. В роли последних выступают агглютиногены (по современной классификации – антигены) А, В, Н, а также Rh-антигены (D, C, E, d, c, e), антигены систем Келл, Кидд, Даффи, Льюис и других систем. В результате происходит необратимое склеивание эритроцитов между собой и выпадение в осадок. Агглютинаты представляют собой плотные образования, которые не образуют сетчатой структуры, и размер которых сильно варьирует. Разрушение агглютинатов сопровождается гемолизом эритроцитов.

1.3. Механизм агглютинации. Считается [13, 27, 64, 71, 76], что при наличии антител (или ФГА) в среде и соответствующих антигенов на поверхности эритроцитов происходит их взаимодействие, в результате которого снижается отрицательный заряд эритроцитов, что ведет к их сближению и к склеиванию. Следовательно, агглютинацию эритроцитов можно отнести к иммунной реакции. С этих позиций, время начала агглютинации (ВНА), вероятнее всего, отражает процесс взаимодействия антител (фитоагглютиногена) с антигенами эритроцитов, сближение эритроцитов и образования прочной связи между ними. Вероятно [76], что процесс агглютинации (как и процесс агрегации или адгезии) идет в 4 этапа: транспорт, клеточная активация, морфологические, физические или пространственные перегруппировки и образование межклеточных контактов.

Полагают, что при агглютинации эритроцитов (как и при их агрегации) участвуют силы электростатического взаимодействия, силы Ван-дер-Ваальса и силы молекулярного перекрытия [13, 53, 70, 76, 80–82], но эти силы при агглютинации на порядок выше, чем при агрегации [13]. Однако, по мнению ряда авторов [64], процессы, которые возникают при агглютинации эритроцитов в присутствии иммуноглобулинов (IgM, IgG) или ФГА, существенно отличаются от процесса спонтанного образования агрегатов или адгезии эритроцитов. В целом, можно утверждать, что агглютинация происходит в том случае, когда силы связывания намного превышают силы отталкивания, обусловленные отрицательным зарядом клеточной поверхности эритроцитов.

1.4. Оценка силы, вызывающей агглютинацию эритроцитов. Этот вопрос детально изучался многими авторами, так как величина этой силы косвенно отражает аффинность антител или ФГА к их

«рецепторам», расположенным на поверхности эритроцита, т.е. к антигенам [53, 70, 80–82]. Указанными авторами предложен метод оценки энергии, необходимой для реализации процесса агглютинации, т.е. для прочного сцепления эритроцитов под влиянием антител или ФГА. В основе этого метода лежит определение силы, необходимой для дезагглютинации, т.е. для разрыва дублета эритроцитов. При этом предложено оценивать значения нормальной силы (F_n), действующий вдоль оси дублета, и значение силы сдвига (F_{shear}), действующей перпендикулярно оси дублета. При этом предполагается, что клетки сшиты антителом, длина которого не превышает 20 нанометров [81]. Для вычисления нормальной силы (F_n) и силы сдвига (F_{shear}) предложено [80, 82] наблюдать в трубке диаметром в 178 или 150 микронов судьбу дублета эритроцитов в потоке крови, протекающем самотеком между двумя резервуарами (с постепенно возрастающей скоростью) и с записью на видеопленку поступательных и вращательных движений дублетов до того момента, пока не произойдет их разрыв. Показано [82], что с увеличением в среде концентрации антител значительно возрастают F_n (от 0,060 до 0,197 наноН) и F_{shear} (от 0,023 до 0,072 наноН), хотя при такой методике не удастся определить какая сила (F_n или F_{shear}) ответственна за разделение дублета. По данным D. Tees et al. [80], величина F_n , необходимая для разрыва мостиков, образованными антителами IgM или IgA, колеблется от 2 до 200 пикоН, при этом она тем больше, чем выше концентрация иммуноглобулина, т.е. чем больше мостиков, связывающих два эритроцита между собой. Подобную зависимость от концентрации моноклональных антител (анти-А) на эритроците выявили L. Plá et al. [70]. Установлено [53], что при агглютинации, индуцированной антителами А или В, либо ФГА из улитки виноградной (*Helix pomatia* L.), сила сцепления эритроцитов в процессе агглютинации постепенно увеличивается. Это объясняется тем, что при начальной сборке агглютината лишь небольшая часть антител или ФГА формирует поперечные мостики, но затем по мере преодоления сил отталкивания, которые обусловлены микроскопическими «шероховатостями» и стерическими несоответствиями, число мостиков постепенно возрастает. Таким образом, все эти исследования показали, что сила сцепления эритроцитов при агглютинации выше, чем при агрегации или

адгезии, и она прямо пропорциональна концентрации антитела или ФГА в среде.

1.5. Характеристика антигенов эритроцитов. Система АВ0 представлена антигенами А, В и Н [15, 27]. При этом существует несколько изоформ антигена А, в том числе сильный антиген А1, или Аcomt, и слабые антигены: А2, А3, Am, Aint, Aand. Аналогично в отношении изоформ антигена В – среди них имеются сильные антигены (В1 и В2), и слабые антигены (В3, Вх, Вw, Вm), которые встречаются редко. Количество антигенных мест (А и В) на эритроцитах человека достигает 10^6 , или колеблется от 810 тысяч до 1170 тысяч в расчете на 1 эритроцит и до 140-300 тысяч для антигена А2 [27]. Антигены А, В и Н в основном имеют один и тот же химический состав и они относятся к водорастворимым гликопротеидам, т.е. ковалентно связанным углевод-белковым биополимерам, которые на 80–90% состоят из углеводов. Отличия между ними определяются терминальными сахарами, прикрепленными к основной цепи антигена. Для антигена Н терминальным сахаром является L-фруктоза, для антигена А – N-ацетилгалактозамин, для антигена В – это D-галактоза. Большое число олигосахаридов каждого из этих типов детерминант связаны с одичными полипептидами и образуют подобие дендритной структуры. Детерминанты строятся с помощью добавления остатков сахаров к углеводородной цепи предшествующей молекулы (Н-антиген) при участии гликозилтрансферазных ферментов: N-ацетилгалактозаминтрансферазы и D-галактозилтрансферазы. Гены групп крови контролируют образование и функционирование этих энзимов, необходимых для формирования антигенных детерминант посредством прикрепления соответствующих углеводных остатков, выступающих в роли иммунодоминантных сахаров каждой детерминантной структуры. Таким образом, именно гликозилтрансферазы выступают в качестве катализатора процесса переноса сахара от нуклеотидного углеводорода к акцепторной структуре гликопротеидной или гликолипидной молекулы [27]. Ослабление выраженности или полная утрата антигенных детерминант на эритроцитах происходит у больных онкологическими заболеваниями и лейкозами [27]. Природа этих изменений не ясна. Возможно, что это связано с нарушением синтеза гликозилтрансфераз А и В, ответственных за формирование антигенных детерминант [27]. Вы-

раженность антигенов А и В на эритроцитах меняется под влиянием гормональных препаратов, а также при беременности [7, 27]. Так, показано [7], что у женщин группы А уровень антигена А до беременности составил 114,8 усл. ед., в I триместре он снижается до 63,1 усл. ед., во II триместре возрастает (до 263 усл. ед.), в III триместре вновь снижается (до 109,6 усл. ед.). Аналогичная динамика отмечена в отношении изменения концентрации антигена В. Автор [7] полагает, что изменение числа антигенов на поверхности эритроцитов, а, следовательно, изменение агглютинабельности эритроцитов, при беременности обусловлено тем, что на эритроцитах сорбируются продукты распада, которые меняют число свободных антигенов на его поверхности, что делает агглютиногены недоступными для антител (агглютининов).

В системе Резус (Rh) известно 48 антигенов, из которых самым сильным является антиген Rh6 (D), в то время как остальные антигены этой системы (C, E, d, c, e) слабые [27]. Все антигены Rh-системы – это полипептидные цепи с молекулярной массой 30 кДа, которые многократно пересекают мембрану эритроцитов. Часть цепей содержит гликозилированный компонент, а также фрагменты липидной природы, т.е. ковалентно связанные жирные кислоты. Поэтому по своей природе резус-антигены – это липопротеиды [27]. В среднем, на 1 эритроците находится 11–13 тысяч каждого из антигенов Rh-системы [27]. Антитела системы Rh имеют аутоиммунное происхождение (за исключением анти-Rh39) [27].

1.6. Антитела (гемагглютинины) как индукторы агглютинации. В обычных условиях агглютинация эритроцитов индуцируется анти-А антителами (прежнее название – альфа-агглютинины), или анти-В антителами (прежнее название – бета-агглютинины) или резус-агглютинидами, т.е. анти-D антителами [15]. Циркулирующий пул анти-А антител и анти-В антител состоит из двух классов иммуноглобулинов – в основном IgM, проходящими через плаценту, и, в меньшей степени, IgG [15, 27]. Rh-антитела, в том числе анти-D антитела, также представлены иммуноглобулинами класса IgM и IgG [15, 27].

1.7. Модуляция агрегации и агглютинации. Отдельные вещества способны повышать спонтанную агрегацию (и, вероятно, агглютинацию) эритроцитов человека [10, 14, 19, 34, 40, 45, 68, 71]. Среди них ионы лантана [10, 19, 40], алциановый голубой

[14, 34, 68, 71], декстран [71], а также фибриноген [45]. Ее также повышает звуковое давление (величиной 520–1800 мм рт.ст.) в условиях *in vitro* [71] и УЗИ-воздействие [13, 71]. Уровень анти-А и анти-В антител может меняться и тем самым модулировать агглютинабельность эритроцитов, т.е. их способность к агглютинации [27]. В частности, уровень этих антител снижается при тяжелой общей инфекции, при лейкемии и при опухолевых процессах [27].

1.8. Влияние иммунодепрессантов на индуцированную агглютинацию эритроцитов. Сообщается [16], что иммунодепрессанты (кортикостероидные гормоны, эпсилон-аминокапроновая кислота, мочевины), введенные в изогемагглютинирующую сыворотку крови, уменьшают ее способность индуцировать агглютинацию эритроцитов. Действительно, введение гидрокортизона (25 мг/мл), преднизолона (30 мг/мл), эпсилон-аминокапроновой кислоты (100–400 мг/мл) или мочевины (100–500 мг/мл) в гемагглютинирующую сыворотку крови человека (в соотношении 1:1) с последующим инкубированием в течение 0,5–1 часа при 37°C сопровождалось резким уменьшением способности этой сыворотки вызывать агглютинацию эритроцитов или лейкоцитов у лиц, имеющих группу А или группу В. Так, если исходно анти-А и анти-В антитела проявляли свой эффект при титре 1:16–1:32, то после инкубации с указанными веществами они вызывали агглютинацию лишь при титре 1:2 или 1:4. Аналогично, указанные вещества уменьшали способность Rh-антител взаимодействовать с Rh-фактором. Авторы показали, что иммунодепрессанты не разрушали антигены, а снижали способность антител связываться с соответствующими антигенами. Исходя из этих данных, можно предположить, что изменение времени начала агглютинации (ВНА) эритроцитов может быть связано с изменением содержания в крови эндогенных иммунодепрессантов (например, с ростом содержания глюкокортикоидов).

1.9. Определение групп крови по АВ0-, Rh- и другим системам. Моноклональные антитела (целиклены, или изосероклены). Для определения групповой принадлежности крови (в частности, по системе АВ0, или по Rh-системе) используют изогемагглютинирующие сыворотки (поликлональные сывороточные антитела) или моноклональные антитела (целиклены или изосероклены) [15, 27], а в отдельных случа-

ях предложено использовать ФГА для дифференцировки субантигенов А1 и А2 [32] или субантигенов В1, В2 и В3 [31]. С учетом наличия нескольких изоформ антигена А и антигена В, порождающих ошибки при определении групповой принадлежности крови (особенно в отношении антигена А), в клинике вместо сывороточных поликлональных антител стали применять моноклональные антитела в виде целиклонов или изосерокленов. [15, 27, 84]. Целиклон – это солевой раствор моноклональных антител к антигенам, расположенным на поверхности эритроцитов человека. Моноклональные антитела для целиклонов получают при помощи гибридом, или определенных штаммов бактерий, полученных специально для этих целей методами генной инженерии. В частности, моноклональные анти-А и анти-В антитела продуцируются двумя мышинными гибридами и принадлежат к иммуноглобулинам класса IgM. Целиклоны изготавливаются из асцитной жидкости мышей-носителей анти-А и анти-В гибридом. Целиклон анти-АВ представляет собой смесь моноклональных анти-А и анти-В антител. В последние годы применяют целиклон анти-А1 (лектин), который вызывает агглютинацию только при наличии сильного антигена А1, что позволяет среди носителей А-антигена выбрать популяцию носителей лишь с А1-антигеном. Для выявления слабых А-антигенов используют целиклон анти-Асл.

Целиклоны анти-D бывают нескольких модификаций [15, 27]. Один из них содержит IgM, т.е. полные антитела (например, целиклон Анти-D Супер, и его аналог изосероклонTM анти-D IgM-реагент). Этот вид целиклона позволяет определять наличие сильного резус-антигена D. Второй вариант целиклонов (например, целиклон Анти-D) содержит IgG, т.е. неполные антитела. С помощью этого целиклона в присутствии 10% желатина можно определять слабые изоформы антигена D и другие слабые варианты резус-антигенов (С, Е, с, d, е). Кроме того, для выявления слабых резус-антигенов (С, с) используют целиклоны анти-С или анти-с. У реципиентов рекомендуется определять наличие резус-антигена D, т.е. сильного Rh-антигена, а у доноров – определять и наличие слабых изоформ анти-D или других видов резус-антигенов. Поэтому определение Rh-антигенов проводят дифференцировано в зависимости от цели исследования, применяя соответствующие модификации целиклонов Анти-D [27].

В ряде исследований, в которых требуется вызвать индукцию эритроцитов человека (независимо от их групповой принадлежности) или животных применяются так называемые лектины, сведения о которых приводятся ниже.

2. Лектины, или фитогемагглютинины

2.1. Общие представления о лектинах.

Лектины, или гемагглютинины, представляют собой вещества растительного (фитогемагглютинины, или ФГА) или животного (зоогемагглютинины) происхождения [1, 3, 21, 30, 38, 49]. Они являются белками или мультимерными гликопротеинами неиммуноглобулиновой природы, способные распознавать специфические углеводы или углеводные остатки, расположенные на поверхности клетки, высокоспецифично связываться с ними (как с рецепторами), и тем самым вызывать их агглютинацию или другие эффекты. В частности, ФГА взаимодействуют с углеводными остатками антигенов А, В и Н, резус-антигенов и других антигенов эритроцитов и, снижая отрицательный заряд эритроцитов, позволяют эритроцитам агглютинировать. Лектины могут связывать как растворенные углеводы, так и функциональные группы углеводов в составе гликопротеинов или гликолипидов. В отличие от ферментов-гликозидаз, лектины не вызывают химического превращения углеводов, с которыми они взаимодействуют. В целом, лектины рассматривают как углеводраспознающие белки (мультимерные гликопротеины), не относящиеся к классу иммуноглобулинов, т.е. в организме растений, животных и человека они играют роль биосенсоров, способных распознавать чужеродные углеводы или углеводные остатки.

Лектины различаются между собой по способности узнавать различные остатки моносахаридов, так как среди них имеются 4 основные группы с разным положением групп ОН при атомах С-3 и С-4 в пирановом кольце, т.е. в моносахаридах, находящихся в циклической форме и содержащие шестичленное (пирановое) кольцо. В связи с такой биосенсорной активностью лектины рассматриваются в качестве эволюционных предшественников иммуноглобулинов [1, 21, 30, 38].

Структура молекул лектина весьма разнообразна. Их молекулярная масса находится в пределах от 5 до 400 тысяч; молекулы содержат от 1 до 20 субъединиц. Большинство лектинов – гликопротеины, многие содержат координационно связанные Ca^{2+}

и Mn^{2+} , которые необходимы для проявления биологической активности. Для некоторых лектинов известна пространственная структура, которая впервые была изучена в отношении конканавалина А, выделенного из канавалии мечевидной (*Canavalia ensiformis* (L.) DC.). Его молекула построена из четырех одинаковых полипептидных цепей с молекулярной массой около 26 кДа. В каждой цепи находится по одному иону Ca^{2+} и Mn^{2+} и по одному сайту связывания углевода [17, 21]. Сведения о строении ФГА гороха и ФГА фасоли представлены ниже (разделы 4.4. и 4.5.).

2.2. История открытия лектинов.

Первоначально лектины были выделены из семян растений, однако позже они были найдены у большинства живых организмов, в том числе и человека [29, 30]. Первое описание лектина дал Питер Герман Штильмарк (Peter Hermann Stillmark (1860–1923) в тезисах диссертации, представленной к защите в 1888 году в Дерптском (Тартуском) университете [21, 30]. За 13 лет до открытия изогемагглютинации и за 14 лет до получения гетероиммунных сывороток анти-А и анти-В, он выделил из семян клещевины обыкновенной (*Ricinus communis* L.) белок, названный им рицином. Под влиянием этого белка эритроциты разных животных подвергались агглютинации. Именно изучение влияния лектинов на эритроциты позволило в 1901 году К. Ландштейнеру (Karl Landsteiner) выделить три группы крови (А, В и С), а в 1907 году Я. Янскому удалось открыть четвертую группу крови (AB) и дать современную классификацию групп крови по системе АВ0, а К. Ландштейнеру, А. Винеру и Ф. Левину (Karl Landsteiner, Alexander Wiener, Ph. Levene) в 1940 году открыть резус-фактор (Rh-фактор). В 1948 г. Ренконен (K. Renkonen) сделал открытие [30], которое послужило началом нового этапа изучения ФГА. Исследуя экстракты из семян 99 видов растений, он установил, что 6 из них агглютинируют эритроциты крови человека в соответствии с групповой принадлежностью к системе АВ0. В 66 экстрактах не содержалось агглютининов, т.е. они не вызывали агглютинацию эритроцитов. Некоторые экстракты действовали на эритроциты вне зависимости от наличия тех или иных агглютиногенов, т.е. обладали свойством панагглютинабельности.

Термин «лектин» (от латинского *legere*-выбираю) предложили в 1954 году известный американский иммунолог Бойд (W.C. Boyd) и его сотрудник Шапи

(E. Shapleigh). Занимаясь изучением групп крови человека, они оценили способность белков растительного происхождения (ФГА) узнавать антигены, в связи с чем и предложили данный термин «лектины» [30, 44]. Этим термином в настоящее время пользуются наряду с термином фитоагглютинин или фитогемагглютинин (ФГА) [1, 3, 21, 30, 38].

Почти сразу же после открытия реци-на известная химическая фирма «Merck» (ныне – Sigma-Aldrich, Германия) начала выпуск таких ФГА как рицин и абрин. Это токсичный лектин из семян растения семейства Бобовые – абрус молитвенный (*Abrus precatorius* L.), приготовленные по технологии Г. Штильмарка [17]. Первым лектином, получаемым в промышленных масштабах, стал конканавалин А. Этот белок был выделен из семян растения канавалия мечевидная (*Canavalia ensiformis*), родиной которой является Центральная Америка. В настоящее время конканавалин А широко используется в биологии и в биохимии, в том числе для очистки и характеристики сахаросодержащих молекул и клеточных структур, а также как митоген (следует не путать конканавалин А с канавалином, который является аминокислотой, близкой по своим свойствам к аргинину).

В настоящее время выделено несколько сотен лектинов, в том числе вирусолектины, бактолектины, миколектины, фитолектины и зоолектины [21, 38].

2.3. Лектины микроорганизмов и их функции. Полагают [17], что лектины, расположенные на поверхности вирусов и бактериальных вирусов (фагов), служат для избирательного связывания с клетками макро- и микроорганизмов и их инфицирования. Лектины позволяют вирусам (в частности вирусам гриппа) вызывать агглютинацию клеток человека или животных. Лектины стрептококков, живущих в полости рта, приводят к формированию зубного камня, что учитывается при разработке средств защиты полости рта. Лектины микроорганизмов, колонизирующих тонкий кишечник человека и животных, определяют форму симбиотического сосуществования макро- и микроорганизмов, что предохраняет от размножения патогенных микроорганизмов в кишечнике.

2.4. Лектины грибов (миколектины). Сообщается [3], что в экстрактах таких грибов как белый гриб (*Boletus edulis* Bull.), ли-сичка обыкновенная (*Cantharellus cibarius* Fr.), опенок осенний (*Armillariella mellea*

(Vahl) P. Kumm), масленок обыкновенный (*Suillus luteus* (L.) Gray.), шампиньон полевой (*Agaricus arvensis* Schaef.), подосиновик красный (*Leccinum aurantiacum* (Bull.) Gray.), вешенка обыкновенная (*Agaricus ostreatus* Jacq.), шиитаке (*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler), а также в экстрактах ряда трутовиков имеются лектины, которые вызывают агглютинацию эритроцитов 0 и А групп.

2.5. Фитолектины и их функции. Сообщается [21, 49], что фитолектины, или ФГА, встречаются в таких продуктах питания как пшеница, кукуруза, помидоры, арахис, фасоль, бананы, горох, чечевица, соя, рис и картофель. Важнейшими источниками лектинов являются семена растений, особенно бобовых (в последних их содержится 2–10% от общего количества белков). Лектины также имеются в семенах овсяницы луговой и, подсолнечника и в кожуре апельсинов [28]. Полагают [17, 18], что лектины необходимы для развития растений из семян, так как с их участием контролируется деление клеток при прорастании, в том числе в процессе органоогенеза. По этой причине в растениях лектины преимущественно сосредоточены в семенах. Лектины корневой системы защищают растения от болезнетворных микроорганизмов и низших грибов, находящихся в большом количестве в почве, т.е. лектины выполняют иммунную функцию [17, 18]. Лектины растений способствуют привлечению бактерий-симбионтов (напр., азотфиксирующих бактерий) к корневым волоскам растения-хозяина [17, 18]. Кроме того, фитолектины участвуют в регуляции жизнедеятельности растений, так как помимо углеводов они способны связывать такие вещества как аденин, ауксины, индолуксусную кислоту, которые считаются фитогормонами [17, 18].

2.6. Лектины животных и человека и их функции. Лектины имеются у большинства животных и человека, в связи с чем их называют эндогенными лектинами [29, 30, 38, 43, 55, 60]. В частности, сообщается [38], что такие гидробионты как мидия, асцидия, морской червь, морской еж и кукумария содержат лектины, для которых характерна узкая специфичность по отношению к углеводам. Поэтому их предложено использовать в качестве маркеров ряда опухолей женской половой сферы, в том числе рака шейки матки, так как лектины указанных морских животных способны улавливать изменения в структурах углеводных

цепей, находящихся на поверхности клеток при их злокачественной трансформации. Эндогенные лектины выполняют разнообразные функции

2.6.1. Эндогенные лектины как регуляторы адгезии. Сообщается [29, 69, 72, 74], что в организме животных и человека лектины весьма широко представлены в виде адгезивных мембранных белков – интегринов, селектинов и кадгеринов, а также в виде рецепторов, ассоциированных с G-белком, среди которых альфа- и бета-адренорецепторы [69]. Считается, что интегрины, кадгерины и селектины за счет их способности узнавать углеводы и углеводные остатки регулируют процесс адгезии клеток и тем самым модулируют процессы иммунитета, привлекая в места воспаления нейтрофилы, моноциты и лимфоциты и обеспечивая их выход из кровотока. В частности, бета₁-, бета₂- и бета₃-интегрины локализованы на поверхности лейкоцитов и тромбоцитов и обеспечивают их адгезию к эндотелиоцитам, на которых имеются соответствующие «интегриновые рецепторы». Интегрины также обеспечивают адгезию нейтрофилов с объектами фагоцитоза. Е- и Р-кадгерины способствуют образованию Са-зависимого контакта между эпителиальными, мышечными и нервными клетками. Однако к истинным лектинам относят L-, Р-, n-, Е-селектины, так как их N-концевой домен способен вызывать агглютинацию эритроцитов. Компоненты селектинов «узнают» углеводные остатки на поверхности клеток, в том числе сиалил-фукозу, что характерно для Р- и Е-селектинов, которые находятся на поверхности активированных (гистамином, цитокинами) эндотелиоцитов и обеспечивают поступление лейкоцитов в очаг воспаления. Кроме того, Р-селектин имеется и на поверхности активированных тромбоцитов. Он обеспечивает их адгезию с эндотелиоцитами. L-селектин расположен на поверхности лейкоцитов, обеспечивая их контакт с эндотелиоцитами посткапиллярных венул лимфоузлов (за счет наличия гликопротеинов) и выход лейкоцитов из сосудистого русла в лимфатический узел. Иначе говоря, L-селектин реализует процесс хоминга. Показано, что экспрессия селектинов на моноцитах и их функциональная активность возрастает при стрессе или при действии адреналина (максимальный эффект – при концентрации 10⁻⁷ М, реализуемый за счет активации бета-адренорецепторов), что повышает функцию этих клеток [72]. Показано [74], что

лектины эндотелиальных клеток, в частности, Е-селектин, участвует в реализации влияния активации бета₃-АР жировых клеток, которое происходит за счет повышения экспрессии цитокинов IL-1, CCL2 и TNF-α. Так, эти авторы [74] показали, что у диких мышей при активации бета₃-АР происходит нейтрофильная инфильтрация жировой ткани, которая вызывает ее воспаление. Однако этот процесс отсутствует у Е-селектин-нулевых мышей. Это указывает на то, что Е-селектин является посредником при активации бета₃-АР, так как с его участием повышается экспрессия цитокинов IL-1, CCL2 и TNF-α, необходимых для нейтрофильной инфильтрации жировых клеток. Сообщается [69], что в эндотелии коронарных сосудов имеются лектины (интегрины и селектины), которые активируются под влиянием коронарного потока крови, и тем самым паракринно вызывают выделение факторов, регулирующих интенсивность коронарного кровотока. Авторы данного исследования оценивали лектины миокарда и коронарных сосудов морской свинки. Они выявили не менее 167 видов лектинов. Три из них – это селектины, другие лектины – это рецепторы, ассоциированные с G-белком, среди которых рецепторы ангиотензина II, брадикинина (B2-R), аденозина (A1 и A2), пролактина, эндотелина, тромбоспандина (A2), инсулина. А также адренорецепторы (АР), в том числе альфа₁-АР, бета₁-АР и бета₃-АР. Часть этих рецепторов, как известно, чувствительны к потоку крови. Эта чувствительность реализуется с участием лектинов, т.е. интегринов и селектинов, которые взаимодействуют с олигосахаридом (гиалуроновой кислотой).

К группе лектинов отнесены и многие цитокины, в том числе фактор некроза опухоли альфа, интерлейкины, некоторые интерфероны, факторы роста и другие БАВ [1, 38], а также фибронектин, обеспечивающий межклеточную кооперацию, необходимую для специфического иммунного ответа [26].

2.6.2. Эндогенные лектины и процессы репродукции. Сообщается [17], что эндогенные лектины играют важную роль в репродукции человека и животных. В частности, они обеспечивают адгезию сперматозоидов на поверхности яйцеклетки, которая происходит за счет углеводов-белкового узнавания, реализуемого эндогенным лектином. Для шпорцевой лягушки показано, что на кортикальных гранулах их яйцеклеток имеются матриксные лектины, которые защищают оплодотворенную яйцеклетку от других

сперматозоидов. Важную функцию лектины выполняют в процессах дифференциации оплодотворенной яйцеклетки, в связи с чем этот вид лектинов назван эмбриональным лектином [17]. Предполагается, что в основе ряда генетических заболеваний человека и животных лежит дефект, приводящий к нарушению образования некоторых лектинов и их функций [17].

Лектины вырабатываются в плаценте животных [55] и человека [43, 60]. В частности, у овцы плацента синтезирует лектин (65 кДа), который связывает сиаловые кислоты и агглютинирует эритроциты кролика и крысы, но не человека (А, В или 0) [55]. В плаценте человека на определенных стадиях ее развития появляется Ca^{2+} -независимый лектин, связывающий сиаловую кислоту на поверхности эритроцитов млекопитающих и вызывающий их агглютинацию [43]. Кроме того, в плаценте человека выявлен лектин (14,4 кДа), связывающий гепарин, который, как известно, тормозит агглютинацию эритроцитов; этот лектин также вызывает агглютинацию эритроцитов [60].

2.6.3. Эндогенные лектины как компоненты иммунной системы. Лектины вызывают ряд характерных иммунологических реакций, в том числе агглютинацию клеток, включая агглютинацию эритроцитов (отсюда синоним лектинов – фитогемагглютинины, который обычно используют применительно к лектину фасоли), а также лектины вызывают преципитацию (осаждение) гликопротеинов [1, 3, 17, 21, 30, 38, 49, 51]. Эта активность подавляется гаптенами, в роли которых выступают углеводы. По этой причине лектины рассматриваются как компоненты иммунной системы, или как эволюционные предшественники антител. В частности они оказывают бактерицидный эффект по отношению к определенным видам патогенных бактерий, они способны инактивировать действие некоторых вирусов, участвуют в регулировании иммунного ответа за счет активации системы комплемента, которая является древней белковой системой врожденного иммунитета и системой распознавания чужеродных белков. В частности, связываясь с маннозой одного из компонентов системы комплемента, лектин запускает активацию комплемента. Поэтому он получил название лектин (или белок), связывающий маннозу (mannose-binding lectin, MBL), или лектин, связывающий маннан (полимер маннозы). Лектины также усиливают Т-клеточную цитотоксич-

ность и способны изменять производство различных интерлейкинов. Иммунная система опирается на способность лектинов распознавать и связывать углеводы на поверхности клеточных мембран клеток-мишеней (т.е. клеток, на которые направлен удар иммунной системы). Установлено [1, 3, 21, 30, 38, 49, 51], что эндогенные и экзогенные лектины, в том числе ФГА фасоли, индуцируют переход клеток из стадии G_2 в митоз, т.е. обладают избирательной митогенной активностью в отношении различных субпопуляций лейкоцитов, вызывая бласттрансформацию лимфоцитов, т.е. вызывают превращение лимфоцита в лимфобласт. Тем самым лектины также способствуют реализации функций иммунной системы. Поэтому фитомитогены широко применяются при изучении факторов, влияющих на митоз.

2.6.4. Лектины как модуляторы эффективности активации рецепторов и ионных каналов. Лектины могут влиять на эффективность активации гормональных рецепторов. В частности, показано, что растительные лектины (например, конкавалин А), влияет на эффективность активации инсулиновых рецепторов, так как они способны связываться с рецепторами инсулина. Кроме того, что эндогенные лектины могут менять активность ионных каналов мембраны, что лежит в основе токсичности многих лектинов, в том числе рицина [17].

2.6.5. Детоксикационная (клиренсная) функция эндогенных лектинов. Ряд эндогенных лектинов с различной углеводной специфичностью (в основном, они содержатся в клетках печени) способны «улавливать» те или иные фрагменты углеводных структур, подлежащие деградации, и тем самым очищать организм от ставших ненужными ему структур [17].

2.6.6. Противоопухолевый эффект экзогенных лектинов. Ряд лектинов растительного происхождения обладают противораковыми свойствами как в условиях *in vitro*, так и в условиях *in vivo* [49]. Поэтому предложено использовать лектины как вариант химиотерапии [1, 49, 73], так как они селективно связываются с клеточными мембранами раковых клеток, вызывая цитотоксический эффект, апоптоз и ингибируя их рост. Кроме того, под влиянием лектинов раковые клетки могут подвергаться агглютинации и/или агрегации. В частности, полагают [73], что лектин из семян арахиса (*Arachis hypogaea* L.), который устойчив к действию ферментов ЖКТ, может

служить защитой от раковых заболеваний, в том числе от рака желудка, прямой кишки и молочной железы. Конечно, все эти представления требуют тщательной проверки.

2.6.7. Другие эффекты эндогенных и экзогенных лектинов. Сообщается [49], что лектины могут подавлять активность теломераз, связываться с рибосомами и ингибировать синтез белка, регулировать синтез гликопротеинов и тем самым менять содержание белка в крови, ингибировать ангиогенез, усиливать или тормозить апоптоз (за счет изменения активности различных каспаз).

2.6.8. Токсичность экзогенных лектинов. Некоторые лектины, например, рицин и абрин, обладают высокой токсичностью для человека и животных [1, 17, 30]. Вероятно, это связано с тем, что лектины повышают выделение слизи в кишечнике, что тормозит процесс всасывания питательных веществ [52]. Лектины арахиса и других бобовых и пшеницы (при отсутствии термической обработки пищи) способны блокировать активность пищеварительных ферментов, а также (за счет адгезии) нарушать в местах адгезии процессы регенерации клеток и повышать проницаемость стенок кишечника для патогенных микроорганизмов, что, в целом, нарушает процесс пищеварения. Но, с учетом того, что лектины растительного и животного происхождения являются термолабильными соединениями, т.к. они не выдерживают нагрева свыше 80°C, а также подвергаются гидролизу в желудочно-кишечном тракте [1], их негативное воздействие на организм человека и животных выражено в меньшей степени, если пища подвергнута термической обработке (при нагревании до 100°C в течение хотя бы 5 минут) и если функция пищеварения, особенно, желудочного, не нарушена. В то же время часть лектинов может не разрушаться в пищеварительном тракте. Поэтому, всасываясь в кишечнике в неповрежденном виде, эти лектины попадают в кровь, сохраняя полную биологическую активность. Особенно высокая вероятность проявления токсичности при употреблении соевых бобов, в которых содержится соевый агглютинин [1]. Практически у всех людей в крови присутствуют антитела к пищевым лектинам.

3. Применение лектинов в клинической и лабораторной практике

Лектины применяют для аффинной очистки гликопротеинов и гликолипидов, при исследовании структуры углеводных цепей, для изучения распределения и структуры углеводных детерминант поверхности

клеточных мембран, для стимуляции лимфоцитов (конканавалином А, фитогемагглютинином фасоли и некоторыми другими лектинами), а также для диагностики групп крови и выявления групповых детерминант в гликопротеинах биологических жидкостях [1, 3, 21, 30, 38, 49, 51]. Лектины находят применение в клинической диагностике. В частности на основе лектинов, выделенных из растений и микроорганизмов, изготавливаются наборы для практического применения [38]. Например, компания Wako Diagnostics производит AFP-L3-тест для обнаружения и прогноза гепатоцеллюлярной карциномы, фирма GP Biosciences Ltd. производит микрочипы, включающие панель из 41 лектина для скрининга биомаркеров. Несколько производителей (Invitrogen, EY Laboratories Inc., Vector Laboratories) выпускают конъюгаты лектинов с разными метками для последующего их использования в гистохимии, проточной цитометрии, вестерн-блоттинге, иммуноферментном анализе [38]. И.В. Чикаловец и соавт. [38] предложили использовать лектины из морских организмов, или гидробионтов (мидии, асцидии, морского червя, морского ежа, кукумари) в качестве маркеров ряда опухолей женской половой сферы, в том числе рака шейки матки, так как высокоспецифичные лектины из гидробионтов подобны моноклональным антителам, а в некоторых случаях они обладают рядом преимуществ. Эти авторы [38] разработали метод твердофазного лектин-ферментного анализа (ТЛФА), дающий возможность выявлять трофобласт-специфический β -1-гликопротеин (ТБГ), позволяющий оценивать функциональное состояние плаценты, в том числе при угрозе преждевременных родов (УПР). Предложено с помощью лектинов разделять клетки крови при цитофотометрии [1, 75, 86]. Например, лектин арахиса является уникальным инструментом для дифференцировки человеческих кортикальных (незрелых) и медуллярных (зрелых) тимоцитов [86]. С использованием лектина из арахиса (*Arachis hypogaea* L.), который подобно Т-агглютиниону сыворотки крови человека тропен к сиаловым кислотам, показано, что стареющие (в процессе циркуляции) эритроциты крови теряют сиаловые кислоты [75]. Подобный эффект наблюдается при обработке эритроцитов нейраминидазой, которая, уменьшая число сиаловых кислот на поверхности эритроцита, одновременно уменьшая вероятность их агглютинации под влиянием лектина арахиса [75].

Найдены фитогемагглютинины для дифференцировки субантигенов A1 и A2 [32] и для дифференцировки субантигенов B1, B2 и B3 [31]. В частности, фитогемагглютинин анти B1 выявлен в семенах софоры японской (*Sophora japonica* L.) [31]. Вероятно, в перспективе можно использовать бумажные носители для применения ФГА-агглютинации в клинической практике. Такое предположение основано на данных литературы [56], согласно которым использование биоактивной бумаги и биоактивных нитей для определения групп крови у человека показали огромный потенциал этого недорогого метода при создании био-датчиков групповой принадлежности крови. В частности, И.В. Чикаловец и соавт. [38] загружали антитела (анти-A, анти-B, анти-D) в бумажные полоски. При погружении такой полоски в порцию крови антитела, диффундируя в среду, проявляли свою активность при наличии в исследуемых эритроцитах соответствующих антигенов (A, B, D). Способность лектинов вызывать агглютинацию некоторых патогенных организмов дает возможность их диагностики, а фармацевтической промышленности позволяет модифицировать многие противобактериальные, противогрибковые и противовирусные лекарственные препараты [1, 17]. Лектины используются для диагностики ряда наследственных заболеваний [17], а также в биотехнологии в качестве специфических реагентов, избирательно сорбирующих те или иные сложные вещества: гликопротеиды, гормоны, сиалопротеиды и т.д. [17]. Весьма перспективно создание нового поколения препаратов – своеобразных гибридов лектинов и антител для воздействия на те органы и ткани, где действие лектина полезно для человека [17]. Например, для лечения рака лимфатических узлов предложено использовать рицин, «сшитый» с антителами, которые способны избирательно доставить рицин к опухоли [17]. С нашей точки зрения, весьма перспективно применение лектинов как агглютининов, позволяющих индуцировать агглютинацию эритроцитов человека, независимо от группы крови. Доказательство этому приводятся в разделах 4 и 5.

4. Особенности агглютинации эритроцитов, вызываемой фитогемагглютинами

4.1. Методика получения экстрактов ФГА и очищенных препаратов ФГА. Существуют различные способы пригото-

вления экстрактов, содержащих лектины. [3, 28, 30] и методы очищения лектинов [57, 63, 66, 67, 77, 83]. Так, М.И. Потапов [30] указывает, что ему удалось изучить 30 образцов семян от 21 вида растений. Для этих целей сухие семена размалывали в ступке и просеивали через сито для получения тонкой однородной муки. Экстрагировали 1 г муки в плоскодонной колбе, добавляя в нее 10 мл стерильного физиологического раствора с pH = 7,0 (первые 2 часа – при 37°C, а последующие 18–20 часов – при 7°C). Жидкость центрифугировали, фильтровали через обеззоленный бумажный фильтр и сохраняли при 7°C в закрытой пробирке без добавления антибактериальных веществ. Хранение экстрактов в течение 3 недель при температуре 7°C почти не отражалось на титре лектинов. Большинство готовых экстрактов представляло собой жидкость, похожую на сыворотку светлого желтовато-зеленоватого цвета с pH 5–6. Агглютинационную способность каждого экстракта испытывали несколькими образцами эритроцитов 0, A и B групп путем титрования. Экстракт разводили физиологическим раствором в 2, 4, 8 раз и т. д. так, чтобы в каждой пробирке оставалось по 3 капли жидкости. После во все пробирки добавлялось по капле 2%-ной взвеси стандартных эритроцитов с известной групповой характеристикой в отношении групп систем AB0, MN и Rh. Смесь оставляли на 1–0,5 часа при разных температурных режимах: 3–7, 20 и 37°C, центрифугировали в течение 1 минуты при 1000–1500 оборотов и встряхивали в штативе. Результаты реакции агглютинации наблюдали невооруженным глазом и под микроскопом (на предметных стеклах под покровными стеклами). Показано [30], что экстракты из ряда семян, в том числе из семян фасоли обыкновенной (*Phaseolus vulgaris* L.), горошка посевного (*Vicia sativa* L.) агглютинировали эритроциты групп 0, A и B. Из семян четырех видов растений, а именно бобовника анагировидного, или золотого дождя (*Laburnum anagyroides* L.), ракитника русского (*Cytisus ruthenicus* Fisch), лядвенца четырехгранного (*Lotus tetragonolobus* L.) и ракитника сидячелистного (*Cytisus sessilifolius* L.) были получены экстракты, содержащие фитагглютинин (лектин) анти-H. Из семян коровьего гороха (*Dolichos biflorus* L.) и луновидной фасоли, или лимской фасоли (*Phaseolus lunatus* L.) был получен экстракт, избирательно агглютинирующий эритроциты группы A (лектин анти-A). Неразведенный

экстракт лимской фасоли (*Phaseolus lunatus* L.) агглютинировал эритроциты групп А, В и АВ и не агглютинировал эритроциты группы 0. Таким образом, этот экстракт содержал лектины анти-А и анти-В или их комплекс анти-АВ. В то же время М.И. Потапов [30] указывает, что свойства лектинов, т.е. их способность агглютинировать эритроциты разных групп крови зависят от того, из каких мест получены семена и в каком году они были собраны. По его мнению, территориальные условия произрастания растений оказывают большое влияние на наличие в семенах ФГА и его свойства. В то же время лектины сохраняются в семенах длительный промежуток времени. Так, еще Штильмарк выявил сильные агглютинины в семенах 30-летней давности, а по данным М.И. Потапова [30], специфичный агглютинин анти-А был обнаружен в семенах коровьего гороха (*Dolichos biflorus* L.), собранных 26 лет назад.

Методика приготовления экстракта из семян овсяницы луговой (*Festuca pratensis* Huds.), подсолнечника (*Helianthus* L.) и из кожуры апельсина (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck.), по Н.А. Мойсеенко, Л.И. Иржак [28], заключалась в том, что экстракция размолотых семян или кожи проводилась 0,85 % раствором хлористого натрия в течение двух суток при 4°C. Вес сухой навески относился к объему раствора как 1:5. Вытяжки фильтровали и хранили при -4°C. Агглютинацию учитывали количественно путем подсчета (в камере Горяева) числа эритроцитов, не подвергнутых агглютинации. Л.Р. Баймуратова [3] получала лектины белого гриба (*Boletus edulis* Bull.) и других грибов путем их экстрагирования ацетатным буфером (рН 3,8). Смесь оставлялась на экстракцию на 12 часов на холоде. Осадок отделяли центрифугированием в течение 15 минут при 2500 об/мин. Присутствие лектинов в экстракте определяли реакцией прямой гемагглютинации.

Однако многие авторы, начиная с пионерской работы Р. Nowell [67], предварительно очищали лектин, т.е. получали белок в чистом виде и исследовали его эффекты [57, 63, 66, 67, 77, 83]. При этом очистку лектинов осуществляют так же, как и других белков, в том числе с помощью аффинной хроматографии, используя в качестве сорбентов полисахариды, гликопротеины и синтетические углеводы, иммобилизованные на носителе. Имеется ряд патентов на способ получения очищенного ФГА из фасоли, но преимущественно речь идет о фитомитогенной активности [20, 41].

В настоящее время освоено изготовление очищенных лектинов в том числе фирмой ICN Biomedicals Inc. (USA) [26], а также фирмой Sigma-Aldrich (Merck) в виде «Фитогемагглютинин Р (ФГА), лиофилизированный порошок для исследования митогенной активности». Российские фирмы также выпускают препараты ФГА, например, Росмедбио (Санкт-Петербург), научно-производственное объединение ПанЭКО (Москва), но они предназначены для исследования митогенной активности лектинов.

4.2. Зависимость фитогемагглютинации от групповой принадлежности крови и источника ФГА. Часть лектинов характеризуется высокой специфичностью связывания с углеводными остатками (моносахариды, дисахариды или полисахариды), расположенными на поверхности эритроцита и определяющими группы крови, т.е. эти лектины можно считать специфическими или селективными реагентами (анти-А, анти-В, или анти-Н), так как они способны присоединяться к молекулам антигенов одной группы крови, не взаимодействуя с антигенами другой группы крови. [1, 30, 59, 77]. Так, лектин семян четырехкрыльника пурпурного (*Tetragonolobus purpureus*, синонимы – четырехкрыльник пурпурный, спаржевый горох) способен агглютинировать только эритроциты 0 группы, а лектины лимской фасоли (*Phaseolus lunatus* L.; синонимы – фасоль лунная, фасоль луновидная, фасоль лунообразная) – только эритроциты А группы [1, 30]. Один из лектинов семян мышиного горошка (*Vicia cracca* L.), а именно N-ацетилгалактозаминсвязывающий лектин, выполняет функцию анти-А анти-тела [77], лектин из семян коровьего гороха (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) выступает как анти-А1 [30], лектин от семян кустарника гриффония простолостная (*Griffonia simplicifolia*) – как анти-В [77], а лектин семян софоры японской (*Sophora japonica* L.) – как анти-В1 [31].

Однако большинство лектинов, в том числе ФГА гороха посевного (*Pisum sativum* L.) и ФГА фасоли обыкновенной (*Phaseolus vulgaris* L.) не проявляют выраженной селективности к эритроцитам человека, т.е. они способны распознавать эритроциты всех четырех групп система АВ0, т.е. А, В, АВ и 0 группы и тем самым вызывать их агглютинацию [1, 6, 23, 25, 30, 51, 57, 62, 58, 77]. К такому же типу лектинов относится и томатный лектин, т.е. ФГА томатов (*Solanum lycopersicum* L.). Он способен агглютинировать клетки любой группы крови [49].

4.3. Механизмы, лежащие в основе агглютинации эритроцитов под влиянием лектинов. По данным литературы, приводимой в работе В.Н. Минеева и соавт. [26], в эритроците человека число мест, связывающих различные лектины, колеблется от $2,1 \cdot 10^5$ до $4,9 \cdot 10^6$, а константы ассоциации, характеризующие сродство лектина к рецептору, варьируют от $2,7 \cdot 10^6$ до $12,7 \cdot 10^6$ М. При этом плотность «лектиновых рецепторов» варьирует от $1,75 \cdot 10^3$ до $4,0 \cdot 10^4$ на 1 мкм^2 площади мембраны эритроцита. В эритроцитах человека рецепторы различных лектинов представлены, в основном, такими гликопротеидами, как гликофорин А, белок полосы 3 и, в меньшей степени, гликофорин Б и белки цитоскелетного комплекса. Главным рецептором для лектинов фасоли, в частности для ФГА фасоли, является гликофорин. Для него характерно большое число остатков сиаловой кислоты. Поэтому, обработка клеток нейраминидазой полностью блокирует взаимодействие ФГА с рецептором [35].

Сообщается [26, 42, 65, 78], что после взаимодействия лектинов с эритроцитами происходит быстрая реакция эритроцитов, т.е. возрастает проницаемость мембраны эритроцитов для ионов Ca^{2+} , K^+ и Na^+ , возрастает внутриклеточная концентрация Ca^{2+} , Na^+ и цГМФ, повышается жидкость мембраны (за счет активации мембранных метилтрансфераз, и за счет активации фосфоинозитидного механизма), и возрастает транспорт глюкозы [42]. Медленная компонента реакции наблюдается даже через сутки после индукции агглютинации и она проявляется в изменении уровня цГМФ в эритроците [26].

Связь лектинов с углеводными остатками эритроцитов реализуется за счет многочисленных водородных и гидрофобных взаимодействий [3, 26]. Каждая молекула лектина содержит обычно два или более углеводсвязывающих участков (сайтов), что позволяет лектинам перекрестно сшивать клетки, в том числе эритроциты [3].

4.4. Свойства и строение ФГА гороха посевного (*Pisum sativum*), его способность индуцировать агглютинацию эритроцитов и использование в исследованиях. Показано [77], что семена горошка мышиного (*Vicia cracca* L.), содержат два лектина: N-ацетилгалактозамин-связывающий лектин, который вступает в реакцию специфически с эритроцитами человека группы крови А, и глюкоза-манноза-связывающий лектин, неспецифический по от-

ношению к группам крови человека, т.е. он вызывает агглютинацию эритроцитов всех групп человека. Нативный глюкоза-манноза-связывающий лектин имеет молекулярную массу 44 кДа и состоит из двух небольших субъединиц (5,7 кДа), содержащих 53 аминокислотных остатка, и двух больших субъединиц (17,5 кДа). Этот лектин высоко гомологичен лектинами гороха посевного (*Pisum sativum* L.), а также лектинам горошка посевного, или вики (*Vicia sativa* L.), горошка русского, или конского (*Vicia faba* L.) и чечевицы пищевой (*Lens culinaris* Medik., синонимы – чечевица обыкновенная, чечевица культурная). В то же время гомология с N-ацетилгалактозамин связывающим лектином из горошка мышиного минимальна.

T. Ng et al. [66] выделили манноза-глюкоза-специфический лектин из одной из разновидностей гороха посевного (*Pisum sativum* L.) – green splitpeas. Это гетеротетрамер (50 кДа), состоящий из двух субъединиц с молекулярной массой 6 и 19 кДа каждая. N-концевая последовательность этого лектина имеет определенную степень гомологии с лектинами из других видов бобовых. Белок проявляет гемагглютинирующую активность, которая подавлялась глюкозой, маннозой и сахарозой и ослаблялась при значениях pH выше 12 или ниже 3, но сохранялась при температурах ниже 80°C . Кроме того, этот белок оказывал и митогенный эффект при воздействии на мышинные спленоциты, а также и ингибировал активность ВИЧ-1 обратной транскриптазы (HIV-1 reverse transcriptase).

Показано, что экстракт гороха посевного (*Pisum sativum* L.) способен агглютинировать эритроциты все группы системы АВ0 человека [23, 25, 30, 62, 77]. Он применялся для оценки активности эндогенного ингибитора ФГА, находящегося в сыворотке крови у матери и пуповинной крови их новорожденных во время беременности и родов [62] для оценки способности ФГА гороха повышать цитотоксическую активность мононуклеарных лейкоцитов периферической крови человека [2] и (в ковалентно конъюгированной форме с наночастицами золота) для характеристики гликоформ методом лектин-аффинной хроматографии [63].

4.5. Свойства и строение ФГА фасоли обыкновенной (*Phaseolus vulgaris* L.), его способность индуцировать агглютинацию эритроцитов и применение в исследованиях. Содержание лектина в семенах фасоли намного больше, чем у большинства растений и составляет 1–3 г на кг семян [1].

Показано [57], что в экстрактах семян североамериканской фасоли Great Northern bean, которая является разновидностью фасоли обыкновенной (*Phaseolus vulgaris* L.), имеется два лектина, а именно GNL-1 (175 кДа) и GNL-2 (145 кДа). Оба белка содержат три субъединицы: альфа – (34,5 кДа), бета – (37,0 кДа) и гамма – (39,0 кДа), каждая из которых может связываться с углеводными остатками, но при этом они не проявляют специфичность в отношении моно- и дисахаридов. Оба белка являются гликопротеинами, т.е. содержат углеводы (в GNL-1 до 5,1 %, в GNL-2 до 4,5 %). Оба белка вызывают агглютинацию эритроцитов кролика и эритроцитов человека (все группы). Кроме того, GNL-1 вызывает митогенный эффект, который у GNL-2 отсутствует. Это согласуется с известными данными о способности экстракта фасоли вызывать митогенный эффект, т.е. индуцировать переход клеток из стадии G₂ в митоз [21]. Таким образом, способность экстракта фасоли обыкновенной агглютинировать эритроциты человека (и кролика) обусловлена наличием в нем двух белков: GNL-1 и GNL-2. Показано [51], что агглютинацию эритроцитов, вызываемую ФГА фасоли, блокирует 2-ацетамидо-2-дезоксид-галактоза и D-галактоза, в то же время ее не блокируют такие моносахариды как D-глюкоза, D-фруктоза, D-манноза, I-0-метил-бета-D-галактопираноза, 2-амино-2-дезоксид-глюкоза, 2-амино-2-дезоксид-галактоза, 2-ацетамидо-2-дезоксид-глюкоза, а также лактоза, лактулоза, раффиноза, стахиозы и другие ди-, три- и тетрасахариды.

Показано, что ФГА фасоли агглютинируют эритроциты человека, причем, эритроциты всех групп системы АВ0 [1, 6, 30, 35, 51, 57, 58]. Однако G. Dupuis, B. Leclair [51] полагают, что ФГА фасоли преимущественно агглютинируют эритроциты человека группы А, в меньшей степени – группы 0 и еще меньше – группы В. Так, концентрации ФГА, необходимые для обеспечения 50%-агглютинации эритроцитов, составляли 8 мкг (группа А), 12 мкг (группа 0) и 22 мкг (группа В), а для 100 % – агглютинации необходимы соответственно 15, 40 и 40–50 мкг. По мнению авторов, причина такой относительной селективности связана с тем, что углеводные остатки на поверхности эритроцитов, с которыми взаимодействует ФГА фасоли, разные по своей природе, в том числе по конфигурации в положениях 2 и 4 пиранового кольца. В частности, по данным этих авторов [51],

углеводным остатком гликопротеидов антигена А являются 0-альфа 2-ацетоамидо-2-деокси-D-галактопиранозил-(1 → 3)-бета-D-галактопиранозил, для антигена В – это 0-альфа-D- галактопиранозил-(1 → 3)-бета-D-галактопиранозил, а для антигена Н – это 0-бета-D-галактопиранозил-(1 → 3)-бета-ацетоамидо-2-деокси-D-глюкопиранозил. Помимо эритроцитов человека ФГА фасоли вызывает агглютинацию эритроцитов кролика [46, 57], коровы [46] и крысы [24, 33, 39]. Считается, что основным рецептором для ФГА фасоли, является гликофорин, для которого характерно большое число остатков сиаловой кислоты. Поэтому, обработка эритроцитов нейраминидазой полностью блокирует способность ФГА вызывать агглютинацию эритроцитов [35].

Следует подчеркнуть, что в семенах фасоли обыкновенной (*Phaseolus vulgaris* L.), как и в семенах арахиса (*Arachis hypogaea* L) имеется еще один лектин, который обладает иммунодепрессивным действием [83]. Это тетрамерный белок (94 кДа), который подавляет иммунный ответ организма на введение чужеродного белка. Действительно, внутрибрюшинное введение 50 мкг этого белка мышам за 2 дня до иммунизации эритроцитами барана полностью ингибировало выработку антител.

Сообщается об использовании ФГА фасоли при изучении природы гликопротеина эритроцитов, с которым взаимодействуют антитела А и В [51, 61] при оценке способности ряда противомаларийных препаратов уменьшать агглютинацию эритроцитов человека [58], а ФГА фасоли – повышать цитотоксическую активность моноклеарных лейкоцитов периферической крови человека [2] и для диагностики бронхиальной астмы [26]. В частности, используя очищенный препарат ФГА фасоли (ICN Biomedicals Inc., USA) В.Н. Минеев и соавт. [26], установили, что у здоровых людей и у пациентов с аллергической формой бронхиальной астмы (БА) он ускоряет скорость оседания эритроцитов (СОЭ), а у пациентов с неаллергической БА или с аспириновой БА, наоборот, он замедляет ее. Под влиянием глюкокортикоидной терапии происходило восстановление способности ФГА фасоли повышать СОЭ [26].

5. Изучение агглютинации эритроцитов, индуцированной антителами или лектинами, для оценки вероятности перехода УПР в ПР

Как отмечалось выше, беременность протекает на фоне иммунологической

толерантности матери по отношению к полуаллогенному плоду. Толерантность проявляется в снижении активности Т- и В-лимфоцитов и повышении активности нейтрофилов и моноцитов, а индукция срочных и преждевременных родов рассматривается как следствие воспалительного процесса, возникающего под влиянием инфекции или других причин [48, 79]. С этих позиций следует ожидать, что при беременности должна меняться способность эритроцитов к агрегации, индуцированной поликлональными или моноклональными антителами, либо ФГА. К нашему удивлению, имеются лишь единичные исследования в этом направлении [7, 22, 62, 85].

5.1. Изменение способности эритроцитов к агрегации при беременности. Известно, что способность эритроцитов к агрегации прогрессивно повышается при беременности, начиная с 10 недели, увеличиваясь к 38 недели беременности на 40% от исходного уровня [14]. Показано, что у беременных женщин (III триместр) агрегация эритроцитов, индуцированная алциановым голубым, выше, чем у небеременных женщин [14, 34]. Полагают, что повышение агрегационной способности эритроцитов при беременности обусловлено увеличением в крови уровня фибриногена [14], который, как известно, повышает способность эритроцитов к спонтанной агрегации [45].

5.2. Изменение агглютинабельности эритроцитов при беременности. Этот вопрос отражен в ряде работ [7, 22, 62, 85]. В частности, М.Г. Василевский [7] показал, что при беременности у женщин число неагглютинабельных эритроцитов, т.е. эритроцитов, которые не агглютинируют, несмотря на присутствие в среде агглютининов, меняется. Так, у женщин с группой крови А до беременности доля неагглютинабельных эритроцитов достигала 8,3%, в I триместре – 2,6%, во II триместре – 14,2%, в III триместре – 6,8%, а у рожениц – 2,0%. Аналогично, у женщин с группой крови В эти значения составили соответственно 10,1; 6,5; 18,3; 7,2 и 1,7%. Таким образом в I триместре их доля снижается, во II триместре существенно возрастает, а в III триместре падает и еще больше снижается в родах, т.е. когда способность взаимодействия антитела с антигеном должна возрастать, исходя из представления о родах как воспалительном процессе. В этой работе было также установлено, что динамика агглютинабельности эритроцитов при беременности обусловлено изменением числа

свободных антигенов А и В на поверхности эритроцита, что объясняется сорбированием продуктов распада на поверхности эритроцитов. Так, у женщин с группой крови А уровень антигена А до беременности составил 114,8 усл. ед., а при беременности в I, II и III триместре – соответственно 63,1; 263 и 109,6 усл. ед., т.е. это число снижалось в I триместре, но существенно повышалось во II триместре и вновь снижалось в III триместре. Аналогичная динамика отмечена в отношении антигена В.

По данным С. Wahl et al. [85] при беременности в эритроцитах появляется так называемый Th-антиген. Он выявляется у 11% женщин и у 13,5% плодов при использовании в качестве индуктора агглютинации лектина из арахиса (*Arachis hypogaea* L.). Вероятность выявления этого антигена у беременных женщин возрастает при наличии у них бактериальных инфекций или при врожденной гипопластической анемии.

К. Lange-Konior [62] оценивал активность эндогенного ингибитора агглютинации эритроцитов 0 группы, вызываемой ФГА гороха посевного (*Pisum sativum* L.). Анализировалась сыворотка крови 152 беременных женщин и рожениц (Щецин, в 1992-1993 годы) и в сыворотке пуповинной крови их новорожденных ($n = 156$). Авторы полагали, что сыворотка крови содержит ингибитор фитогемагглютинации, вызываемой ФГА гороха посевного (*Pisum sativum* L.). Уровень этого ингибитора ($I_{\text{ФГА}}$) в сыворотке оценивали косвенно – по предельному титру ее разведения, при котором оно тормозит агглютинацию, вызываемую ФГА гороха. Установлено, что в сыворотке крови матери уровень $I_{\text{ФГА}}$ не зависел от срока беременности. Не удалось выявить $I_{\text{ФГА}}$ в сыворотке крови плодов, рожденных при ПР (31–37 недель), или рожденных в срок, но с массой тела менее 2500 г, либо рожденных в срок, но путем кесарева сечения. Но этот фактор содержался в сыворотке крови плодов, рожденных через естественные родовые пути при срочных родах. Уровень $I_{\text{ФГА}}$ в крови таких новорожденных не зависел от их состояния (по шкале Апгар), но он был выше у плодов, рожденных при затяжных (на 4 часа) родах. Автор полагал, что в период интенсивных делений клеток, их дифференцировки, т.е. при внутриутробном периоде развития плода активность $I_{\text{ФГА}}$ в биологических жидкостях очень низкая или вообще не проявляется, а с увеличением зрелости плода содержание $I_{\text{ФГА}}$ в сыворотке крови и других средах

постепенно повышается. Автор рассматривал $I_{\text{ФГА}}$ в качестве эндогенного лектина, который, вероятно, имеет отношение к индукции срочных родов и который блокирует взаимодействие антигена с антителом. Эти наблюдения перекликаются с данными Е.А. Зотикова и соавт. [16], согласно которым появление в крови иммунодепрессантов снижает способность сывороточных поликлональных антител агглютинировать эритроциты. К. Lange-Konior [62] предполагает, что $I_{\text{ФГА}}$ по своей природе является эндогенным лектином, который может появляться в крови не только при беременности и в родах, но и при опухолях, блокируя механизмы иммунного надзора и тем самым способствуя размножению раковых клеток. К удивлению, мы не нашли другие статьи этого автора по данной тематике или работы других исследователей в этом направлении.

В нашей лаборатории была исследована зависимость времени начала агглютинации (ВНА) эритроцитов человека от пола, а у женщин – от этапа репродуктивного процесса (при отсутствии в среде БАВ, т.е. «фоновое» ВНА). При этом использовали три разновидности индукторов агглютинации: либо изогемагглютинирующую сыворотку 0 группы, т.е. сывороточные поликлональные антитела [4, 8, 9, 36]; либо моноклональные антитела, в частности изосероклонTM Анти-D IgM-реагент [5, 22, 37], либо солевой экстракт семян гороха (ФГАг) в разведении 1:5 [22, 25], или семян фасоли (ФГАф) в разведении 1:50 [22]. По понятным причинам, при индукции агглютинации поликлональными или моноклональными антителами из исследований исключались лица с 0 группой крови, что существенно ограничивает возможности исследования. Однако это ограничение снималось при использовании ФГАг или ФГАф в качестве индуктора агглютинации. Было установлено, что значения ВНА на протяжении беременности и в родах, а также при наличии УПР не меняются, если индукция агглютинации эритроцитов вызывается сывороточными поликлональными антителами (анти-А, анти-В), или моноклональными антителами (анти- D), но они изменяются при индукции агглютинации фитогемагглютинаинами, в частности, ВНА существенно возрастает в родах (ФГАг и ФГАф) и при УПР (ФГАф). Таким образом, характер этих изменений, особенно, в отношении эритроцитов женщин с УПР, зависит от вида ФГА (ФГАг или ФГАф).

Действительно, при индукции агглютинации эритроцитов сывороточными поликлональными антителами, т.е. изогемагглютинирующей сывороткой 0 группы [4, 8, 9, 22, 36] или моноклональными антителами, в частности, изосероклономTM Анти-D IgM- реагентом [5, 22, 37], установлено, что ВНА агглютинации эритроцитов у женщин практически не зависит от этапа репродуктивного процесса, в том числе от наличия родовой деятельности или угрозы ПР. Так, А.И. Володченко и соавт. [8, 9] при исследовании эритроцитов гепаринизированной венозной крови (в каждой группе по 10 человек) небеременных женщин в фолликулярную или в лютеиновую фазы цикла, беременных женщин (I, II и III триместры), рожениц (латентная фаза I периода срочных родов) показали, что фоновая ВНА эритроцитов (т.е. ВНА при внесении эритроцитов в изогемагглютинирующую сыворотку в присутствии раствора Кребса) у женщин в фолликулярную фазу цикла составило (медиана) 18 с, в лютеиновую фазу – 15 с (различия между ними незначимы), у женщин в I, II и III триместрах – соответственно 13 с, 13 с и 12 с (различия с небеременными женщинами и между собой незначимы), а у рожениц – 11 с, что статистически значимо ниже, чем в группе у небеременных, но не отличается от беременных. Таким образом, при физиологическом течении беременности ВНА фоновой агглютинации эритроцитов существенно не меняется, но уменьшается (в сравнении с небеременными) в родах, т.е. скорость агглютинации в родах имеет тенденцию к росту. Эти данные были подтверждены и в другой нашей работе [36], в которой помимо указанных выше групп женщин исследовали эритроциты гепаринизированной венозной крови 10 женщин с угрозой преждевременных родов (УПР), не перешедшей в ПР. Показано, что ВНА у женщин в фолликулярную и лютеиновую фазы цикла, а так же у беременных (I, II и III триместры), рожениц и женщин с УПР составило соответственно 17 с, 14 с, 13 с, 13 с, 12 с, 11 с и 10 с. При этом значения ВНА у беременных, рожениц и женщин с УПР были статистически ниже, чем у небеременных, а различия между беременными, роженицами и женщинами с УПР были незначимы. В целом, незначительное снижение ВНА, т.е. повышение фоновой скорости агглютинации эритроцитов при беременности и в родах авторы объяснили повышением при беременности и, особенно, в родах, уровня фибриногена, что

установлено многими авторами [50]. Как известно [45], фибриноген повышает способность эритроцитов к спонтанной агрегации. Таким образом, фоновая скорость агглютинации эритроцитов у женщин, судя по характеру изменения ВНА, не зависит от фазы менструального цикла, незначительно возрастает уже в I триместре физиологически протекающей беременности и сохраняется на этом уровне вплоть до родов, в том числе и при УПР. Близкие данные были получены О.М. Безмельцевой, и соавт. [4], согласно которым ВНА эритроцитов, индуцированной сывороточными поликлональными антителами, у мужчин составило 10 с, у небеременных женщин (без учета фазы цикла) – 6 с, у беременных в I, II и III триместрах – соответственно 10 с, 9 с и 10 с, у рожениц – 9,5 с, а у женщин с УПР – 8 с. При этом все различия значений ВНА между небеременными, беременными, в том числе с УПР, и роженицами были статистически незначимы. Итак, использование сывороточных поликлональных антител в качестве индуктора агглютинации не позволило обнаружить различия между роженицами и беременными, в том числе при наличии у них УПР.

При использовании моноклональных антител (в частности изосероклонаTM анти-D-реагента) как индукторов агглютинации эритроцитов установлено [5, 22, 37], что и в этом случае ВНА эритроцитов у женщин практически не зависит от этапа репродуктивного процесса, в том числе от наличия родовой деятельности или УПР. Так, по данным О.М. Безмельцевой и соавт. [5], фоновое ВНА у мужчин (доноров крови) составило 11,0 с, у женщин в I, II и III триместрах беременности – соответственно 16 с, 11,5 с и 11 с, у рожениц (латентная фаза I периода родов) – 11 с, и у женщин с УПР – 10 с (различия между группами были статистически незначимы). В аналогичных исследованиях А.В. Марьина [22] показала, что ВНА эритроцитов у беременных женщин (I, II и III триместры), рожениц (латентная фаза I периода родов) и беременных с УПР (22–31 нед.) составило соответственно – 17 с, 11 с, 13,5 с, 14,5 с и 11 с, а у мужчин – 10 с. При этом ВНА эритроцитов у женщин было статистически значимо выше, чем, мужчин (11–17 с против 10 с), однако у женщин ВНА не зависело от срока беременности, наличия родовой деятельности или УПР, т.к. различия были незначимы. В.И. Циркин и соавт. [37] в аналогичных условиях также показали, что ВНА бере-

менных (II триместр), рожениц (латентная фаза I периода родов) и женщин с УПР (24–36 нед.) составило соответственно 18 с, 15 с, и 10,5 с, а у мужчин – 10,5 с. При этом все различия между группами были статистически незначимы. Таким образом, применение моноклональных антител (анти-D) в качестве индуктора агглютинации не позволило обнаружить различия между роженицами и беременными, в том числе при наличии УПР.

При использовании в качестве индуктора агглютинации солевого экстракта гороха посевного (*Pisum sativum* L.) при соотношении субстрата и раствора Кребса, равное 1:5, А.В. Марьина [22] установила, что фоновое ВНА эритроцитов у беременных женщин (I, II III триместры), рожениц (латентная фаза I периода родов), у женщин с УПР (22–31 нед.) и у мужчин составило соответственно (медиана) 34,5 с, 73 с, 70 с, 116,5 с, 56 с и 47 с. При этом, у женщин во всех группах, за исключением беременных (I триместр), ВНА было больше, чем у мужчин; у женщин во II и в III триместрах беременности ВНА было больше, чем у женщин в I триместре; у рожениц ВНА было больше, чем у беременных женщин (I, II и III триместры) соответственно на 238; 60 и 66%, а женщин с УПР было таким же, как у беременных без УПР во II и III триместрах, но статистически значимо ниже, чем у рожениц (56 с против 116,5 с).

При использовании в качестве индуктора агглютинации солевого экстракта фасоли обыкновенной (*Phaseolus vulgaris* L.), при соотношении 1:50, в этом же исследовании было установлено [22], что фоновое ВНА эритроцитов у беременных женщин (I, II, III триместры), рожениц (латентная фаза I периода родов), у женщин с УПР и у мужчин составило соответственно (медиана) 18,0 с, 21,5 с, 20,5 с, 35,0 с, 27,5 с и 14,0 с. При этом ВНА у женщин в I, II и III триместрах не отличалось от ВНА мужчин, а ВНА у рожениц (35 с) было выше, чем у беременных женщин во II триместре беременности (на 63%) и в III триместре (на 71%). У женщин с УПР значения ВНА были значимо выше (на 34%), чем у женщин в III триместре (27,5 с против 20,5 с), но ниже, чем у рожениц (27,5 с против 35 с). Следует подчеркнуть, что выявленное в исследованиях А.В. Марьиной [22] повышение ВНА у рожениц (ФГАг, ФГАф) и у женщин с УПР (ФГАф) в определенной степени согласуются с данными К. Lange-Konior [62] о появлении при срочных родах

фактора, ингибирующего агглютинацию эритроцитов, которая вызывалась ФГА семян гороха посевного (*Pisum sativum* L.). Не исключено, что наличие этого фактора и вызывает в исследованиях А.В. Марьиной [22] повышение ВНА эритроцитов рожениц и, частично, у женщин с УПР.

Таким образом, результаты исследований нашей лаборатории позволяют заключить, что при беременности, в родах и при УПР меняется способность эритроцитов к агглютинации, но характер изменений выявляется лишь при использовании в качестве индуктора агглютинации лектинов (ФГАг и ФГАф), но не обнаруживается при использовании в качестве индукторов агглютинации сывороточных поликлональных антител или моноклональных антител (целиклонов). В частности, применение ФГАг и ФГАф в качестве индуктора агглютинации позволило обнаружить повышение ВНА во II и III триместрах беременности по сравнению с I триместром (выявлено при использовании ФГАф), а также повышение (на 60–77%) ВНА эритроцитов рожениц по сравнению с ВНА эритроцитов беременных женщин (выявлено при использовании ФГАг и ФГАф) и повышение ВНА эритроцитов женщин с УПР (на 34%) по сравнению с беременными без УПР (выявлено при использовании ФГАф). Это указывает на возможность определения срока родов при доношенной беременности и оценку риска перехода УПР в ПР по ВНА эритроцитов при использовании в качестве индуктора агглютинации лектинов ФГАф или ФГАг. Мы не исключаем, что можно будет найти такой индуктор агглютинации (ФГА), который бы с высокой вероятностью указывал на возможность перехода УПР в ПР или наоборот – на отсутствие такого перехода. Следовательно, задача будущих исследований заключается в нахождении таких лектинов (растительного или животного происхождения).

5.3. Изменение реакции эритроцитов на адреналин и другие БАВ при УПР, определяемое по БАВ-зависимой агглютинации эритроцитов. В нашей лаборатории была исследована реакция эритроцитов небеременных и беременных женщин, а также рожениц и женщин с УПР на различные вещества по БАВ-зависимой агглютинации эритроцитов, в том числе реакция на адреналин [8, 9, 23, 36, 37], ацетилхолин [36], окситоцин [4], серотонин [5], прогестерон [37] и эстрадиол [37]. При исследовании влияния адреналина были использованы три вида индукторов агглютинации

эритроцитов: сывороточные поликлональные антитела [8, 9, 22, 36, 37]; моноклональные антитела [23, 37], а также ФГА гороха и фасоли [23]. При исследовании остальных веществ в качестве индуктора агглютинации эритроцитов женщин в основном применяли сывороточные поликлональные антитела [4, 36] и моноклональные антитела [5, 11, 37]. Резюмируя кратко результаты этих исследований, отметим, что при беременности и в родах меняется реакция эритроцитов на воздействие указанных гормонов, что объясняется изменением эффективности активации соответствующих G-белок-ассоциированных рецепторов, находящихся на поверхности эритроцитов. Эти изменения могут быть важными индикаторами готовности организма к родам или основанием для прогнозирования перехода УПР в ПР. В целом, установлено, что по одним показателям эритроциты у женщин с УПР весьма схожи с эритроцитами рожениц – это реакция эритроцитов на адреналин и на ацетилхолин, при воздействии которых ВНА снижается и у рожениц, и у женщин с УПР [36]. Это также реакция эритроцитов на водорастворимый препарат эстрадиола (Прогинова), который не влияет на ВНА эритроцитов и у рожениц, и у женщин с УПР [37]. Это характер влияния водорастворимых препаратов прогестерона (дидрогестерона, или Дюфастона) и эстрадиола валериата (Прогинова) на эффективность активации альфа₁-адренорецепторов, которая не изменяется под влиянием этих препаратов у эритроцитов беременных женщин, но возрастает у эритроцитов рожениц и женщин с УПР [37]. В то же время эритроциты женщин с УПР отличаются от эритроцитов рожениц по реакции на окситоцин, который не влияет на ВНА у женщин с УПР, но повышает ВНА у рожениц [4], по реакции на серотонин, который не влияет на ВНА у женщин с УПР, но снижает ВНА у рожениц [5], по реакции на водорастворимый гестаген (дидрогестерон, или Дюфастон), который не влияет на ВНА у женщин с УПР, но снижает ВНА у рожениц [37]. Важно подчеркнуть, что при использовании в качестве индуктора агглютинации ФГА результаты исследования адренореактивности [23] совпадают с теми, что получены при оценке адренореактивности эритроцитов, агглютинация которых вызывалась сывороточными поликлональными антителами [8, 9, 22, 36, 37] или моноклональными антителами [23, 37]. Это говорит о перспективности применения лектинов, в том

числе ФГАф для характеристики состояния БАВ-реактивности эритроцитов, что может быть использовано с целью оценки сроков наступления родов при доношенной беременности и для оценки риска перехода УПР в ПР. Это может быть полезным при выборе тактики купирования УПР.

Список сокращений:

БА – бронхиальная астма;
ВНА – время начала агглютинации;
И_{ФГА} – ингибитор агглютинации, вызываемой фитогемагглютинином гороха;
ПР – преждевременные роды;
СОЭ – скорость оседания эритроцитов;
УПР – угроза преждевременных родов;
ФГА – фитогемагглютинин (ы);
ФГАг – фитогемагглютинин из семян гороха посевного (*Pisum sativum* L.);
ФГАф – фитогемагглютинин из семян фасоли обыкновенной (*Phaseolus vulgaris*)

Список литературы

1. Антониюк В.А. Роль лектинов как биологически активных веществ в фармацевтических препаратах // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2014. – № 1. – С. 14–20.
2. Ахматова Н.К., Лебединская О.В., Киселевский М.В., Шехмамиев Р.М., Лебединская Е.А., Мелехин С.В. Влияние растительных лектинов на цитотоксическую активность мононуклеарных лейкоцитов периферической крови человека // Фундаментальные исследования. – 2006. – № 3. – С. 35.
3. Баймуратова Л.Р. Гемагглютинирующая активность лектинов бацидиомитов // Интеллектуальный потенциал XXI века: ступени познания (Уфа, Башкирский государственный университет). – 2012. – № 11. – С. 20–22.
4. Безмельцева О.М., Махнева А.И., Шушканова Е.Г., Циркин В.И., Черепанова Т.В., Дмитриева С.Л., Попова В.С., Хлыбова С.В., Костяев А.А. Влияние окситоцина на скорость агглютинации эритроцитов человека, индуцированной изогемагглютинирующей сывороткой // Медицинский альманах. – 2014. – № 5. – С. 71–74.
5. Безмельцева О. М., Циркин В. И., Дмитриева С. Л., Братухина О.А., Черепанова Т. В. Костяев А.А. Влияние серотонина на скорость агглютинации эритроцитов, индуцированной Анти-D IgM-реагентом, у беременных женщин, рожениц и женщин с угрозой преждевременных родов // Медицинский альманах. – 2015. – № 4(39). – С. 55–58.
6. Безмельцева О. М., Марьина А. В. Влияние прогестерона на способность серотонина и окситоцина изменять скорость агглютинации эритроцитов мужчин, индуцированную фитогемагглютинином фасоли. Эффект атозибана // Вопросы фундаментальной и прикладной физиологии в исследованиях студентов вузов: материалы VIII всероссийской молодежной научной конференции. – Киров: ВятГУ, 2016. – С. 20–25. Bezmel'ceva O. M., Mar'ina A. V. Vliyanie progesterona na sposobnost' serotonina i oksitocina izmenyat' skorost' agglyutinacii ehritrocitov muzhchin, inducirovannuyu fitogemaggyutinonom fasoli. Ehhfekt atozibana // Voprosy fundamental'noj i prikladnoj fiziologii v issledovaniyah studentov vuzov: Materialy VIII vserossijskoj molodezhnoj nauchnoj konferencii. – Kirov: VyatGU, – 2016. – S. 20-25. (Questions of fundamental and applied research in the physiology of university students: Proceedings of VIII All-Russian Youth Scientific conference). – Kirov: VSU, 2016. – P. 20–25.
7. Василевский М.Г. Влияние беременности на серологические свойства эритроцитов // Акушерство и гинекология. – 1983. – № 12. – С. 36–38.

8. Володченко А.И., Циркин В.И., Хлыбова С.В., Дмитриева С.Л. Аденореактивность эритроцитов, определяемая по их аденозависимой агглютинации, у женщин на различных этапах репродуктивного процесса // Вятский медицинский вестник. – 2013. – № 1. – С. 25–31.

9. Володченко А.И., Циркин В.И., Хлыбова С.В., Дмитриева С.Л. Изменение скорости аденозависимой агглютинации эритроцитов у женщин на различных этапах репродуктивного процесса // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2013. – Т. 13, № 6. – С. 10–15.

10. Воскобой И.В. Лектининдуцированная агрегация эритроцитов и тромбоцитов у больных нестабильной стенокардией // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2002. – № 1. – С. 42–46.

11. Вывро А.В., Марьина А.В. Влияние эстрогена и прогестерона на скорость агглютинации эритроцитов человека, индуцированной анти-D IgM-реагентом // Вопросы фундаментальной и прикладной физиологии в исследованиях студентов вузов: материалы VIII всероссийской молодежной научной конференции. – Киров: ВятГУ, – 2016. – С. 41–46. Vyvro A. V., Mar'ina A. V. Vliyanie ehstrogena i progesterona na skorost' agglyutinacii ehritrocitov cheloveka, inducirovannoj anti-D IgM-reagentom // Voprosy fundamental'noj i prikladnoj fiziologii v issledovaniyah studentov vuzov: Materialy VIII vserossijskoj molodezhnoj nauchnoj konferencii. – Kirov: VyatGU, 2016. – S. 41-46 (Questions of fundamental and applied research in the physiology of university students: Proceedings of VIII All-Russian Youth Scientific conference). – Kirov: VSU, – 2016. – P. 41–46.

12. Гунько В.О., Погорелова Т.Н., Линде В.А. Протеомное профилирование сыворотки крови в прогнозировании преждевременных родов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2016. – Т. 161, № 6. – С. 789–792.

13. Дворецкий К. Н. Увеличение разрешающей способности фотометрического метода регистрации агглютинации эритроцитов человека in vitro: Автореферат дис. канд. физ.-мат. наук. – Саратов, – 2005. – 16 с.

14. Долгушина Н.А. Морфофункциональное состояние эритроцитов при физиологически протекающей и осложненной гестозом беременности. – Киров: КОГУЗ «Медицинский информационно-аналитический центр», – 2009. – 190 с. Dolgushina N. A. Morfofunkcional'noe sostoyanie ehritrocitov pri fiziologicheski protekayushchej i oslozhennoj gestozom beremennosti. – Kirov: KOGUZ «Medicinskij informacionno-analiticheskij centr», – 2009. – 190 s. (Morphological and functional state of erythrocytes at physiologically proceeding and complications of preeclampsia pregnancy). – Kirov: KOGUZ «Medical Information and Analytical Center», – 2009. – 190 p.

15. Жибурт Е.Б. Трансфузиология. – СПб.: Питер, – 2002. – 736 с. Zhiburt E.B. Transfuziologiya. SPb.: Peter, – 2002. – 736 s. (Transfusiology). – SPb.: Peter, – 2002. – 736 p.

16. Зотиков Е.А., Манишкина Р.П., Файнштейн Ф.Е. Хорошко Н.Д., Фриновская И.В. Об ингибирующем действии кортикостероидных гормонов, эпсилон-аминокапроновой кислоты и мочевины на агглютинирующую активность антител // Доклады академии наук СССР. – 1969. – Т. 185, № 5. – С. 1161–1163.

17. Игнатов В.В. Углеводузнающие белки – лектины // Соросовский образовательный журнал. – 1997. – № 2. – С. 14–20.

18. Игнатов В.В. Молекулярные основы взаимоотношений ассоциативных микроорганизмов с растениями. – М.: Наука, 2005. – 262 с. Ignatov V.V. Molekulyarnye osnovy vzaimootnoshenij associativnyh mikroorganizmov s rasteniyami. – M: Nauka, – 2005. – 262 s. (Molecular basis of the relationship associative microorganisms with plants) – M.: Science, 2005. – 262 p.

19. Киричук В.Ф., Россошанская С.И., Ребров А.П. Лектин-индуцированная агрегация эритроцитов у больных с хронической сердечной недостаточностью I функционального класса // Гемореология в микро- и макроциркуляции: материалы международной конференции. – Ярославль, 2005. – С. 216; Kirichuk V.F., Rossoshanskaya S.I.,

- Rebrov A.P. Lektin-inducirovannaya agregatsiya ehritrocytov u bol'nyh s hronicheskoy serdechnoy nedostatochnost'yu I funktsional'nogo klassa // Gemoreologiya v mikro- i makrocirkulyacii. Materialy mezhdunarodnoy konferencii Yaroslavl'. – 2005. – S. 216. Hemorheology in macro- and microcirculation: Proceedings of the international conference. – Yaroslavl, 2005. – P. 216.
20. Луцик М.Д., Ниедра И.Ю., Малей С.М. Способ получения фитогемагглютиниана // Патент России. № 571267. – 1977. – Бюлл № 33.
21. Луцик М.Д., Панасюк Е.Н., Луцик А.Д. Лектины. – Львов: Изд-во «Вища школа» при Львовском государственном университете, – 1981. – 156 с. Lucik M.D., Panasyuk E.N., Lucik A.D. Lektiny // – L'vov, izd-vo Vishcha shkola» pri L'vovskom gosudarstvennom universitete, – 1981. – 156 p. (Lectins) Lviv, publishing high school; Lviv State University, – 1981. – 156 p.
22. Марьяна А.В. Время начала агглютинации эритроцитов человека, индуцированной изосероклоном ТМ – Анти-D IgM и фитогемагглютинианами фасоли и гороха // Вопросы фундаментальной и прикладной физиологии в исследованиях студентов вузов: материалы VII всероссийской молодежной научной конференции. – Киров: ВятГУ, 2015. – С. 95–99. Mar'ina A.V. Vremya nachala agglyutinacii ehritrocytov cheloveka, inducirovannoy izoseroklonom TM – Anti-D IgM i fitogemagglyutininiami fasoli i goroha // Voprosy fundamental'noj i prikladnoj fiziologii v issledovaniyah studentov vuzov: Materialy VII vserossijskoj molodezhnoj nauchnoj konferencii. – Kirov: VyatGGU, 2015. – P. 95–99. (Questions of fundamental and applied research in the physiology of university students: Proceedings of VIII all-russian youth scientific conference). – Kirov: VSU, 2015. – P. 95–99.
23. Марьяна А.В. Время начала агглютинации эритроцитов человека в присутствии адреналина, аденоблокаторов и в зависимости от индукторов агглютинации // Вопросы фундаментальной и прикладной физиологии в исследованиях студентов вузов: материалы VIII всероссийской молодежной научной конференции. – Киров: ВятГУ, 2016. – С. 123–128. Mar'ina A.V. Vremya nachala agglyutinacii ehritrocytov cheloveka v prisutstvii adrenalina, adenoblokatorov i v zavisimosti ot induktorov agglyutinacii // Voprosy fundamental'noj i prikladnoj fiziologii v issledovaniyah studentov vuzov: Materialy VIII vserossijskoj molodezhnoj nauchnoj konferencii. – Kirov: VyatGU, 2016. – P. 123–128. (Questions of fundamental and applied research in the physiology of university students: Proceedings of VIII all-russian youth scientific conference). – Kirov: VSU, 2016. – P. 123–128.
24. Марьяна А.В., Чистякова Л.В., Бышева М.В. Адоренореактивность эритроцитов небеременных крыс, оцениваемая по изменению времени начала агглютинации под влиянием адреналина и аденоблокаторов // Вопросы фундаментальной и прикладной физиологии в исследованиях студентов вузов: материалы VIII всероссийской молодежной научной конференции. – Киров: ВятГУ, 2016. – С. 129–133. Mar'ina A.V., Chistyakova L.V., Bysheva M.V. Adrenoreaktivnost' ehritrocytov neberemennyh krys, ocenivaemaya po izmeneniyu vremeni nachala agglyutinacii pod vliyaniem adrenalina i adenoblokatorov // Voprosy fundamental'noj i prikladnoj fiziologii v issledovaniyah studentov vuzov: Materialy VIII vserossijskoj molodezhnoj nauchnoj konferencii. – Kirov: VyatGU, 2016. – P. 129–133. (Questions of fundamental and applied research in the physiology of university students: Proceedings of VIII All-Russian Youth Scientific conference). – Kirov: VSU, 2016. – P. 129–133.
25. Махнева А.И., Безмелцева О.М. Мойсенко Н.А., Циркин В.И., Дмитриева С.Л., Попова В.С., Черепанова Т.В., Хлыбова С.В. Влияние адреналина на скорость агглютинации эритроцитов человека, вызванную фитогемагглютинином // Медицинский альманах. – 2014. – № 5. – С. 77–80.
26. Минеев В.Н., Нестерович И.И. Андреева А.В. Характеристика мембранно-рецепторного комплекса эритроцитов с помощью фитогемагглютиниана при бронхальной астме // Медицинская иммунология. – 2003. – № 5–6. – С. 547–554.
27. Минеева Н.В., Мороков В.А. Эритроцитарные антигены и методы их выявления // Руководство по общей, производственной и клинической трансфузиологии. – 2-е изд., изм. и дополн / под ред. Е.П. Сведенцова. – М.: Медицинская книга, 2012. – С. 49–96. Mineeva N.V., Morokov V.A. EHritrocytarnye antigeny i metody ih vyavleniya // Rukovodstvo po obshchej, proizvodstvennoj i klinicheskoj transfuziologii. Izd. 2-e, izm. i dopoln. Pod red. E.P. Svedencova. – M.: Medicinskaya kniga, – 2012. – P. 49–96. (Erythrocyte antigens and methods for their detection // Manual of general, industrial and clinical transfusiology. Ed. 2nd, rev. and complementary. Ed. E.P. Svedentsov). – M.: Medical Book, 2012. – P. 49–96.
28. Мойсенко Н.А., Иржак Л.И. Агглютинация эритроцитов кролика при напряженном эритропоэзе // Журн. общей биологии. – 1972. – Т. 33, № 6. – С. 779–786.
29. Мушкабаров Н.Н., Кузнецов С.Л. Молекулярная биология: учебное пособие для студентов медицинских вузов. – М.: Медицинское информационное агентство, 2007. – С. 260–300. Mushkabarov N.N., Kuznetsov S.L. Molekulyarnaya biologiya // -Uchebnoe posobie dlya studentov medicinskih vuzov. – M.: «Medicinskoe informacionnoe agentstvo, 2007. – P. 260–300. (Molecular biology: schoolbook for medical students) – M.: Medical News Agency, 2007. – P. 260–300.
30. Потапов М.И. Гемагглютинирующие свойства (фитагглютинины) экстрактов из семян семейства бобовых (Сообщение I) // Судебно-медицинская экспертиза. – 1961. – № 3. – С. 20м26.
31. Потапов М.И. Определение антигенов А1 и А2 эритроцитов фитогемагглютинином // Судебно-медицинская экспертиза. – 2004. – № 1. – С. 16–19.
32. Потапов М.И. Определение антигенов А1 и А2 эритроцитов фитогемагглютинином // Судебно-медицинская экспертиза. – 2004. – № 6. – С. 32–35.
33. Ситникова Е.Ю., Харина В.А., Марьяна А.В. Влияние ацетилхолина, прогестерона и эстрогена на скорость агглютинации эритроцитов небеременных крыс, индуцируемой фитогемагглютинином // Вопросы фундаментальной и прикладной физиологии в исследованиях студентов вузов: материалы VIII всероссийской молодежной научной конференции. – Киров: ВятГУ, 2016. – С. 169–173. Sitnikova E.Yu., Harina V.A., Mar'ina A.V. Vliyanie acetilholina, progesterona i ehstrogena na skorost' agglyutinacii ehritrocytov neberemennyh krys, inducirovannoy fitogemagglyutininom // Voprosy fundamental'noj i prikladnoj fiziologii v issledovaniyah studentov vuzov: Materialy VIII vserossijskoj molodezhnoj nauchnoj konferencii. – Kirov: VyatGU, 2016. – P. 169–173. (Questions of fundamental and applied research in the physiology of university students: Proceedings of VIII All-Russian Youth Scientific conference). – Kirov: VSU, 2016. – P. 169–173.
34. Трошкина Н.А., Циркин В.И., Дворянский С.А., Ивашкина Е.П. Оценка адоренореактивности эритроцитов небеременных и беременных женщин с физиологически протекающей и осложненной гестозом беременностью // Пермский медицинский журнал. Приложение. «Проблемы репродуктивного здоровья и безопасное материнство». – 2007. – Т. 24, № 1–2. – С. 140–145.
35. Хомутовский О.А., Луцик М.О., Передрей О.Ф. Электронная гистохимия рецепторов клеточных мембран. – Киев: Наук. Думка, 1986. – 168 с. Homutovskij O.A., Lucik M.O., Peredrej O.F. EHlektronnaya gistohimiya receptorov kletochnyh membran. – Kiev: Nauk. Dumka, 1986. – 168 p. (Electronic histochemistry of cell membrane receptors. – Kiev: Nauk. Dumka, 1986. – 168 p.
36. Циркин В.И., Володченко А.И., Хлыбова С.В., Дмитриева С.Л., Братухина О.А. Адоренореактивность эритроцитов женщин на протяжении репродуктивного процесса // Вестник Северного (Арктического) федерального университета. Серия «Медико-биологические науки». – 2014. – № 2. – С. 78–90.
37. Циркин В.И., Бышева М.В., Чистякова Л.В., Дмитриева С.Л., Черепанова Т.В., Братухина О.А., Костяев А.А.,

Марьяна А.В. Влияние прогестерона и эстрогена на скорость агглютинации и адгезионную активность эритроцитов беременных женщин и рожениц // Медицинский альманах. – 2015. – № 4(39). – С. 52–55.

38. Чикаловец И.В., Молчанова В.И., Булгаков А.А., Черников О.В., Петрова И.Ю., Лукьянов П.А. Использование лектинов морских гидробионтов для диагностики ряда социально значимых заболеваний человека // Вестник ДВО РАН. – 2010. – № 5. – С. 125–130.

39. Чистякова Л.В., Бышева М.В., Марьяна А.В. Влияние адреналина, прогестерона и эстрогена на скорость агглютинации эритроцитов, индуцируемой фитогемагглютинином, у небеременных крыс // Вопросы фундаментальной и прикладной физиологии в исследованиях студентов вузов: материалы VIII всероссийской молодежной научной конференции. – Киров: ВятГУ, 2016. – С. 196–200. Chistyakova L.V., Bysheva M.V., Mar'ina A.V. Vliyanie adrenalina, progesterona i ehstrogena na skorost' agglyutinacii ehritrocytov, inducirovanoj fitogemagglyutininom, u neberemennyh krysov // Voprosy fundamental'noj i prikladnoj fiziologii v issledovaniyah studentov vuzov: Materialy VIII vserossijskoj molodezhnoj nauchnoj konferencii. – Kirov: VyatGU, 2016. – P. 196–200. (Questions of fundamental and applied research in the physiology of university students: Proceedings of VIII All-Russian Youth Scientific conference). – Kirov: VSU, 2016. – P. 196–200.

40. Шереметьев Ю.А., Суслов Ф.Ю. Использование ионов лантана для оценки состояния мембран эритроцитов // Гематология и трансфузиология. – 1993. – № 5. – С. 35–36.

41. Шульмина А.И., Будникова А.В., Романченко. А.И., Лахтин В.М. Способ получения митолектина (фитогемагглютинина) из семян фасоли / Патент № 113506. – 1984. – Бюлл. – № 48 (72).

42. Эшмен Р.Ф. Иммунология – В 3-х т. – Т. 1 / пер. с англ.; под ред. У. Пола. – М.: Мир, 1987. – 476 с. Eshmen R.F. Immunologiya – V 3-h t. – T. 1 / Per.s angl. Pod red. U. Pola. – M.: Mir, 1987. – 476 p. (Immunology -in 3 volumes – Vol. 1 / translated from English – Ed. W. Paul. – M.: Mir, 1987. – 476 p.

43. Ahmed H., Gabius H.J. Purification and properties of a Ca²⁺-independent sialic acid-binding lectin from human placenta with preferential affinity to O-acetylsialic acids // J Biol Chem. – 1989. – Vol. 264, № 31. – P. 18673–18678.

44. Boyd W.C., Shapleigh E. Separation of individuals of any blood group into secretors and non-secretors by use of a plant agglutinin (lectin) // Blood. – 1954. – Vol. 9, № 12. – P. 1194–1198.

45. Brenner B. Haemostatic changes in pregnancy // Thromb. Res. – 2004. – Vol. 114, № 5–6. – P. 409–414.

46. Brown J.W., Osborn T.C., Bliss F.A., Hall T.C. Bean lectins : Part I: Relationships between agglutinating activity and electrophoretic variation in the lectin-containing G2/albumin seed proteins of french bean (*Phaseolus vulgaris* L.) // Theor Appl Genet. – 1982. – Vol. 62, № 3. – P. 263–271.

47. Chang H.H., Larson J., Blencowe H., Spong C.Y., Howson C.P., Cairns-Smith S., Lackritz E.M., Lee S.K., Mason E., Serazin A.C., Walani S., Simpson J.L., Lawn J.E. Born Too Soon preterm prevention analysis group. Preventing preterm births: analysis of trends and potential reductions with interventions in 39 countries with very high human development index // Lancet. – 2013. – Vol. 381, № 9862. – P. 223–234.

48. Cordeaux Y., Tattersall M., Charnock-Jones D., Smith G. Effects of medroxyprogesterone acetate on gene expression in myometrial explants from pregnant women // J Clin Endocrinol Metab. – 2010. – Vol. 95, № 2. – P. 437–447.

49. De Mejía E.G., Prisecaru V. Lectins as bioactive plant proteins: a potential in cancer treatment // Crit Rev Food Sci Nutr. – 2005. – Vol. 45, № 6. – P. 425–445.

50. de Moerloose P., Casini A., Neerman-Arbez M. Congenital fibrinogen disorders: an update // Semin Thromb Hemost. – 2013. – Vol. 39, № 6. – P. 585–595.

51. Dupuis G., Leclair B. Studies on *Phaseolus vulgaris* phytohemagglutinin. Structural requirements for simple sugars

to inhibit the agglutination of human group A erythrocytes // FEBS Lett. – 1982. – Vol. 144, № 1. – P. 29–32.

52. Duranti M. Grain legume proteins and nutraceutical properties // Fitoterapia. – 2006. – Vol. 77, № 2. – P. 67–82.

53. Evans E., Berk D., Leung A., Mohandas N. Detachment of agglutinin-bonded red blood cells. II. Mechanical energies to separate large contact areas // Biophys J. – 1991. – Vol. 59, № 4. – P. 849–860.

54. Haram K., Mortensen J.H., Morrison J.C. Tocolysis for acute preterm labor: does anything work // J Matern Fetal Neonatal Med. – 2015. – Vol. 28, № 4. – P. 371–378.

55. Iglesias M., Cymes G.D., Wolfenstein-Todel C. A sialic acid-binding lectin from ovine placenta: purification, specificity and interaction with actin // Glycoconj J. – 1996. – Vol. 13, № 6. – P. 967–976.

56. Jarujamrus P., Tian J., Li X., Siripinyanond A., Shiowatana J., Shen W. Mechanisms of red blood cells agglutination in antibody-treated paper // Analyst. – 2012. – Vol. 137, № 9. – P. 2205–2210.

57. Kamemura K., Furuichi Y., Umekawa H., Takahashi T. Purification and characterization of novel lectins from Great Northern bean, *Phaseolus vulgaris* L // Biochim Biophys Acta. – 1993. – Vol. 1158, № 2. – P. 181–188.

58. Kaur K., Shrivastava P.K. Effect of antimalarial drugs on erythrocyte agglutination by lectins // Acta Anthropogenet. – 1985. – Vol. 9, № 4. – P. 202–205.

59. Khan F., Khan R.H., Sherwani A., Mohmood S., Azfer M.A. Lectins as markers for blood grouping // Med Sci Monit. – 2002. – Vol. 8, № 12. – P. 293–300.

60. Kohnke-Godt B., Gabius H.J. Heparin-binding lectin from human placenta: further characterization of ligand binding and structural properties and its relationship to histones and heparin-binding growth factors // Biochemistry. – 1991. – Vol. 30, № 1. – P. 55–65.

61. Kornfeld S., Kornfeld R. Solubilization and partial characterization of a phytohemagglutinin receptor site from human erythrocytes // Proc Natl Acad Sci US A. – 1969. – Vol. 63, № 4. – P. 1439–1446.

62. Lange-Konior K. [Activity of agglutinin inhibitor of the kujavian pea (*Pisum sativum* L.) in mothers' blood and umbilical cord blood considering the course of pregnancy and delivery]. [Article in Polish] // Ann Acad Med Stetin. – 1999. – Vol. 45. – P. 41–54.

63. Liu X., Wang Y., Tu Y., Zhu Z., Li X., Zhang Q., Zhao W., Li Y., Gai H. A rapid and simple approach for glycoform analysis // Anal Chim Acta. – 2015. – Vol. 865. – P. 71–75.

64. Miller M.R., Thompson W.R., Casella J.F., Spevak P.J. Antibody-mediated red blood cell agglutination resulting in spontaneous echocardiographic contrast // Pediatr Cardiol. – 1999. – Vol. 20, № 4. – P. 287–289.

65. Nakajima M., Tamura E., Irimura T. Mechanism of the concanavalin A-induced change of membrane fluidity of chicken erythrocytes // I. Biochem. – 1981. – Vol. 89, № 2. – P. 665–675.

66. Ng T.B., Chan Y.S., Ng C.C., Wong J.H. Purification and characterization of a lectin from green split peas (*Pisum sativum*) // Appl Biochem Biotechnol. – 2015. – Vol. 177, № 6. – P. 1374–1385.

67. Nowell P.C. Phytohemagglutinin: an initiator of mitosis in cultures of normal human leukocytes // Cancer Res. – 1960. – Vol. 20. – P. 462–466.

68. O'Brien J.R., Heywood J.B., Heady J.A. The quantitation of platelet aggregation induced by four compounds: a study in relation to myocardial infarction // Thromb. Diath. Haemorrh. – 1966. – Vol. 16, № 3. – P. 752–767.

69. Perez-Aguilar S., Torres-Tirado D., Martell-Gallegos G., Velarde-Salcedo J., Barba-de la Rosa A.P., Knabb M., Rubio R. G protein-coupled receptors mediate coronary flow- and agonist-induced responses via lectin-oligosaccharide interactions // Am J Physiol Heart Circ Physiol. – 2014. – Vol. 306, № 5. – P. 699–708.

70. Plá L., Rasia R.J., Valverde J.R., Muller S., Stoltz J.F. Evaluation of the energy of red blood cell agglutination by monoclonal antibodies // *Biochem Biophys Res Commun.* – 2000. – Vol. 277, № 2. – P. 381–385.
71. Pohl E.E., Rosenfeld E.H., Pohl P., Millner R. Effects of ultrasound on agglutination and aggregation of human erythrocytes in vitro // *Ultrasound Med Biol.* – 1995. – Vol. 21, № 5. – P. 711–719.
72. Rainer T.H., Lam N., Cocks R.A. Adrenaline upregulates monocyte L-selectin in vitro // *Resuscitation.* – 1999. – Vol. 43, № 1. – P. 47–55.
73. Rhodes J.M., Campbell B.J., Yu L.G. Lectin-epithelial interactions in the human colon // *Biochem Soc Trans.* – 2008. – Vol. 36, Pt 6. – P. 1482–1486.
74. Roth Flach R.J., Matevossian A., Akie T.E., Negrin K.A., Paul M.T., Czech M.P. β 3-Adrenergic receptor stimulation induces E-selectin-mediated adipose tissue inflammation // *J Biol Chem.* – 2013. – Vol. 288, № 4. – P. 2882–2892.
75. Skutelsky E., Marikovsky Y., Cividalli L., Danon D. The relationship between sialic acid content and peanut agglutinin binding on senescent and enzyme treated human erythrocytes // *Mech Ageing Dev.* – 1985. – Vol. 31, № 1. – P. 13–23.
76. Stoltz J.F., Senger B., Voegel J.C., Delamaire M., Schaf P., Boisseau M. [Rheologic and biophysical aspects of cellular adhesion and aggregation: importance in hemorheology]. [Article in French] // *J Mal Vasc.* – 1995. – Vol. 20, № 4. – P. 247–251.
77. Strosberg A.D., Rüdiger H. Purification and characterization of a mannose/glucose-specific lectin from *Vicia cracca* // *Eur J Biochem.* – 1982. – Vol. 122, № 1. – P. 105–110.
78. Struneska A., Kmonickova E., Krpejsova I., El Descu-ki N.L., Hrusova N., Palecek J. Phosphoinositide signaling system in human erythrocyte and its role in cell pathology // *Biomed. Biochim. Acta.* – 1990. – Vol. 49, № 2–3. – P. 141–146.
79. Tan H., Yi L., Rote N.S., Hurd W.W., Mesiano S. Progesterone receptor-A and -B have opposite effects on proinflammatory gene expression in human myometrial cells: implications for progesterone actions in human pregnancy and parturition // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2012. – Vol. 97, № 5. – P. 719–730.
80. Tees D.F., Coenen O., Goldsmith H.L. Interaction forces between red cells agglutinated by antibody. IV. Time and force dependence of break-up // *Biophys J.* – 1993. – Vol. 65, № 3. – P. 1318–1334.
81. Tha S.P., Goldsmith H.L. Interaction forces between red cells agglutinated by antibody. I. Theoretical // *Biophys J.* – 1986. – Vol. 50, № 6. – P. 1109–1116.
82. Tha S.P., Shuster J., Goldsmith H.L. Interaction forces between red cells agglutinated by antibody. II. Measurement of hydrodynamic force of breakup // *Biophys J.* – 1986. – Vol. 50, № 6. – P. 1117–1126.
83. Vargas-Albores F., Hernandez J., Cordoba F., Zenteno E. Isolation of an immunosuppressive lectin from *Phaseolus vulgaris* L. cv *Cacahuete* using stroma // *Prep Biochem.* – 1993. – Vol. 23, № 4. – P. 473–483.
84. Voak D. Monoclonal antibodies as blood grouping reagents // *Baillieres Clin Haematol.* – 1990. – Vol. 3, № 2. – P. 219–242.
85. Wahl C.M., Herman J.H., Shirey R.S., Kickler T.S., Ness P.M. Th activation of maternal and cord blood // *Transfusion.* – 1989. – Vol. 29, № 7. – P. 635–6377.
86. Wu W., Harley P.H., Punt J.A., Sharrow S.O., Kearse K.P. Identification of CD8 as a peanut agglutinin (PNA) receptor molecule on immature thymocytes // *J Exp Med.* – 1996. – Vol. 184, № 2. – P. 759–764.