

площади безпризменної емали і зниженням відносної довжини емалевих пластинок. Змінення дентина при цьому характеризуються деструкцією дентинних каналців, кількість яких достовірно зменшується як в області емалево-дентинної границі, так і вблизи пульпи.

Ключеві слова: ожирення, мікропрепарати декальцинованих зубів, експеримент.

Стаття надійшла 6.02.2015 р.

rats occurred the damage of the enamel organic matrix, as evidenced by significant growth relative area of enamel without prism and decrease the relative lengths of enamel plates. Dentin changes were characterized by destruction of dentin tubules, whose number was significantly reduced as in the area of enamel-dentin border, and near the pulp.

Key words: obesity, micropreparations of rats decalcined teeth, experiment.

Рецензент Срошенко Г.А.

УДК [611.018+ 616.345-006]+547.96

Р. В. Антоноук, О. Д. Луцук

Львівський національний медичний університет ім. Д. Галицького, м. Львів, КЗ "Дубенська центральна районна лікарня", м. Рівне

ЛЕКТИНОГІСТОХІМІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ТОВСТОЇ КИШКИ ЛЮДИНИ В НОРМІ ТА ПРИ НЕОПЛАСТИЧНИХ ПРОЦЕСАХ З ВИКОРИСТАННЯМ ЛЕКТИНІВ, СПЕЦИФІЧНИХ ДО Т-АНТИГЕНУ ТА N-АЦЕТИЛЛАКТОЗАМІНУ

Для дослідження зв'язування з вуглеводними рецепторами товстої кишки у людини при раку використано дві групи лектинів: специфічні до Т-антигену (PNA, ACA) і специфічні до N-ацетиллактозаміну (RCA, PIFA, CNFA). Згідно даних літератури лектини означеної вуглеводної специфічності можуть бути корисними для виявлення пухлинного переродження товстої кишки, однак два останні лектини на предмет діагностичної цінності при неопластичних процесах апробовані не були. В результаті проведених досліджень було встановлено, що CNFA має здатність до селективної взаємодії з вуглеводними детермінантами у складі пухлинних новоутворень товстої кишки при цьому практично не взаємодіючи з рецепторами нормальної слизової оболонки, хоча дещо поступаючись лектину арахісу. Зроблено висновок, що CNFA може представляти інтерес для ранньої діагностики пухлинного переродження. Інші використані лектини виявляли меншу селективність до пухлинного переродження і, відповідно, меншу діагностичну цінність.

Ключові слова: лектинова гістохімія, рак товстої кишки, діагностика.

Робота є фрагментом НДР "Лектинова гістохімія товстої кишки в нормі та при неоплазії" (№ державної реєстрації: 0113U000207).

Лектини знайшли застосування як діагностичні маркери ряду патологічних процесів. Особливий інтерес представляють роботи в онкології, зокрема, застосування лектинів для диференційної діагностики доброякісних та злоякісних захворювань, прогнозування інвазивності пухлин, ефективності їх лікування хірургічними та терапевтичними методами. Рак товстої кишки згідно статистики посідає третє місце в структурі пухлинних захворювань у світі [20]. Тому рання і надійна його діагностика є актуальним питанням для сучасної медицини. У випадку ракового переродження як вуглеводна так і білкова частина муцинів підлягає трансформації із зміною вуглеводних і пептидних епітопів. Вуглеводні детермінанти муцинів злоякісно трансформованих клітин часто більш сіалізовані і менш сульфатовані, вкорочені та часто містять Т-антиген (T-antigen, Thomsen-Friedenreich antigen) та Tn антигени у їх сіалізованій формі в порівнянні з нормальними клітинами [19]. В численних роботах показано, що такі антигени є раково-асоційованими і мають діагностичне і прогностичне значення при виявленні пухлин [6, 13, 14].

Для виявлення Т-антигену як надійний реагент зарекомендував себе лектин арахісу. Поряд з тим, не так давно було виявлено, що лектин щиріці хвостатої (*Amaranthus caudatus* аглютинін, амарантин, скорочено АСА), також зв'язує Т-антиген, але на відміну від лектину арахісу, який зв'язує лише його десіалований варіант, АСА краще взаємодіє з його сіалованим варіантом [9, 18]. Однак ці лектини все ж не забезпечують достатньо надійної діагностики, тому пошук нових надійних маркерів злоякісного переродження клітин продовжується.

Останнім часом з'явилися роботи, які стверджують, що лектин з плодів гриба *Clitocybe nebularis* зв'язується з лейкоцитними клітинами і не взаємодіє з нормальними [22], а з клітинами деяких тканин взаємодіє лише при їх пухлинному переродженні [10, 11, 15]. Цей лектин трактується як N,N'-діацетиллактозодіаміно специфічний (GalNAc β 1-4GlcNAc, LacdiNAc) [17], однак його застосування в діагностиці є досліджено недостатньо.

Раніше нами було одержано лектин із з плодів гриба свинушки тонкої (*Rhizoglyphus nigellus*) та на основі вивчення його взаємодії з вуглеводами і глікокон'югатами встановлено, що він володіє унікальною вуглеводною специфічністю до N-ацетиллактозамінної структури, яка неекранована α L-фукозою і α D-галактозою [2]. Була досліджена його взаємодія з різними

гістологічними тканинами щура у нормі. Зокрема, виявлено селективну взаємодію лектину свинюшки з клітинами Пуркінє мозочка. Лектин виражено взаємодіє з стовпчастими клітинами тонкої кишки та не взаємодіє з келихоподібними клітинами товстої кишки.

Деякі автори показують, що кількість N, N'-диацетил лактозодіамінних рецепторів у гліканах дуже сильно зменшується при раку молочної залози і навпаки, ці рецептори можуть бути маркерами прогресування раку простати, яєчника і панкреатичної залози [12]. У нормі подібні рецептори дуже мало поширені у клітинах ссавців, але з'являються при пухлинному переродженні вищезгаданих органів у людини.

Метою роботи було дослідити можливість використання мічених пероксидазою лектинів, специфічних до Т-антигену та N-ацетиллактозаміну (табл. 1) для діагностики пухлинного переродження у людини на прикладі раку товстої кишки різного ступеня диференціації.

Матеріал та методи дослідження. Біопсійний та автопсійний матеріал було взято у патолого-анатомічному відділенні Дубенської центральної районної лікарні (Рівненська область) та у Львівському обласному патологоанатомічному бюро.

В роботі використали інтраопераційний і біопсійний матеріал 28 випадків раку товстої кишки: (високодиференційована аденокарцинома – 14, пухлини помірної диференціації – 10 та низькодиференційовані – 4, з них три зразки містили структури морфології муцинозних карцином), 4 випадки аденоми товстої кишки, також досліджено 9 зразків автопсійного матеріалу товстої кишки людини без ознак патології.

З автопсійного матеріалу взято різні відділи товстої кишки: сліпу, висхідну ободову, поперечну, низхідну, сигмоподібну та пряму. Матеріал фіксували в розчині Буена або формаліні далі обезводнювали в зростаючих концентраціях спиртів, просвітлювали у ксилолі, заливали в парафін та робили зрізи товщиною 5-7 мкм. Для загальної морфології використали гематоксилін та еозин; альціановий синій, реакцію Шифф-йодна кислота в різних комбінаціях.

Мікроскопію та фотографування препаратів здійснювали з використанням фотомікроскопа МБИ 15-2. В гістохімічному дослідженні використано лектини, виробництва НВК «Лектинотест» (м. Львів) наведені в табл. 1. Їх кон'югували з пероксидазою хрому за методикою Nakane, Kawaoi [16] у модифікації Антонюк, Яценко [1].

Таблиця 1

Джерела одержання лектинів, використаних в роботі та їх вуглеводна специфічність

№	Абревіатура	Лектин	Вуглеводна специфічність
1	ACA	Amaranthus caudatus agglutinin, лектин насіння щирити хвостатої	NeuAc α 2-3Gal β 1-3 α GalNAc > β DGalp1-3 α GalNAc
2	PNA	Peanut agglutinin, лектин насіння арахісу	β DGalp 1-3 α D-GalpNAc
3	RCA	Ricinus communis agglutinin, лектин насіння арахісу	Neu5Ac α 2-6Gal β 1-4Glc > GalNAc β 1-4Glc > Gal β 1-4Glc
4	CNFA	Clitocibe nebularis fungus agglutinin, лектин плодівих тіл грузлика димчатого	GalNAc β 1-4GlcNAc (LacdiNAc)
5	PIFA	Paxillus involutus fungus agglutinin, лектин плодівих тіл свинюшки тонкої	GalNAc β 1-4Glc

Далі гістологічні зрізи інкубували в розчинах кон'югатів лектинів за методикою, описаною нами раніше (концентрація \approx 40 мкг/мл, час інкубації - 1 год.) [13]. Ендогенну пероксидазу в тканинах інгібували шляхом інкубування зрізів в метанолі з пероксидом водню (0,03%). Фарбування ділянок зв'язування лектинів здійснювали в системі 3'3'діамінобензидин - перекис водню 0, 03 %.

Результати дослідження та їх обговорення. (1). Фарбування здорових (нормальних) тканин товстої кишки людини. У нормі слизова товстої кишки представлена поверхневим епітелієм та численними криптами орієнтованими перпендикулярно до стінки органа. Повехневий епітелій сформований стовпчастими (посмугованими ентероцитами), що здатні всмоктувати воду та іони натрію та келихоподібними клітинами, які виділяють муцин, що змащує слизову поверхню та виконує захисну функцію. Фарбування гематоксилін-еозином виявляє муциновмісні келихоподібні клітини, які вистеляють крипти, облямовані ентероцитами, локалізовані у вистилці провіту органа та верхній частині крипт, і камбіальні клітини в основі крипт.

При використанні кон'югату пероксидази з ACA з більшою чи меншою інтенсивністю фарбувалась епітеліоцити слизової оболонки у всіх використаних зразках. Інтенсивність фарбування більш виражена в базальній частині крипт в порівнянні з апікальною частиною. Фарбуються перинуклеарні та цитоплазматичні структури, головним чином у базальній частині

клітин, надмембранний комплекс (в епітеліоцитів, що вистеляють просвіт товстої кишки), апікальна плазмолема і подекуди цитоплазматичні структури під нею. В окремих криптах виявлено слабе фарбування муцину келихоподібних клітин. Також рецептори до АСА присутні в сполучній тканині – у волокнах міжклітинного матриксу, базальній мембрані, а також виразно фарбуються лейкоцити. При застосуванні PNA лектинових рецепторів в епітелії слизової товстої кишки не виявлено, хоча спостерігалось спорадичне фарбування клітинного вистелення просвіту травного тракту, та перинуклеарних ділянок, надмембранного комплексу. Виявлене слабе фарбування елементів строми. При використанні CNFA фарбування не спостерігалось, однак в деяких зразках виявлено слабе забарвлення компактно розміщених рецепторів під гранулами секрету, апікальної плазмолемі мембрани. PIFA проявив помірно виражену селективність до рецепторів глікокаліксу апікальної мембрани епітелію вистелення слизової (особливо надмембранного комплексу клітин, що вистеляють просвіт органу) та перинуклерно розміщених рецепторів, колагенових волокон, базальної мембрани. Кон'югат RCA проявляв помірну спорідненість до циторекторів товстої кишки зафарбовуючи елементи сполучної тканини, лейкоцитарний інфільтрат але не епітеліоцити крипт товстої кишки (лише в окремих зразках виявлені лектин-позитивні епітеліоцити але інтенсивність фарбування є незначною). (2). Фарбування тканин товстої кишки людини при неоплазіях.

Використання реакції альціановий синій - Шифф-йодна кислота виразно демонструвало наявність муцинового секрету в раково-трансформованих клітинах, а також розподіл кислих та нейтральних мукополісахаридів. Спостережено тенденцію до зниження накопичення внутрішньоклітинного секрету при втраті диференціації і підвищенні злоякісності ракових клітин.

У 16 з 25 (64%) досліджуваних зразках карцином АСА демонстрував помірне і виражене фарбування гістологічних структур. В аденомах товстої кишки та аденоматозно зміненій слизовій, розташованих поряд з малігнізованими структурами інтенсивність фарбування така ж або навіть вища ніж у відповідних злоякісних формаціях. Також виявлено, що інтенсивність фарбування структурних елементів нормальних клітин розташованих близько до ракових клітин підвищена. Відзначено переважне розташування лектинових рецепторів в апікальній мембрані та надмембрановому комплексі клітин вистелення просвіту товстої кишки, часте маркування перинуклеарних структур, зокрема, над'ядерних - ділянок розташування комплексу Гольжі. Слабо або з помірною інтенсивністю фарбувались елементи строми – базальна мембрана, колагенові волокна, а також клітини запального інфільтрату.

Помірне і виражене фарбування гістологічних структур виявлено у 19 з 23 (83 %) зразків карцином при використанні PNA. Що ж до аденом і тих аденом, локалізованих суміжно до карцином спостережено дещо нижча інтенсивність фарбування ніж у відповідних злоякісних формаціях. Водночас не виявлено або ж виявлено низьку інтенсивність фарбування нормальних клітин розташованих близько до ракових клітин. Більш ніж в половині досліджуваних зразків виявлено помірне і виражене фарбування гістологічних структур аденокарцином товстої кишки при застосуванні PIFA та RCA (в 64 % та 73 % відповідно). Лектинові рецептори розміщені насамперед в апікальній мембрані, надмембрановому комплексі, а також під муцином келихоподібних клітин, часто вираженіше фарбуючи перинуклеарні структури.

На відміну від вищевказаних лектинів, CNFA не взаємодівав з перинуклеарними та субнуклеарними рецепторами, та взаємодівав з над'ядерними рецепторами в тому числі з вуглеводними детермінантами в складі муцину, хоча інтенсивність фарбування була невисокою. Також рецептори до лектину містились в надмембранному комплексі. Загалом помітне фарбування виявлено в 16 зразках з 20 досліджуваних (80 %) злоякісних пухлин, при цьому у всіх пухлинах помірного та низького ступеня диференціації.

Узагальнюючи одержані результати, на діаграмі 1 представлена порівняльна характеристика реактивності тканинних структур в нормі і при патології.

Незважаючи на досить строкату картину розподілу лектинових рецепторів у раковозміненій слизовій товстої кишки, у неоплазіях з високого і помірного ступеня диференції виявлені певні закономірності цитологічного фарбування відповідними кон'югатами лектинів. Зокрема, при фарбуванні інтраопераційного матеріалу високодиференційованої аденокарциноми ободової кишки (G1) T3N1Mx у жінки 69 р. було виявлено наступні особливості лектин-рецепторної взаємодії.

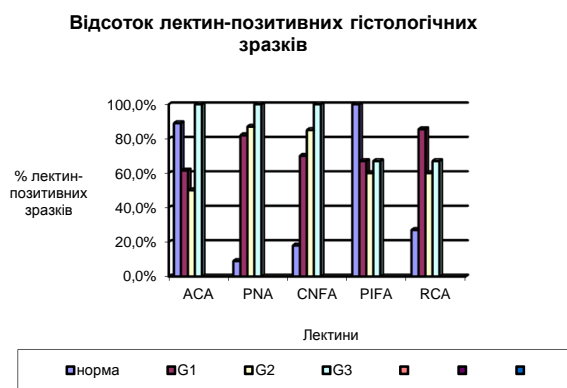


Рис. 1. Відсоток лектин-позитивних гістологічних зразків
Примітки: G1 – високодиференційована карцинома; G2 – помірно диференційована карцинома; G3 – низькодиференційована карцинома.

Використання лектину з насіння рицини для фарбування цієї аденокарциноми засвідчило відсутність зв'язування з муциновмісними вакуолями, а там, де їх не було, або де муцин скупчувався компактно під плазмолемою лектинові рецептори концентрувались субапикально чи під муциновмісними вакуолями відповідно. В деяких ацинусах лектинові ліганди розподілилися відносно рівномірно в над'ядерній частині цитоплазми; перинуклеарні ділянки фарбувались помірно інтенсивно. В аденомі, розміщеній поряд з раком виявлене помірне або виражене фарбування субапикально або під везикулами муцину а також субнуклеарно.

Рецептори до АСА виявлені в раково-змінених залозах з великим вмістом муцину у значній концентрації перинуклеарно і під ядром. В клітинах з відсутнім або незначним вмістом муцину рецептори виявлені над'ядерно в компактно розміщених гранулах, часто концентрованих безпосередньо під муциновими вкладеннями. Подібно фарбувалася клітини суміжно розміщеної аденоми. Аналогічна картина спостерігалася також при використанні PNA, однак інтенсивність фарбування для надмембранних гранул була вищою і цитотопографія рецепторів була дещо ширшою. На відміну від вищезгаданих лектинів CNFA проявивив селективність до виключно над'ядерних структур, не фарбуючи перинуклеарно. При чому спостерігалась досить однорідна картина з фарбуванням також муцину в раковотрансформованих клітинах, хоча і неінтенсивно.

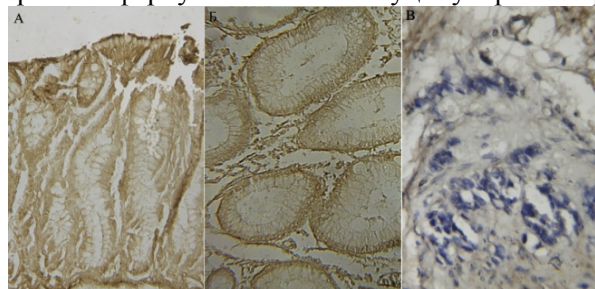


Рис. №1. Фарбування гістологічних зрізів PIFA. А - нормальна слизова товстої кишки: помірно виражене фарбування перинуклеарно епітеліоцитів крипт та більш виражене фарбування клітин вистелення просвіту товстої кишки (x200); Б – високодиференційована аденокарцинома товстої кишки: помітна локалізація лектинових рецепторів перинуклеарно, але не у везикулах муцину над'ядерно (x200). В - низькодиференційовано аденокарцинома товстої кишки (для фарбування ядер використано гематоксилін) – фарбування не спостерігається (x 400).

Лектин свинушки тонкої взаємодіяв з рецепторами перинуклеарно та суб'ядерно, причому інтенсивність фарбування коливалась від повної відсутності до вираженого маркування. При цьому в апікальній мембрані та надмембранному комплексі виявлено незначну кількість лектинових лігандів, в кількох ракових ацинусах фарбувалися над'ядерні структури з максимальною інтенсивністю під гранулами муцину (збережена невелика кількість муцину під плазмолемою). Супутня аденома фарбувались з невеликою інтенсивністю – перинуклеарно, над'ядерно з вираженням під муцином чи субапикально, та краще маркувалась апікальна клітинна мембрана.

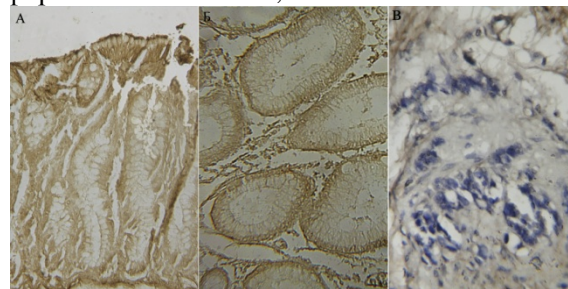


Рис. №2. Фарбування гістологічних зрізів АСА (x200). А - нормальна слизова товстої кишки: виражене фарбування лектинових рецепторів перинуклеарно; Б – високодиференційована аденокарцинома товстої кишки: – рецептори локалізовані в переважаючій кількості перинуклеарно. В – низькодиференційовано аденокарцинома товстої кишки (для фарбування ядер використано гематоксилін) – спостерігається фарбування ракових клітин, що розташовані окрема та формують скупчення (x 400).

З літератури відомо, що PNA є важливим зондом, який вже відносно давно застосовується у гістохімічному дослідженні колоректальної неоплазії [3, 7]. PNA не зв'язується з муцином, знайденим в нормальній прямій кишці, але зв'язується з муцином, продукованим при ракові прямої кишки [3, 7]. В додаток, PNA зв'язується з глікоконюгатами, які присутні у численних передракових ушкодженнях у товстій кишці [4]. Глибокі дослідження вуглеводної специфічності показали, що PNA взаємодіє з декількома олігосахаридними структурами, спорідненими до Т-антигену, такими, як β -D-Galp-(1-3)-D-GalNAc; β -D-Galp-(1-3)- α -D-GalpNAcOMe, і β -D-Galp-(1-3)- α -D-GalpNAc-(1-3)-Ser, а також з асіало-GM1 тетрасахаридом з приблизно однаковою афінністю, таким чином показуючи, що лектин арахісу

не розрізняє олігосахариди, в яких передостання вуглеводна структура β -D-Galp-(1-3)-D-GalNAc є α - або β -аномерною. Сіалювання Т-антигену робить його недоступним для розпізнавання PNA. В той же час АСА може взаємодіяти з Т-антигеном, коли гідроксильна група С-6 у GalNAc і С-3 гідроксильна група у галактози є заміщеною, в тому числі сіаловими залишками [5]. Таким чином, АСА і PNA розпізнають Т-антиген, але неоднаково реагують на заміщення гідроксилів його основної структури. Лектин арахісу дуже добре взаємодіє з Т-антигеном, але не помічено взаємодії з залишками N-ацетиллактозаміну [8].

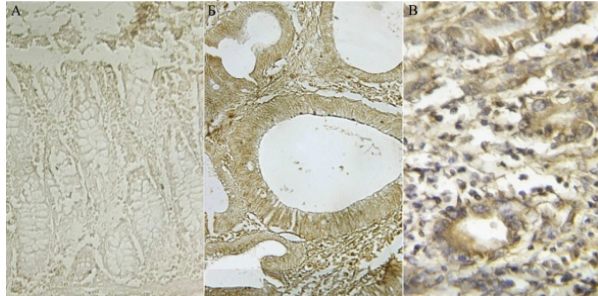


Рис. №3. Фарбування гістологічних зрізів PNA (x200). А - нормальна слизова товстої кишки: лектинові рецептори відсутні; Б - високодиференційована аденокарцинома товстої кишки: фарбуються компактні цитологічні структури над'ядерно. В - низькодиференційована аденокарцинома товстої кишки (для фарбування ядер використано гематоксилін): виразне фарбування ядер цитоплазми раковотрансформованих клітин (x 400).

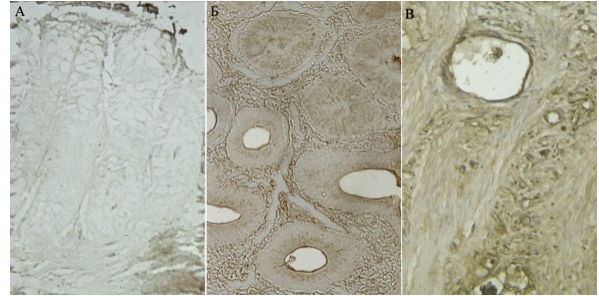


Рис. №4. Фарбування гістологічних зрізів CNFA (x200). А - нормальна слизова товстої кишки: епітеліоцити крипт незафарбовані; Б - високодиференційована аденокарцинома товстої кишки: лектинові рецептори локалізовані над'ядерно, виразно фарбуються окремі муцинові везикули під апікальною цитоплазмою. В - низькодиференційована аденокарцинома товстої кишки - помірне фарбування атипичних клітин та стромы (x 200).

Для RCA серед випробуваних дисахаридів N-ацетиллактозамін (Gal β 1-4GlcNAc, попередник групспецифічних речовин людини типу II) був в 7,1 разів активнішим інгібітором за Gal β 1-3GalNAc (антиген Томсена-Фріденрайха) і приблизно в 1,7 разів активнішим за інші три випробувані дисахариди: Gal β 1-4Man, Gal β 1-3Dara і Gal β 1-6GalNAc. Дисахарид Gal α 1-4Gal був в 3,6 разів менш активним за N-ацетиллактозамін [21]. Лектини з плодів гриба грузлика димчастого (*Clitocybe nebularis*) та плодів гриба свинушки тонкої (*Paxillus involutus*) є мало відомі і застосування їх для діагностики неоплазій товстої кишки не досліджені. Проведені нами дослідження вказують на суттєві відмінності у тонкій вуглеводній специфічності цих двох лектинів. Не зважаючи на те, що обидва вони взаємодіють з N-ацетиллактозаміном, вуглеводні рецептори, до яких вони виявляють найвищу афінність, очевидно, дуже відрізняються. Про це свідчать і суттєві відмінності у взаємодії цих лектинів з еритроцитарними антигенами [2, 17] і виявлені нами відмінності у фарбуванні гістологічних препаратів.

Висновки

1. Виявлено, що для PNA, RCA, CNFA – практично відсутні вуглеводні детермінанти в епітеліоцитах нормальної слизової товстої кишки, хоча все ж в окремих досліджуваних зрізах неінтенсивне фарбування спостерігалось. Щодо АСА та PIFA – лектин-позитивні епітеліоцити виявлені практично у всіх досліджуваних зразках.
2. Усі використані лектини проявляли селективність до циторекторів пухлинних новоутворень товстої кишки. При цьому поряд з PNA, CNFA, має здатність до селективної взаємодії з вуглеводними детермінантами у складі пухлинних новоутворень товстої кишки але на противагу відсутньої (або майже відсутньої) взаємодії з рецепторами нормальної слизової оболонки, хоча у цьому плані дещо і поступається PNA.
3. Лектин грузлика димчастого (CNFA) взаємодіє з над'ядерними (але не перинуклеарними) структурами епітеліоцитів слизової оболонки нормальних та раковозмінених клітин, на відміну від інших використаних в роботі лектинів.

Перспективи подальших досліджень. Одержані результати можуть бути використані для розробки методів ранньої діагностики пухлинних новоутворень товстої кишки.

Список літератури

1. Antonjuk V. A. Kon'jugirovanie lektinov s peroksidazoj hrena: usovershenstvovanie metodiki. / V. A. Antonjuk, A. M. Jashhenko // Klinicheskaja laboratornaja diagnostika – 1996. - № 3. - S. 51-52.
2. Antonyuk R. Lectin purification from fruiting bodies of brown roll-rim fungus (*Paxillus involutus* (Fr.) Fr.) and its application in histochemistry. / R. Antonyuk, A. Lutsyk, V. Antonyuk // Romanian Journal of Morphology and Embryology. – 2014. - Vol.55, No 3. – P. 787-796.
3. Boland. C. R. Alterations in human colonie mucin occurring with cellular differentiation and malignant transfor mation. / C. R. Boland, C. K. Montgomery, V. S. Kim. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 1982.- Vol. 79. – P. 2051-2055.

4. Boland C. R. Mucin histochemistry in colonie polyps and cancer. / C. R. Boland // Semin. Surg. Oncol.- 1987. - Vol. 3. – P. 183-189.
5. Boland C. R. Use of the Lectin from *Amaranthus caudatus* as a Histochemical Probe of Proliferating Colonic Epithelial Cells. / C. R. Boland, Y-F. Chen, S. J. Rinderle, // Cancer Research. - 1991. – Vol. 51, P. 657-665.
6. Baldus, S. E. Thomsen–Friedenreich antigen presents as a prognostic factor in colorectal carcinoma: a clinicopathologic study of 264 patients. / S. E. Baldus, T. K. Zirbes, [et al.] // Cancer. - 2000. – Vol. 88 - P.1536–1543.
7. Cooper H. S. Peanut lectin-binding sites in large bowel carcinoma. / H. S. Cooper // Lab. Invest. - 1982. - Vol. 47. – P. 383-390.
8. Chacko B. K. Peanut (*Arachis hypogaea*) lectin recognizes alpha-linked galactose, but not N-acetyl lactosamine in N-linked oligosaccharide terminals. / B. K. Chacko, P. S. Appukuttan // Int J Biol Macromol.- 2001.- Vol.28, No 5.-P. 365-371.
9. Cazet A. Tumour-associated carbohydrate antigens in breast cancer. /A. Cazet, S. Julien, M. Bobowski [et al.] // Breast Cancer Research. – 2010. – Vol. 12. P. 204 – 217.
10. Huang J. 1,4-N-Acetylgalactosaminyltransferase III enhances malignant phenotypes of colon cancer cells. / J. Huang, J. T., Liang, H. C. Huang [et al.] // Mol. Cancer Res. - 2007, Vol.5, P. 543–552.
11. Hirano K. Method for determining prostate cancer. / K. Hirano, T. Nakamura, J. Amano // International Patent WO/2010/064683, December 3, - 2009.
12. Hirano K. Expression of LacdiNAc Groups on N-Glycans among Human Tumors Is Complex / K. Hirano, A. Matsuda, T. Shirai [et al.] // Biomed Res Int. 2014, Published online - 2014 May 18.
13. Kannan S. Expression of peanut agglutinin-binding mucin-type glycoprotein in human esophageal squamous cell peanut agglutinin as a marker. / S. Kannan, R.A. Lakku, D. Niranjali [et al.] //Mol Cancer. - 2003.- Vol.2, No 1 P.38 -45.
14. Kumar S. R. Thomsen–Friedenreich and Tn antigens in nipple fluid: carbohydrate biomarkers for breast cancer detection. / S.R. Kumar, E.R. Sauter, T.P. Quinn, S.L. Deutscher // Clin. Cancer Res.- 2005. - Vol. 11. - P. 6868–6871.
15. Machado E. N-Glycosylation of total cellular glycoproteins from the human ovarian carcinoma SKOV3 cell line and of recombinantly expressed human erythropoietin / E.Machado, S.Kandzia, R. Carilho [et al.]. //Glycobiology.–2011.–Vol. 21.–P.376–386.
16. Nakane P. K. Peroxidase labelled antibody. A new method of conjugation. / P. K. Nakane, A. Kawaoi // J. Histochem. Cytochem. - 1974. - Vol. 22, No 12. - P. 1084-1091.
17. Pohleven J. Purification, characterization, and cloning of a ricin B-like lectin from mushroom *Clitocybe nebularis* with antiproliferative activity against human leukemic T cells. / J. Pohleven, N. Obermajer, J. Sabotic [et al.] //Biochim.Biophys. Acta. – 2009. –Vol. 1990. – P. 173–181.
18. Sata T. Studies on the Thomsen-Friedenreich antigen in human colon with the lectin *Amaranthin*. Normal and neoplastic epithelium express only cryptic T antigen. / T. Sata, J. Roth, C. Zuber [et al.] // Lab. Invest. – 1992. - Vol. 66, No 2, - P. 175-186.
19. Schultz M. J. Regulation of the metastatic cell phenotype by sialylated glycans. / M. J. Schultz, A. F. Swindall, S. L. Bellis // Cancer Meta. Rev. – 2012. –Vol. 31, No 3-4. – P. 501-518.
20. Siegel R. Cancer statistics. / R. Siegel, D. Naishadham, A. Jemal // CA: A Cancer Journal for Clinicians. - 2013. – Vol. 63, No 1 – P. 11 – 30.
21. Wu J. H. Defining carbohydrate specificity of *Ricinus communis* agglutinin as Gal beta 1→4GlcNAc (II) >Gal beta 1→3GlcNAc (I) > Gal alpha 1→3Gal (B) > Gal beta 1→3GalNAc (T). / J.H. Wu, A. Herp, A.M. Wu // Mol Immunol. - 1993.- Vol. 30, No 4.- P.333-339.
22. Wang D. Prostate Cancer Glycans Markers and Autoantibode Signatures. / D. Wang, L. A. Herzenberg, D. M. Peehl [et al.] // International Patent Pub. No.- 2009.

Реферати

ЛЕКТИНОГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ТОЛСТОЙ КИШКИ ЧЕЛОВЕКА В НОРМЕ И ПРИ НЕОПЛАСТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССАХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЛЕКТИНОВ, СПЕЦИФИЧНЫХ К Т- АНТИГЕНУ И N-АЦЕТИЛЛАКТОЗАМИНУ

Антонюк Р. В., Луцик А. Д.

Для исследования связывания с углеводными рецепторами человека в норме и неоплазии использованы две группы лектинов: специфичные к Т-антигену (PNA, ACA) и специфичные к N-ацетиллактозамину (RCA, PIFA, CNFA), которые по данным литературы, могут быть полезными для выявления опухолевого перерождения, но два последних лектина не исследованы на предмет диагностической ценности при неопластических процессах толстой кишки. В результате проведенных исследований было установлено, что CNFA обладает способностью к селективному взаимодействию с углеводными детерминантами в составе опухолевых новообразований толстой кишки не взаимодействуя при этом с рецепторами нормальной слизистой оболочки, хотя несколько уступая лектину арахиса. Сделан вывод, что CNFA может представлять интерес для ранней диагностики опухолевого перерождения. Другие использованные лектины проявляли меньшую селективность к опухолевому перерождению и, соответственно, имели меньшую диагностическую ценность.

Ключевые слова: лектиногистохимия, рак толстой кишки, диагностика.

LECTINOHISTOCHEMICAL RESEARCH OF COLON IN HUMANS AT NORMAL AND AT NEOPLASTIC PROCESS USING LECTINS SPECIFIC FOR T ANTIGEN AND N-ACETHYLACTOSAMINE

Antonyuk R. V., Lutsik O. D.

For study the binding with carbohydrate receptors at human colon cancer were used two groups of lectins - specific for T-antigen (PNA, ACA) and lectins specific for N-acethylactosamine (RCA, PIFA, CNFA), which according to the literature data, may be useful in identifying tumor degeneration, but the final two lectins weren't used for the purpose of diagnostic value in neoplastic colon processes. As a result of studies found that CNFA has the ability to selectively interact with carbohydrate determinants consisting of tumor colon without interacting with receptors on normal mucosa, although somewhat less selectively as peanut lectin. It could be concluded that CNFA may be of interest for early diagnosis of neoplastic transformation. Other lectins that used have were less selectivity to tumor degeneration and, therefore, have less diagnostic value.

Key words: lectinohistochemistry, colon cancer, diagnostics

Стаття надійшла 2.03.2015 р.

Рецензент Білаш С.М.