

Р. Б. Кондратюк<sup>1</sup>, И. В. Василенко<sup>1</sup>, Ю. К. Гульков<sup>1,2</sup>

## Лектино-гистохимическая оценка углеводных детерминант опухолевых клеток основных гистологических типов рака желудка

<sup>1</sup>Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького,<sup>2</sup>Донецкое областное клиническое территориальное медицинское объединение**Ключевые слова:** рак желудка, лектины.

С целью сопоставить особенности связывания лектинов опухолевыми клетками и клетками слизистой оболочки у больных с разными типами рака желудка изучены 69 гистологических препаратов (31 – диффузного, 25 – кишечного, 13 – смешанного типов рака) с использованием лектинов 8 специфичностей: проростков пшеницы, арахиса, виноградной улитки, бузины черной, бобовника анагирилистного, сои, омелы белой и чечевицы. В диффузном типе максимальная частота высокого связывания обнаружена с лектинами бузины черной (72,4%), виноградной улитки и сои (по 67,7%); в кишечном – с лектинами арахиса (52%) и пшеницы (48%); в смешанном – с лектинами арахиса и сои (по 53,8%). Лектины, обнаруживающие высокую частоту связывания, характеризуются более интенсивным связыванием по сравнению с нормальной слизистой оболочкой. Сопоставлены случаи с инвазией опухолевыми клетками сосудов и без нее. В группе с инвазией преобладала высокая окраска с лектинами улитки и бузины (на 26,4% и 20,2% соответственно) в кишечном; с лектинами бузины черной (68%), виноградной улитки (63%), бобовника анагирилистного (61,5%), чечевицы (57,8%) – в диффузном; с лектинами арахиса, сои (по 53,8%) и пшеницы (42,2%) – в смешанном типе рака желудка. Частота связывания с отдельными лектинами позволяет предполагать, что некоторые углеводные специфичности могут препятствовать инвазии сосудов.

## Лектино-гістохімічне оцінювання вуглеводних детермінант пухлинних клітин основних гістологічних типів раку шлунка

Р. Б. Кондратюк, І. В. Василенко, Ю. К. Гульков

З метою зіставлення особливостей зв'язування лектинів пухлинними клітинами та клітинами слизової оболонки у хворих із різними типами раку шлунка вивчили 69 гістологічних препаратів (31 – диффузного, 25 – кишкового, 13 – змішаного типів раку) з використанням лектинів 8 специфічностей: зав'язі пшениці, арахісу, виноградного равлика, бузини чорної, золотого дощу, сої, омели білої, сочевиці. У дифузному типі максимальну частоту високого зв'язування визначили з лектином бузини чорної (72,4%), виноградного равлика та сої (по 67,7%); у кишковому – з лектинами арахісу (52%) і пшениці (48%); у змішаному – з лектинами арахісу та сої (по 53,8%). Лектини, котрі виявляли високу частоту зв'язування, характеризувались інтенсивнішим зв'язуванням у порівнянні з нормальною слизовою оболонкою. Зіставили випадки з інвазією пухлинними клітинами судин і без неї. У групі з інвазією переважало високе зв'язування з лектинами равлика й бузини (на 26,4% і 20,2% відповідно) в кишковому; з лектинами бузини чорної (68%), виноградного равлика (63%), золотого дощу (61,5%), сочевиці (57,8%) – у дифузному; з лектинами арахісу, сої (по 53,8%) та пшениці (42,2%) – у змішаному типі раку шлунка. Частота зв'язування з окремими лектинами дає можливість припустити, що певні вуглеводні специфічності можуть запобігати інвазії судин.

**Ключові слова:** рак шлунка, лектини.**Патологія.** – 2015. – №1 (33). – С. 73–79

## Lectin-histochemical assessment of carbohydrate determinants in tumour cells of main histological types of gastric cancer

R. B. Kondratyuk, I. V. Vasilenko, Yu. K. Gulkov

Aim. 69 cases of gastric cancer were investigated, among them 31 cases of diffuse type, 25 cases of intestinal and 13 mixed-type, using lectins of eight specificities: wheat germ, peanut, edible snail, common elder, laburnum tree, soybeans, lentils and mistletoe.

Methods and results. Maximum frequency of the high lectin binding was found in the diffuse type for common elder (72.4%), edible snail and soybean lectins (67.7% each). Intestinal type of the gastric cancer was characterized by high rate of tumor cell binding to peanut lectins (52%) and wheat germ lectins (48%). In mixed type – with lectins of peanut and soybeans (53.8% each). Meanwhile lectins exhibiting high binding frequency are characterized by a more intensive binding in comparison with the normal mucosa in the same case. Cases of vascular invasion with tumour cells and without it were compared. In the intestinal type of the gastric cancer the maximum degree of staining difference was with edible snail and common elder lectins with the predominance in the group with invasion (26.4% and 20.2%, respectively). In the diffuse type of the gastric cancer, the highest frequency of intense binding was in the group with invasion with common elder (68%), edible snail (63%), laburnum tree (61.5%), and lentils lectins (57.8%). In the mixed type of the stomach cancer an intensive staining in the presence of vascular invasion was with peanut, soybean (53.8% each) and wheat germs lectins (42.2%).

**Key words:** Stomach Neoplasms, Linitis Plastica, Lectins.**Pathologia.** 2015; №1 (33): 73–79

Гликозилирование – одна из наиболее частых пост-трансляционных модификаций белков, которая регулирует важные биологические особенности и играет ключевую роль во многих патологических процессах,

включая воспаление и опухоли [1,5,10]. Сопоставление локализации рецепторов лектинов арахиса, сои, завязей пшеницы в нормальной молочной железе и ее опухолях позволило установить гетерогенность распределения их

в опухолях, связанное со злокачественностью [4]. Показано, что с помощью лектина виноградной улитки по интенсивности окраски можно различать II и III стадии рака желудка [7]. В наших предыдущих исследованиях, используя 8 лектинов, на 31 случае рака желудка сопоставили особенности муцинов в раках кишечного и диффузного типов, а также их роль в инвазивном росте рака [3].

### Цель работы

Сопоставить особенности связывания 8 лектинов опухолевыми клетками и клетками слизистой оболочки у больных с разными типами рака желудка (кишечный, диффузный, смешанный), а также в случаях с инвазией сосудов и без нее.

### Материалы и методы исследования

Изучено 69 случаев рака желудка, из них 31 случай диффузного типа, 25 кишечного и 13 смешанного типа с использованием лектинов 8 специфичностей: проростков пшеницы (WGA, специфичен к ацетилглюкозамину и N-ацетилнейраминовой (сиаловой) кислоте), арахиса (PNA, специфичен к D-галактозе и галактозамину), виноградной улитки (HPA, специфичен к N-ацетил-D-галактозамину и глюкозе), бузины черной (SNA, специфичен к нейраминовой (сиаловой) кислоте), бобовника анагирилистного (LAL, фукозоспецифичен), сои (SBA, галактозоспецифичен), омелы белой (ML-1, специфичен к галактозамину) и чечевицы (LCA, специфичен к маннозе).

Интенсивность окрашивания лектинами, меченными пероксидазой, оценивали полуколичественно: высокая (+++), умеренная (++) , слабая (+), следовая (±), от-

сутствие связывания (-). Параллельно с опухолевыми клетками оценивали связывание лектинов эпителием слизистой оболочки (покровно-ямочным и железистым).

В дальнейшем группы высокой и умеренной окраски объединили в группу высокой, слабой и следовой – низкой окраски, выделили отсутствие связывания лектинов с их рецепторами. Сопоставили соответствующие показатели среди диффузных раков желудка, раков желудка кишечного и смешанного типов.

Гистологические препараты изучены под светооптическим микроскопом Olympus BX-40, микрофотографирование произведено цифровой фотокамерой Olympus U-TV1X с программным обеспечением Olympus DP-Soft.

Статистическую обработку результатов провели в пакете Medstat с применением базовых методов математической статистики. Статистический анализ показателей, полученных в результате обработки стабิโลграмм, показал, что их распределение отличается от нормального (на уровне  $p < 0,001$ ). В связи с этим в ходе дальнейшего статистического анализа применяли непараметрические критерии. Сравнение двух независимых выборок проведено с использованием критерия Манна – Уитни.

### Результаты и их обсуждение

Результаты сопоставления интенсивности связывания лектинов для диффузных раков желудка, раков желудка кишечного и смешанного типов представлены в *таблице 1*. Приведено количество случаев, имеющих ту или иную выраженность окрашивания для каждого лектина, с вычислением удельного веса степени окраски по отношению к общему числу случаев окраски этим лектином.

Таблица 1

### Сравнительная характеристика интенсивности связывания лектинов в различных типах рака желудка

Интенсивность окраски	WGA	PNA	HPA	SNA	LAL	ML-1	LCA	SBA
	лектин пшеницы – глюкозамин, сиаловые кислоты	лектин арахиса – галактоза, галактозамин	лектин виноградной улитки – галактозамин, глюкоза	лектин бузины черной – сиаловые кислоты	лектин бобовника анагирилистного – фукоза	лектин омелы – галактозамин	лектин чечевицы – манноза, галактоза	лектин сои – галактоза, галактозамин
Диффузный тип рака желудка								
Высокое и умеренное связывание	12 – 38,7%	13 – 43,3%	21 – 67,7%	21 – 72,4%	16 – 63,3%	3 – 10%	10 – 41,7%	15 – 67,7%
Низкое связывание и его отсутствие	19 – 61,3%	17 – 56,7%	10 – 32,3%	8 – 27,6%	14 – 46,7%	27 – 90%	14 – 58,3%	11 – 42,3%
Всего	31	30	31	29	30	30	24	26
Кишечный тип рака желудка								
Высокое и умеренное связывание	12 – 48%	13 – 52%	8 – 32%	8 – 32%	10 – 40%	4 – 19%	3 – 17,6%	9 – 42,9%
Низкое связывание и его отсутствие	13 – 52%	12 – 48%	17 – 68%	17 – 68%	15 – 60%	17 – 81%	14 – 82,4%	12 – 57,1%
Всего	25	25	25	25	25	21	17	21
Смешанный тип рака желудка								
Высокое и умеренное связывание	6 – 42,2%	7 – 53,8%	5 – 38,5%	5 – 38,5%	4 – 30,8%	–	4 – 30,8%	7 – 53,8%
Низкое связывание и его отсутствие	7 – 53,8%	6 – 46,2%	8 – 61,5%	8 – 61,5%	9 – 69,2%	11 – 100%	9 – 69,2%	6 – 46,2%
Всего	13	13	13	13	13	11	13	13

Максимальный удельный вес случаев с высоким и умеренным связыванием с опухолевыми клетками в диффузном раке обнаружен с лектином бузины черной (72,4%), специфичным к сиаловой кислоте (рис. 1, цв. вкладка 5). В кишечном типе рака желудка максимальная частота высокого связывания отмечена с лектином арахиса (52%), специфичного к галактозе и галактозамину (рис. 2, цв. вкладка 5). В смешанном типе рака желудка высокое и умеренное связывание с опухолевыми клетками также установлено с лектинами арахиса и сои (по 53,8%), специфичными к галактозе и галактозамину.

На втором месте по частоте высокого и умеренного связывания в диффузном типе рака желудка стоят лектины виноградной улитки (рис. 3, цв. вкладка 5) и сои, специфичные к галактозамину и галактозе (по 67,7%); в кишечном и смешанном типах рака желудка – лектин проростков пшеницы, специфичный к глюкозамину и сиаловым кислотам (48% и 42,2% соответственно) (рис. 4, цв. вкладка 5).

На третьем месте по частоте высокого связывания в диффузном раке желудка находится лектин бобовника анагирилистного (63,3%) (рис. 5, цв. вкладка 6), специфичного к фукозе; кишечном типе – лектин сои (42,9%), специфичный к галактозе и галактозамину; смешанном типе – лектины виноградной улитки (рис. 6, цв. вкладка 6) и бузины черной (по 38,5%), специфичные к глюкозе, галактозамину и сиаловым кислотам соответственно.

Минимальная частота высокого связывания в диффузном раке – с лектином омелы (10%), в кишечном

типе – с лектином чечевицы (17,6%); в смешанном типе рака желудка высокое связывание с лектином омелы отсутствовало.

Такая же полуколичественная оценка с аналогичной градацией проведена в тех же случаях в сопоставлении со связыванием лектинов в нормальной (неопухоловой) слизистой оболочке желудка, ее покровно-ямочным эпителием, эпителием пилорических и фундальных желез, учитывая максимальную выраженность в этих клетках. При сравнении выделены 3 градации: примерно равная выраженность связывания каждого лектина, большая или меньшая в опухолевых клетках по сравнению с эпителием нормальной слизистой оболочки. Результаты представлены в таблице 2.

Эти данные представляют большой интерес. Клетки слизистой оболочки и в нормальном состоянии продуцируют муцин разного состава, что определяет связывание с ними лектинов. В процессе предраковых изменений и малигнизации клетки могут терять ряд углеводных детерминант в сходных или различающихся типах рака. Это относится в основном к галактозоспецифичным лектинам виноградной улитки, арахиса и сои в диффузном типе рака желудка (48%, 50% и 52,4% соответственно). Минимальной в этом типе рака была частота снижения связывания лектина бузины черной (18,2%). В раке кишечного типа снижение связывания лектина бузины черной в опухолевых клетках по сравнению с нормальной слизистой оболочкой было максимальным (65%) по сравнению с другими лектинами, а минимальным – с

Таблица 2

**Сопоставление интенсивности связывания лектинов опухолевыми клетками и эпителием слизистой оболочки в разных типах рака желудка**

Соотношение связывания опухолевыми клетками и клетками слизистой оболочки	WGA	PNA	HPA	SNA	LAL	SBA	ML-1	LCA
	лектин пшеницы – глюкозамин, сиаловые кислоты	лектин арахиса – галактоза, галактозамин	лектин виноградной улитки – галактозамин, глюкоза	лектин бузины черной – сиаловые кислоты	лектин бобовника анагирилистного – фукоза	лектин сои – галактоза, галактозамин	лектин омелы – галактозамин	лектин чечевицы – манноза, галактоза
<b>Диффузный тип рака желудка</b>								
В ОК больше, чем в СОЖ	8 – 32%	4 – 15,4%	6 – 24%	13 – 59,1%	9 – 39,15%	4 – 19%	6 – 27,3%	6 – 31,6%
Равное связывание	6 – 24%	9 – 34,6%	7 – 28%	5 – 22,7%	3 – 13,05%	6 – 28,6%	9 – 40,9%	7 – 36,8%
В ОК меньше, чем в СОЖ	11 – 44%	13 – 50%	12 – 48%	4 – 18,2%	11 – 47,8%	11 – 52,4%	7 – 31,8%	6 – 31,6%
Всего	25	26	25	22	23	21	22	19
<b>Кишечный тип рака желудка</b>								
В ОК больше, чем в СОЖ	7 – 36,85%	10 – 41,7%	6 – 31,6%	4 – 20%	4 – 23,5%	8 – 47,1%	7 – 38,9%	7 – 43,75%
Равное связывание	5 – 26,3%	3 – 12,5%	5 – 26,3%	3 – 15%	5 – 29,4%	3 – 17,6%	5 – 27,8%	7 – 43,75%
В ОК меньше, чем в СОЖ	7 – 36,85%	11 – 45,8%	8 – 42,1%	13 – 65%	8 – 47,1%	6 – 35,3%	6 – 33,3%	2 – 12,5%
Всего	19	24	19	20	17	17	18	16
<b>Смешанный тип рака желудка</b>								
В ОК больше, чем в СОЖ	4 – 33,3%	3 – 21,4%	7 – 50%	3 – 27,3%	3 – 27,3%	5 – 45,4%	4 – 40%	6 – 40%
Равное связывание	4 – 33,3%	5 – 35,7%	1 – 7,1%	3 – 27,3%	3 – 27,3%	4 – 36,4%	2 – 20%	3 – 20%
В ОК меньше, чем в СОЖ	4 – 33,3%	6 – 42,9%	6 – 42,9%	5 – 45,4%	5 – 45,4%	2 – 18,2%	4 – 40%	6 – 40%
Всего	12	14	14	11	11	11	10	15

лектином чечевицы (12,5%). В смешанном типе рака желудка максимальное снижение экспрессии углеводных детерминант отмечено с лектинами бузины черной и бобовника (по 45,4%) (рис. 7, цв. вкладка б), минимальное – лектином сои (18,2%).

С другой стороны, ряд углеводных специфичностей возрастает в опухолевых клетках по сравнению со слизистой оболочкой. В диффузном типе рака желудка это установлено с лектином бузины черной (59,1%) и бобовника анагирилистного (39,15%); в кишечном типе – с лектином сои (47,1%), чечевицы (43,75%) и арахиса (41,7%); в смешанном типе – с лектином виноградной улитки (50%) и сои (45,4%).

Как и следовало предполагать, лектин, обнаруживающий высокую частоту интенсивного связывания, характеризуется высокой частотой возрастания в опухоли по сравнению со слизистой оболочкой. Низкое связывание в опухоли сочетается со снижением в опухоли по сравнению со слизистой оболочкой. Результаты сопоставления связывания лектинов опухолевыми клетками в случаях с инвазией сосудов и без инвазии представлены в *таблице 3*.

При кишечном типе рака желудка группа без инвазии сосудов составила 9 случаев и показала максимальное связывание с лектинами пшеницы (43,8%), улитки (37,5%). Максимальные различия степени выраженности окраски были с лектинами улитки и бузины с преобладанием в группе с инвазией (на 26,4% и 20,2% соответственно), т.е. эти лектины статистически достоверно способствуют инвазии ( $p < 0,01$ ), лектинами бобовника анагирилистного (рис. 8, цв. вкладка б), сои в группе без инвазии (по 13,1%), т.е. эти лектины препятствуют инвазии.

В раке желудка диффузного типа инвазии сосудов не было только в 4 случаях из 31 (12,9%). Поэтому при этом типе рака, учитывая особенность нашего материала, анализировали, главным образом, частоту высокого связывания лектинов в группе с инвазией, сравнивая группу без инвазии в отдельных случаях.

В диффузном типе рака желудка наиболее высокая частота интенсивного связывания в группе с инвазией была с лектинами бузины черной (68%), виноградной улитки (63%), бобовника анагирилистного (61,5%), чечевицы (57,8%), т.е. углеводные детерминанты, обнаруживаемые этими лектинами, способствуют инвазии.

В смешанном типе рака желудка не было инвазии сосудов только в 1 случае из 13 (7,7%), поэтому сопоставление не проводили. Однако высокое окрашивание при наличии инвазии сосудов было с лектинами арахиса, сои (по 53,8%) и пшеницы (42,2%).

Высокая частота интенсивного связывания в диффузном типе близка к таковой в кишечном типе рака желудка с лектином проростков пшеницы, возможно, потому, что он обладает двойной специфичностью, в том числе к сиаловым кислотам.

Полученные данные позволяют говорить о роли углеводных специфичностей в развитии и прогрессии рака желудка, в частности, приобретении инвазивности. Однако в разных типах рака желудка их характер значительно отличается и даже может быть противоположным.

В первую очередь это относится к лектину бузины черной (SNA), максимально связывающемуся с опухолевыми клетками диффузного типа рака желудка и часто возрастающему в опухолевых клетках по сравнению с нормальной слизистой оболочкой в нашем материале. В кишечном типе рака желудка лектин бузины черной связывался с опухолевыми клетками с высокой интенсивностью более чем в два раза реже, нежели в диффузном. Максимально часто снижался в опухоли по сравнению с нормальной слизистой оболочкой желудка. Смешанный тип рака желудка занимает в этом отношении промежуточное положение между диффузным и кишечным типами (несколько ближе к кишечному, *табл. 1, 2*).

В кишечном типе рака желудка высокая интенсивность окраски с максимальной частотой отмечена с лектином арахиса (52%), специфичным для галактозы и галактозамина. Высокая частота интенсивной окраски

Таблица 3

**Сопоставление высокой интенсивности связывания лектинов в зависимости от наличия инвазии сосудов опухолевыми клетками**

Соотношение связывания опухолевыми клетками и клетками слизистой оболочки	WGA лектин пшеницы – глюкозамин, сиаловые кислоты	PNA лектин арахиса – галактоза, галактозамин	HPA лектин виноградной улитки – галактозамин, глюкоза	SNA лектин бузины черной – сиаловые кислоты	LAL лектин бобовника анагирилистного – фукоза	SBA лектин сои – галактоза, галактозамин	ML-1 лектин омелы – галактозамин	LCA лектин чечевицы – манноза, галактоза
<b>Диффузный тип рака желудка</b>								
с инвазией	11/27 – 40,7%	10/27 – 37%	17/27 – 63%	17/25 – 68%	16/26 – 61,5%	11/22 – 50%	0/26 – 0%	15/26 – 57,7%
без инвазии	1/4 – 25%	3/3 – 100%	4/4 – 100%	4/4 – 100%	0/4 – 0%	4/4 – 100%	3/4 – 75%	-
отличие	15,7%	-63%	-37%	-32%	61,5%	-50%	-75%	
<b>Кишечный тип рака желудка</b>								
с инвазией	7/16 – 43,8%	4/16 – 25%	6/16 – 37,5%	5/16 – 31,3%	5/16 – 31,3%	5/16 – 31,3%	4/16 – 25%	1/16 – 6,3%
без инвазии	3/9 – 33,3%	3/9 – 33,3%	1/9 – 11,1%	1/9 – 11,1%	4/9 – 44,4%	4/9 – 44,4%	1/9 – 11,1%	-
отличие	10,5%	-8,3%	26,4%	20,2%	-13,1%	-13,1%	13,9%	6,3%
<b>Смешанный тип рака желудка</b>								
с инвазией	6/13 – 42,2%	7/13 – 53,8%	5/13 – 38,5%	5/16 – 31,3%	4/16 – 25%	7/13 – 53,8%	-	4 – 30,8%

была и с лектином сои (42,9%), также связывающимся с галактозой и галактозамином. В диффузном типе рака желудка высокая интенсивность окраски с галактозоспецифическими лектинами установлена с меньшей частотой: арахиса – 43,3%, омелы – 10%, чечевицы – 41,7%.

В последнее время широкое изучение лектина бузины черной (SNA I) показало его уникальное связывание с глюкоконъюгатами сиаловой кислоты [13]. Обосновано распознавание SNA I лектином раково-ассоциированного сиалил-Tn (STn) антигена, позволяющего в образцах сыворотки отличать рак и здоровое состояние [14].

Обнаружено связывание SNA с высокой частотой (66,7%) с аденокарциномой желчного пузыря, тогда как при хроническом холецистите частота связывания составляет 11,4%. Показано, что возрастание связывания SNA является независимым прогностическим предсказателем аденокарциномы желчного пузыря [16]. Аналогичные особенности установлены при раке молочной железы, когда экспрессия SNA возрастала в зависимости от стадии опухоли [6]; при экспрессии SNA в опухолевых клетках отмечен плохой прогноз, более низкое 5-летнее выживание по сравнению со случаями с негативным SNA [8]. Исследование экспрессии SNA в доброкачественных и злокачественных поражениях желудка установило более высокое связывание ее в ткани рака желудка, чем в околоопухолевой ткани и доброкачественных поражениях. Хотя не было различий между первичной опухолью и метастазами, связывание зависело от стадии рака (глубины инвазии, наличия метастазов в лимфатические узлы) [17]. Возрастание сиализации клеточной поверхности обнаружено в раке толстой кишки и коррелирует с инвазивным и метастатическим ростом опухолевых клеток [12].

Высокий метастатический потенциал опухолей с гиперсиализацией объясняют тем, что эти клетки не распознаются системой мононуклеарных фагоцитов и могут долго циркулировать в крови и лимфе.

Однако лектино-гистохимическое исследование дуоденальных желез различных млекопитающих показало, что в низкодифференцированных клетках эпителия была высокая экспрессия N-ацетил-D-галактозамина, обнаруживаемого лектином сои. В более дифференцированных клетках отмечены остатки D-галактозы (дающей связывание с лектином арахиса), а также фукозы (с лектином бобовника анагирилистного LAL), N-ацетил-глюкозамина и сиаловой кислоты (с лектином проростков пшеницы WGA).

Показано, что в незрелых клетках костного мозга только часть терминальных остатков галактозы экранирована сиаловой кислотой (поэтому есть связывание с PNA). В процессе созревания происходит сиалирование поверхностных гликопротеинов и потеря связывания с лектином арахиса [1].

Сиалосвязывающие или галактозосвязывающие лектины способны «чувствовать» и по-разному распознавать в гликанах маскированную сиаловой кислотой галактозную группу. Отмечена сложная специфичность

к конфигурациям углеводов в глюкоконъюгатах.

Многие лектины (арахиса, сои, виноградной улитки, омелы) связываются с галактозамином и галактозой (галактозамин вдвое активнее галактозы) [1]. Лектин арахиса обнаруживает T-антиген, раково-ассоциированный и имеющий диагностическое значение [9], может быть маркером метастатических потенциалов злокачественных опухолей. В незрелых клетках только часть терминальных остатков галактозы может быть экранирована сиаловой кислотой, такое экранирование происходит в процессе созревания клеток. Тогда, например, сиалированный галактозамин почти не взаимодействует с лектином сои и другими галактозаминспецифическими лектинами, теряет аффинность ко многим опухолевым клеткам [1].

Исходя из этого, можно предполагать, что случаи с высокой специфичностью к галактозе, галактозамину характеризуются низкой зрелостью опухолевых клеток, а высокая аффинность к сиаловым кислотам (лектин бузины черной, в меньшей степени лектин проростков пшеницы) свидетельствуют о большей зрелости опухолевых клеток. Вместе с тем опубликованы данные, что sialyl-Lewis-x в раке желудка человека коррелирует с метастазированием [15].

Тем не менее, в специализированной литературе, касающейся роли сиаловой кислоты в оценке злокачественности рака желудка, не выделяют его типы (кишечный, диффузный и смешанный), которые существенно отличаются.

В нашем исследовании установлены существенные различия типов рака желудка и в отношении содержания сиаловых кислот в этих типах опухоли. Так, если в диффузном типе рака желудка частота интенсивного связывания опухолевыми клетками лектина бузины черной была максимальной и равнялась или превышала нормальную слизистую оболочку, то в кишечном типе она была минимальной, в большинстве случаев ниже в опухоли, чем в нормальной слизистой оболочке.

Складывается кажущееся противоречие о роли лектинов в оценке злокачественности опухолей. С одной стороны, указана роль сиаловых кислот, фукозы в качестве показателя злокачественности, что подтверждается в диффузном раке желудка с максимальной инвазивностью. С другой стороны, фукозоспецифический лектин бобовника анагирилистного, галактозо-, галактозаминспецифические лектины арахиса и сои в кишечном типе рака желудка с большей частотой отмечают в случаях без инвазии сосудов. По данным специализированной литературы, галактозоспецифические лектины служат показателем незрелости клеток, а сиалирование и фукозилирование появляется в более дифференцированных клетках при их созревании.

Противоречие разрешается при учете, что диффузный и кишечный типы рака желудка резко отличаются по многим особенностям канцерогенеза и прогрессии.

Так, развитие диффузного рака желудка связано с нарушением клеточной адгезии в связи с мутацией

Е-кадгерина (как результат наследственной предрасположенности или спорадической мутации). Это ведет к развитию перстневидноклеточного рака с низким ядерно-цитоплазматическим соотношением, высокой продукцией муцина, слабой пролиферативной активностью. Нарушение клеточной адгезии из-за потери Е-кадгерина – первый шаг эпителиально-мезенхимального перехода, для которого характерно резкое возрастание инвазии клеток и снижение их пролиферации [11]. Связь клеток в эпителиальных опухолях кроме Е-кадгерина определяется также плотными соединениями. Показано, что лектин сои в диффузном раке желудка связывался с высокой частотой, снижая белки плотных соединений.

Рак кишечного типа, развивающийся в результате действия онкогенов (CagA антиген хеликобактерной инфекции и др.), характеризуется высокой пролиферативной активностью и выраженной незрелостью клеток.

Понятно, что в раке диффузного типа с более зрелыми перстневидными клетками будут выражены процессы сиализации и фукозилирования с максимальной инвазивностью – как следствие эпителиально-мезенхимального перехода.

В раке кишечного типа клетки сохраняют высокую степень незрелости с преобладанием галактозы, галактозамина и меньшую инвазивность в сравнении с диффузным типом рака.

Таким образом, разные типы рака желудка характеризуются различием углеводных детерминант опухолевых клеток, что может иметь значение для создания различных потенциалов к их метастазированию и, возможно, других особенностей.

Диффузный тип рака желудка с точки зрения классических представлений о клеточном атипизме характеризуется в очагах перстневидноклеточного рака низким ядерно-цитоплазматическим отношением, высокой продукцией муцина, т.е. высокой степенью дифференцировки, в том числе функциональной, низкой пролиферативной активностью. Это соответствует представлению о связи сиалирования с созреванием, дифференцированием эпителиальных клеток.

Кишечный тип рака желудка характеризуется выраженной клеточной атипизмом, высоким ядерно-цитоплазматическим отношением и пролиферативной активностью, т.е. выражены признаки незрелости клеток, что соответствует большей частоте высокого связывания с галактозоспецифическими лектинами.  $\alpha$ -галактоза – углеводный эпитоп опухоли-ассоциированного Tomsen-Friedenreich и Tn антигенов.

Однако степень зрелости, дифференцировки опухолевых клеток может не отражать их инвазивность, которая часто связана, например, с развитием эпителиально-мезенхимальной трансформации (перехода) [11], которая по частоте, распространенности и полноте выше в раке диффузного типа [2]. Один из основных признаков

эпителиально-мезенхимальной трансформации – обособление опухолевых клеток, потеря характерной для эпителия связи клеток друг с другом. В этом плане особый интерес представляет лектин сои, который редуцирует уровень белков плотных соединений (окклюдин, клаудин 3) и этим способствует нарушению целостности эпителиального пласта. В нашем материале лектин сои интенсивно связывался с высокой частотой во всех типах рака желудка: максимально в диффузном типе (67,7%), реже в смешанном (53,8%) и кишечном (42,9%) типах.

### Выводы

1. Типы рака желудка (диффузный, кишечный и смешанный) отличаются различной частотой высокого и умеренного связывания отдельных лектинов опухолевыми клетками. В диффузном типе максимальная частота высокого связывания обнаружена с лектином бузины (сиалоспецифичный – 72,4%), лектинами виноградной улитки и сои (галактозамин-, глюкозоспецифичные – по 67,7%). Кишечный тип рака желудка характеризовался высокой частотой связывания опухолевых клеток с лектинами арахиса (галактозо- и галактозаминспецифичным – 52%) и пшеницы (глюкозамин-, сиалоспецифичный – 48%). В смешанном типе рака желудка чаще высокая интенсивность связывания опухолевых клеток была с галактозоспецифичными лектинами арахиса и сои (по 53,8%). Частота высокого связывания лектинов в разных типах рака отличалась статистически достоверно ( $p < 0,01$ ).

2. Сопоставление частоты высокого связывания лектинов с опухолевыми клетками и эпителием слизистой оболочки в том же случае показало 3 варианта: в опухолевых клетках частота связывания каждого лектина была примерно равна связыванию с эпителием слизистой оболочки, выше и ниже ее. При этом лектины, обнаруживающие высокую частоту связывания, характеризуются более интенсивным связыванием по сравнению со слизистой оболочкой.

3. Сравнение лектинных специфичностей в случаях с инвазией сосудов и без нее показало максимальную частоту в диффузном типе рака желудка с инвазией для лектина бузины черной, но она отмечена и в случаях без инвазии, тогда как лектин бобовника анагирилистного связывался с опухолевыми клетками только в случаях с инвазией сосудов. В раке кишечного типа максимальная частота связывания в группе с инвазией сосудов отмечена с лектином проростков пшеницы, но она была только на 10% ниже в группе без инвазии сосудов, более значительное различие было с лектином виноградной улитки (26,4%). Частота связывания с отдельными лектинами позволяет предполагать, что отдельные углеводные специфичности могут препятствовать инвазии сосудов: обнаруживаемые лектинами бобовника анагирилистного и сои для кишечного типа рака, омелы – для диффузного.

### Список литературы

1. Антонюк В.О. Лектины та їх сировинні джерела / В.О. Антонюк. – Л., 2005. 554 с.
2. Последовательность появления отдельных признаков эпителиально-мезенхимальной трансформации в основных гистологических типах рака желудка / И.В. Василенко, Б.Б. Брук, Р.Б. Кондратюк и др. // Український медичний альманах. – 2013. – Т. 16. – №3 (додаток). – С. 49–53.
3. Роль углеводных детерминант в инвазивном раке желудка / И.В. Василенко, Н.Н. Сургай, Ю.М. Винников и др. // Вісник проблем біології і медицини. – 2003. – №1. – С. 102–106.
4. Луцик А.Д. Рецепторы лектинов в молочной железе и её опухолях / А.Д. Луцик, В.В. Биров, И.М. Дмитрук // Архив патологии. – 1986. – №7. – С. 9–14.
5. Луцик А.Д. Лектины в гистохимии / А.Д. Луцик, Е.С. Денюк, М.Д. Луцик. – Львов, 1989. – 144 с.

6. Пашченко С.М. Визначення в пухлині хворих на карциному молочної залози рецепторів до лектину SNL / С.М. Пашченко // Одеський медичний журнал. – 2002. – №1. – С. 50–53.
7. Arab M.R. Lectin histochemical study of cell surface glycoconjugate in gastric carcinoma / M.R. Arab, S. Salari, M. Karimi, H. Mofidpour // *Acta Med Iran*. – 2010. – Vol. 48. – №4. – P. 209–213.
8. Chen G. Expression of galectin-3 and Sambucus nigra agglutinin and its clinicopathological significance in benign and malignant lesions of breast / G. Chen, Q. Zou, Z. Yang // *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. – 2010. – Vol. 35. – №6. – P. 584–589.
9. Expression of peanut agglutinin-binding mucin-type glycoprotein in humar eosophageal squamous cell carcinoma as a marker / S. Kannan, R.A. Lakku, D. Niranjali // *Mol Cancer*. – 2003. – Vol. 2. – №1. – P. 38.
10. Characterization of wheat germ agglutinin lectin-reactive glycosylated OmpA-like proteins derived from *Porphyromonas gingivalis* / Y. Murakami, Y. Hasegawa, K. Nagano, F. Yoshimura // *Infect Immun*. – 2014. – Vol. 82. – №11. – P. 4563–4571.
11. Nieto M.A. The SNAIL superfamily of zinc – finger transcription factors / M.A. Nieto // *Molecular cell biology*. – 2002. – Vol. 3. – P. 155–166.
12. Expression of alpha 2,6-linked sialic acid residues in neoplastic but not in normal human colonic mucosa. A lectin-gold cytochemical study with *Sambucus nigra* and *Maackia amurensis* lectins / T. Sata, J. Roth, C. Zuber et al. // *Am J Pathol*. – 1991. – Vol. 139. – №6. – P. 1435–1448.
13. Shang C. Comparative analysis of carbohydrate binding properties of *Sambucus nigra* lectins and ribosome-inactivating proteins / C. Shang, E.J. Van Damme // *Glycoconjug J*. – 2014. – Vol. 31. – №5. – P. 345–354.
14. Construction and validation of a *Sambucus nigra* biosensor for cancer-associated STn antigen / M.L. Silva, E. Gutiérrez, J.A. Rodríguez // *Biosens Bioelectron*. – 2014. – Vol. 57. – P. 254–261.
15. Close correlation between increased sialyl-Lewis-x expression and metastasis in human gastric carcinoma / H. Ura, R. Denno, K. Hirata et al. // *World J Surg*. – 1997. – Vol. 21. – №7. – P. 773–776.
16. Up-regulation of galectin-3 and *Sambucus nigra* agglutinin binding site is associated with invasion, metastasis and poor-progression of the gallbladder adenocarcinoma / L.P. Yang, S. Jiang, J.Q. Liu et al. // *Hepatogastroenterology*. – 2012. – Vol. 59. – P. 2089–2094.
17. Expression of galectin 3 and *Sambucus nigra* agglutinin and their clinicopathological significance in benign and malignant lesions of stomach / J.P. Zhou, Z.L. Yang, D.C. Liu, J.P. Zhou // *Zhonghua Wei Chang Wai Ke Za Zhi*. – 2009. – Vol. 12. – №3. – P. 297–300.
18. uglevodnykh determinant v invazivnom rake zheludka [Role of the submucosous determinant in invasion growth of a crawfish of a stomach]. *Visnyk problem biolohii i medycyny*, 1, 102–106. [in Ukrainian].
19. Lucik, A. D., Birov, V. V., & Dmitruk, I. M. (1986) [Lectin's receptors in the breast and its carcinoma]. *Arkhiv patologii*, 7, 9–14. [in Russian].
20. Lucik, A. D., Detyuk, A. D., Lucik, M. D. (1989) *Lektyny v gistokhimii [Lectins in histochemistry]*. Lvov. [in Ukrainian].
21. Pashchenko, S. M. (2002) Vyznachennia v pukhlyni khvorykh na kartsynomu molochnoi zalozy retseptoriv do lektynu SNL [Detection receptors of the lectin SNL in breast cancer]. *Odeskyi medychnyi zhurnal*, 1, 50–53.
22. Arab, M. R., Salari, S., Karimi, M., & Mofidpour, H. (2010) Lectin histochemical study of cell surface glycoconjugate in gastric carcinoma using helix pomatia agglutinin. *Acta Med Iran*, 48(4), 209–213.
23. Chen, G., Zou, Q., & Yang, Z. (2010) Expression of galectin-3 and *Sambucus nigra* agglutinin and its clinicopathological significance in benign and malignant lesions of breast. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*, 35(6), 584–589. doi: 10.3969/j.issn.1672-7347.2010.06.008.
24. Kannan, S., Lakku, R. A., Niranjali, D., Jayakumo, K., Steven, A. H., Taralakshmi, V. V., et al. (2003) Expression of peanut agglutinin-binding mucin-type glycoprotein in humar eosophageal squamous cell carcinoma as a marker. *Mol Cancer*, 2(1), 38. doi:10.1186/1476-4598-2-38.
25. Murakami, Y., Hasegawa, Y., Nagano, K., & Yoshimura, F. (2014) Characterization of wheat germ agglutinin lectin-reactive glycosylated OmpA-like proteins derived from *Porphyromonas gingivalis*. *Infect Immun*, 82(11), 4563–4571. doi: 10.1128/IAI.02069-14.
26. Nieto, M. A. (2002) The SNAIL superfamily of zinc – finger transcription factors. *Molecular cell biology*, 3, 155–166. doi:10.1038/nrm757.
27. Sata, T., Roth, J., Zuber, C., Stamm, B., & Heitz, P.U. (1991) Expression of alpha 2,6-linked sialic acid residues in neoplastic but not in normal human colonic mucosa. A lectin-gold cytochemical study with *Sambucus nigra* and *Maackia amurensis* lectins. *Am J Pathol*, 139(6), 1435–1448.
28. Shang, C., & Van Damme, E. J. (2014) Comparative analysis of carbohydrate binding properties of *Sambucus nigra* lectins and ribosome-inactivating proteins. *Glycoconjug J*, 31(5), 345–354. doi: 10.1007/s10719-014-9527-9.
29. Silva, M. L., Gutiérrez, E., Rodríguez, J. A., Gomes, C., & David, L. (2014) Construction and validation of a *Sambucus nigra* biosensor for cancer-associated STn antigen. *Biosens Bioelectron*, 57, 254–261. doi: 10.1016/j.bios.2014.02.006.
30. Ura, H., Denno, R., Hirata, K., Yamaguchi, K., Yasoshima, T., & Shishido, T. (1997) Close correlation between increased sialyl-Lewis-x expression and metastasis in human gastric carcinoma. *World J Surg*, 21(7), 773–776.
31. Yang, L. P., Jiang, S., Liu, J. Q., Miao, X. Y., & Yang, Z. L. (2012) Up-regulation of galectin-3 and *Sambucus nigra* agglutinin binding site is associated with invasion, metastasis and poor-progression of the gallbladder adenocarcinoma. *Hepatogastroenterology*, 59(119), 2089–2094.
32. Zhou, J. P., Yang, Z. L., Liu, D. C., & Zhou, J. P. (2009) Expression of galectin 3 and *Sambucus nigra* agglutinin and their clinicopathological significance in benign and malignant lesions of stomach. *Zhonghua Wei Chang Wai Ke Za Zhi*, 12(3), 297–300.

**Сведения об авторах:**

Кондратюк Р.Б., к. мед. н., доцент каф. патоморфологии, Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького, E-mail: rbkondrat@gmail.com.

Василенко И.В., д. мед. н., профессор, зав. каф. патоморфологии, Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького. Гульков Ю.К., к. мед. н., ассистент каф. патоморфологии, Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького, зав. патологоанатомическим отделением, Донецкое областное клиническое территориальное медицинское объединение.

**Відомості про авторів:**

Кондратюк Р.Б., к. мед. н., доцент каф. патоморфології, Донецький національний медичний університет ім. М. Горького, E-mail: rbkondrat@gmail.com.

Василенко І.В., д. мед. н., професор, зав. каф. патоморфології, Донецький національний медичний університет ім. М. Горького.

Гульков Ю.К., к. мед. н., асистент каф. патоморфології, Донецький національний медичний університет ім. М. Горького, зав. патологоанатомічного відділення, Донецьке обласне клінічне територіальне медичне об'єднання.

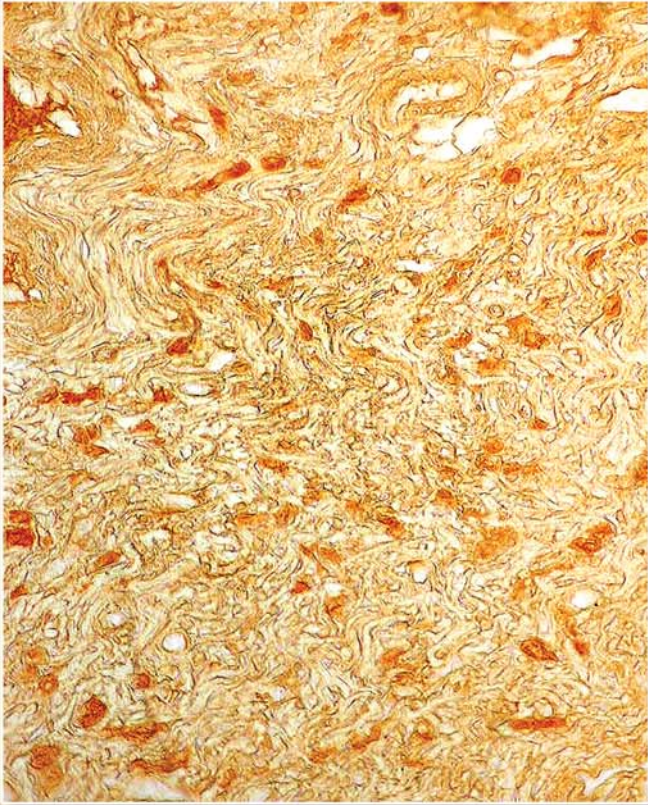
**Information about authors:**

Kondratiuk R.B., MD, PhD, Associate Professor of Pathomorphology Department, M. Gorky Donetsk National Medical University, E-mail: rbkondrat@gmail.com.

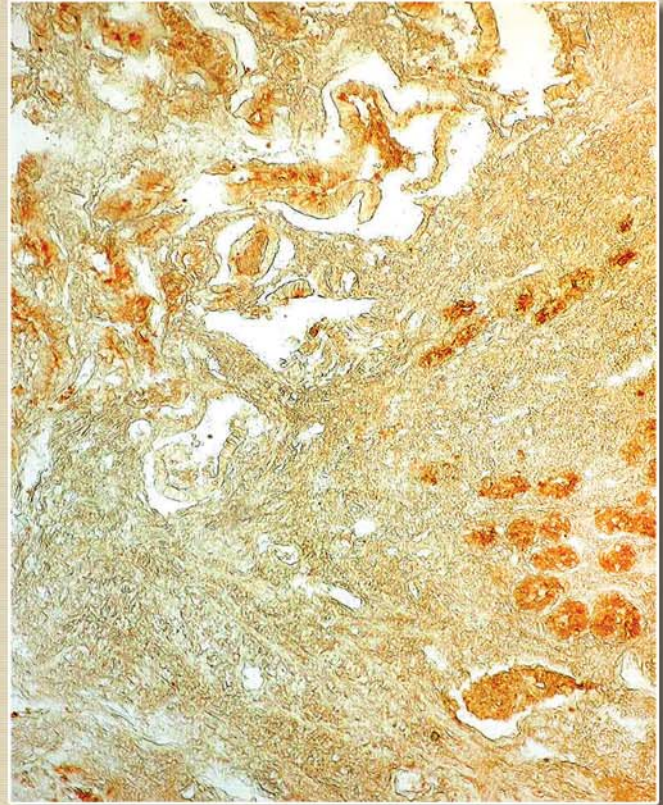
Vasilenko I.V., MD, PhD, DSci, Professor, Head of Pathomorphology Department, M. Gorky Donetsk National Medical University.

Gul'kov Yu.K., MD, PhD, Assistant of Pathomorphology Department, M. Gorky Donetsk National Medical University.

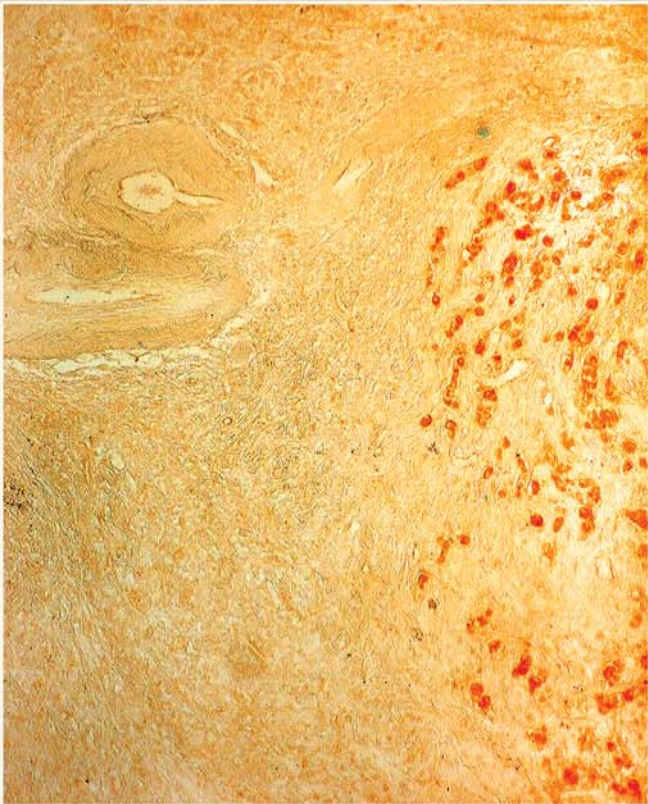
Надійшла в редакцію 01.04.2015 р.



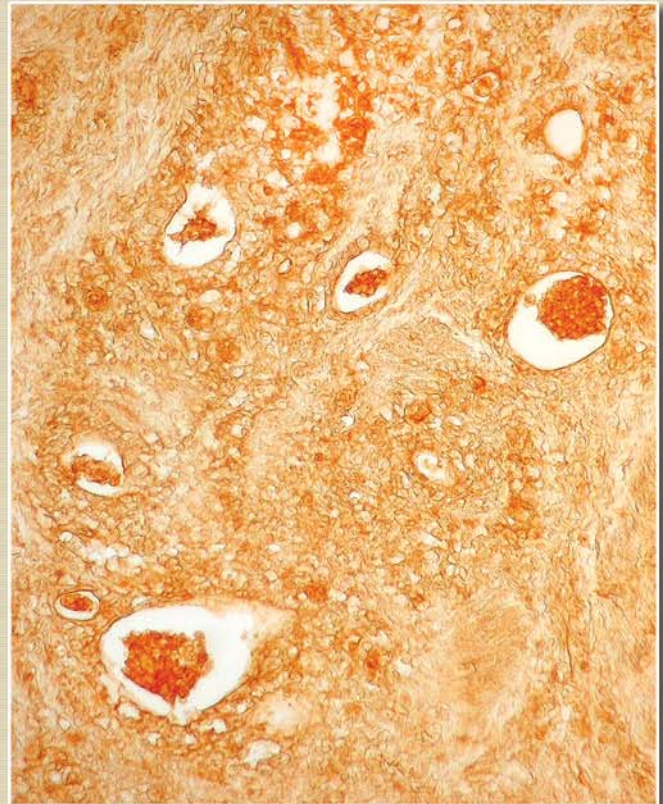
*Рис. 1.* Высокое, местами умеренное связывание лектина бобовника анагирилистного с опухолевыми клетками диффузного типа рака желудка с признаками эпителиально-мезенхимальной трансформации. Ув. 200.



*Рис. 2.* Умеренное до высокого связывание лектина арахиса с опухолевыми клетками в большей части опухолевых желез, высокое связывание с нормальным эпителием слизистой оболочки и опухолевым эмболом. Ув. 100.



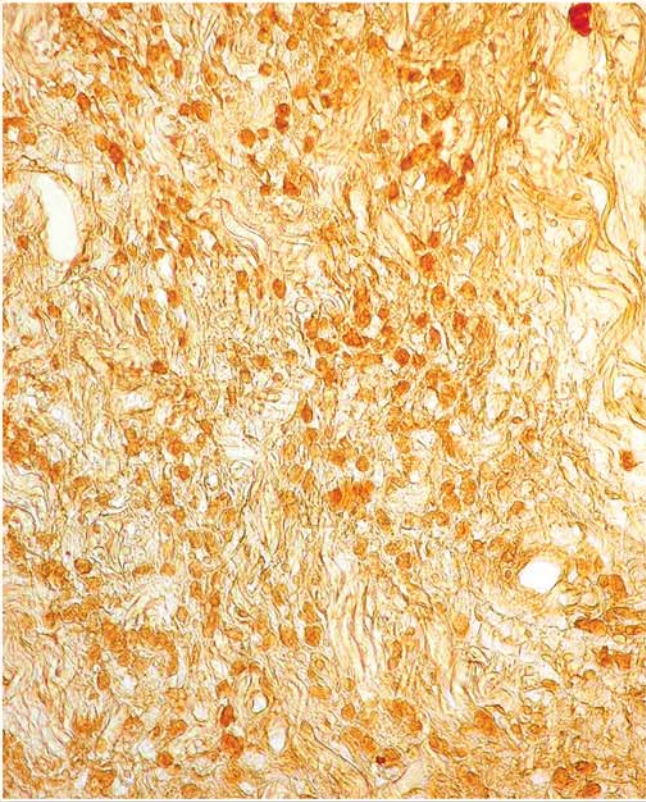
*Рис. 3.* Высокое связывание лектина улитки с опухолевыми клетками диффузного типа рака желудка. Ув. 200.



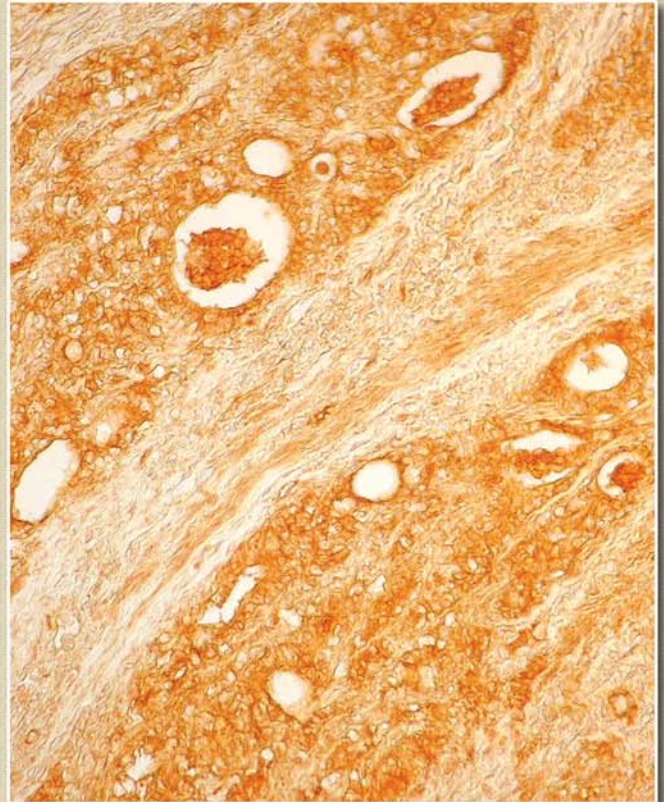
*Рис. 4.* Высокое и умеренное связывание лектина пшеницы с опухолевыми клетками железистых и солидных структур опухоли. Ув. 200

**(Рис. 1–4 к статье Р. Б. Кондратюка, И. В. Василенко, Ю. К. Гулькова «Лектино-гистохимическая оценка углеводных детерминант опухолевых клеток основных гистологических типов рака желудка», с. 73–79)**

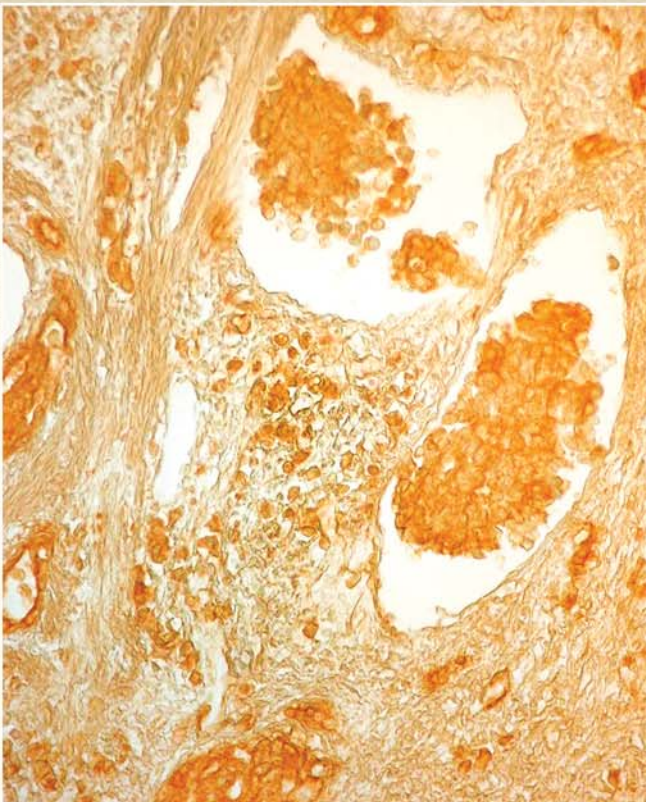




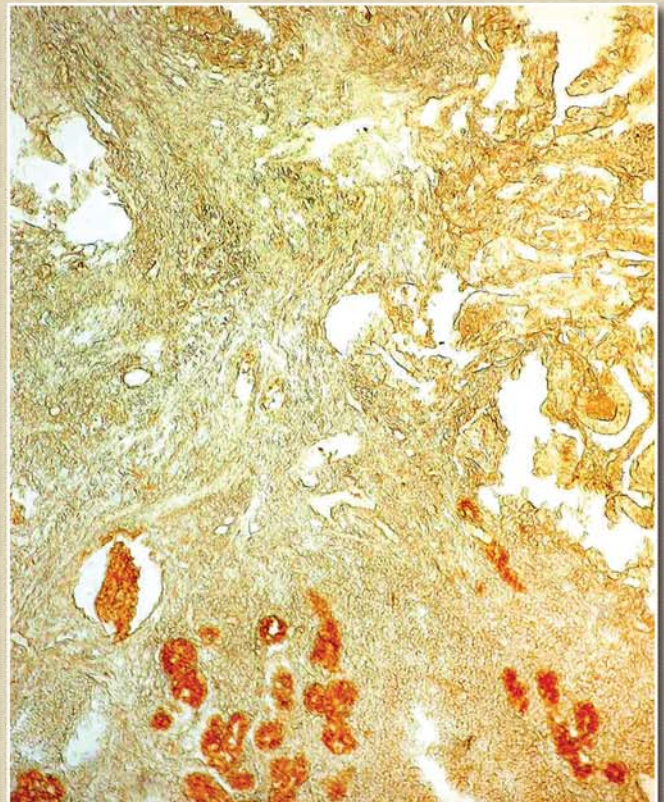
*Рис. 5.* Высокое, местами умеренное связывание лектина бобовника анагирилистного с опухолевыми клетками диффузного типа рака желудка. Ув. 200.



*Рис. 6.* Высокое связывание лектина улитки с железистыми и солидными структурами опухоли. Ув. 200.



*Рис. 7.* Высокое связывание лектина бобовника анагирилистного с опухолевыми клетками железистых структур, единичными в строме и в опухолевых эмболах. Ув. 200.



*Рис. 8.* Низкое связывание лектина бобовника анагирилистного с опухолевыми клетками железистых структур, высокое связывание с нормальным эпителием слизистой оболочки и опухолевым эмболом. Ув. 100.

**(Рис. 5–8 к статье Р. Б. Кондратюка, И. В. Василенко, Ю. К. Гулькова «Лектино-гистохимическая оценка углеводных детерминант опухолевых клеток основных гистологических типов рака желудка», с. 73–79)**