

А. В. Тимошенко, С. Н. Черенкевич

ГЛИКОБИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ АКТИВАЦИИ ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ ФАГОЦИТОВ

В кратком обзоре рассмотрены данные о роли белок-углеводных взаимодействий в активации дыхательного взрыва фагоцитов. Отмечено, что единственным гликозилированным компонентом дыхательной цепи фагоцитов, расположенным с внешней стороны плазматической мембраны, является β -субъединица цитохрома b_{-245} (gp91-phox). Активация дыхательной цепи, определяемая по генерации супероксидного анион-радикала или перекиси водорода, происходит под действием ряда растворимых растительных лектинов и при взаимодействии фагоцитов с клетками-мишенями посредством эндогенных лектинов. Предполагается, что важное значение для проявления активности лектинов имеет их сродство к функционально значимым гликолигандам на поверхности клеток.

Фагоциты (нейтрофилы, макрофаги, моноциты и эозинофилы) содержат уникальную оксидазную систему, которая в активированном состоянии генерирует супероксидный анион-радикал ($O_2^{\cdot-}$) вследствие одноэлектронного восстановления кислорода в присутствии NADPH:



Процесс электронного транспорта осуществляется мультиферментным комплексом, ассоциированным с плазматической мембраной клеток. Ключевым и терминальным компонентом NADPH-оксидазной системы фагоцитов является цитохром b типа, локализованный в плазматической мембране и отличающийся низким редокс-потенциалом [1]. В соответствии с величиной редокс-потенциала ($E_{m7} = -245$ мВ) его обозначают часто, как цитохром b_{-245} , либо как цитохром b_{559} , либо b_{558} в соответствии с положением максимума спектра поглощения.

Цитохром b_{-245} является гетеродимером, состоящим из легкой α -субъединицы с молекулярной массой 22 000 (p22-phox) и тяжелой гликозилированной β -субъединицы с молекулярной массой 91 000 (gp91-phox) [2]. Генетические нарушения, связанные с синтезом gp91-phox и p22-phox, лежат в основе соответственно 55 и 5 % случаев хронического гранулематоза, при котором нейтрофилы утрачивают способность генерировать $O_2^{\cdot-}$ [3]. β -Субъединица цитохрома b_{-245} содержит в своем составе около 15 % углеводов, главными из которых являются N-ацетилглюкозамин, галактоза и манноза [4]. Эта субъединица обладает высоким сродством к лектину из *Phaseolus vulgaris* (РНА) и, вероятно, может служить в качестве гликолиганда для других лектинов.

Предполагается, что перенос электрона от NADPH к цитохрому b_{-245} осуществляется с участием специфического мембраносвязанного флавопротеина [5]. Однако недавно было установлено, что цитохром b_{558} сам способен связывать ФАД, то есть является флавопротеином, и для реконструкции дыхательной цепи в бесклеточной системе достаточно наличия дополнительно только трех цитоплазматических белков [6, 7]. Два соответствующих белка с молекулярными массами 67 000 (p67-phox) и 47 000 (p47-phox) идентифицированы как продукты генов, нарушения в которых вызывают 40 % рецессивного типа хронического гранулематоза, при котором цитохром b_{-245} находится в функ-

циональной форме [3]. Интересно, что р67-рhox отличается высокой термолабильностью и необратимо инактивируется при нагревании (46 °C) в течение 10 мин, что приводит к потере нейтрофилами способности генерировать O_2^- [8]. Третий цитоплазматический компонент, обозначаемый SOCl, является ГТФ-связывающим белком с молекулярной массой около 22 000 [9].

Предполагается также, что механизм активации дыхательного взрыва в фагоцитах состоит в формировании мультимерного комплекса из перечисленных выше компонентов в составе плазматической мембраны клеток [10]. Исследования, выполненные с использованием активатора протеинкиназы С — форбол-миристат-ацетата (ФМА), показали, что этому процессу предшествует фосфорилирование цитоплазматического белка р47-рhox [10, 11]. Возможен и другой путь интеграции компонентов дыхательной цепи без существенного фосфорилирования названного белка, как это имеет место при активации нейтрофилов хемотаксическим пептидом FMLP [12]. Следует также отметить, что активация дыхательного взрыва фагоцитов чувствительна к ряду метаболических ингибиторов. Показано, что генерация O_2^- фагоцитами является кальмодулин-зависимым процессом, контролируется состоянием элементов клеточного цитоскелета, сопряжена с изменениями внутриклеточного рН и рСа, деполяризацией плазматической мембраны [13—19]. Однако метаболические изменения в клетках, вызванные различными стимуляторами окислительного метаболизма, не идентичны и в ряде случаев существенно различаются. Так, ФМА не влияет на уровень внутриклеточного кальция в отличие от хемотаксических пептидов, лектинов и иономицина [19]. При этом сверхнизкие концентрации ФМА (0,25 нг/мл) существенно усиливали генерацию O_2^- , стимулированную указанными агентами (прайминг-эффект). Прайминг-эффект наблюдается также при использовании «коктейлей» из других стимуляторов окислительного метаболизма, равно как и в их сочетании с цитокинами (фактор некроза опухолей, интерлейкин-1 и др.) [20]. Эти наблюдения свидетельствуют о том, что существуют различные пути активации дыхательного взрыва фагоцитов и соответственно различные пути интеграции компонентов дыхательной цепи плазматической мембраны в зависимости от типа используемого стимулятора.

В связи с тем, что один из ключевых компонентов дыхательной цепи фагоцитов (gp91-рhox) является гликопротеином и локализован с внешней стороны плазматической мембраны, представляется важным анализ роли белок-углеводных взаимодействий в активации фагоцитов. Инструментами для этих целей служат лектины, белки растительного, животного или бактериального происхождения, специфически взаимодействующие с определенными гликолигандами [21]. Эффекты лектинов на окислительный метаболизм фагоцитов интересны еще и потому, что многие из них способны инициировать кластеризацию мембранных рецепторов, способствуя тем самым интеграции компонентов дыхательной цепи [22].

В 1973 году Ромео с соавт. установили обратимую стимуляцию окислительного взрыва фагоцитов [23]. Последующие исследования, проведенные в начале 80-х годов, показали, что 85 % кислорода, потребляемого нейтрофилами при их стимуляции соpA, и 28 % — при стимуляции РНА, метаболизируются в виде O_2^- [24]. Было установлено также, что лектин-индуцированная генерация O_2^- и H_2O_2 клетками усиливается в несколько раз в присутствии цитохалазина В, ингибирующего процессы фагоцитоза. В этом случае 90—95 % потребляемого кислорода превращается в O_2^- . Эти данные лежат в основе современных представлений о том, что растворимые стимуляторы типа лектинов активируют плазматическую NADPH-оксидазную систему по механизму, отличному от действия фагоцитирующих факторов (латекс, зимозан, микробные клетки).

Детальное исследование соpA-индуцированной генерации O_2^- нейтрофилами показало, что процесс начинается после непродолжитель-

ного лаг-периода (1—6 мин) и протекает затем с линейной скоростью, причем как величина лаг-периода, так и скорость генерации O_2^- зависят от концентрации лектина [25]. Эффект соpA практически полностью блокируется галпленным углеводом α -метил-D-маннозидом в диапазоне концентраций 1—10 мМ. Характерно, что добавление ФМА, прямого активатора плазматической NADPH-оксидазы, в присутствии α -метил-D-маннозида вызывает дальнейшее развитие дыхательного взрыва клеток, свидетельствующее об обратимой активации этой ферментной системы соpA. Лектин-индуцированная генерация O_2^- фагоцитами снижается на 80 % в присутствии 1—2 мМ α -дезоксид-D-глюкозы, что указывает на ключевую роль метаболизма глюкозы в энергетическом обеспечении этой реакции [15].

Результаты, полученные с использованием соpA, создали основу для тестирования других лектинов и изучения роли взаимодействий типа лектин—гликолиганд в обеспечении развития дыхательного взрыва фагоцитов. На уровне растворимых факторов в качестве стимуляторов дыхательного взрыва фагоцитов могут выступать экзогенные лектины с различной углеводной специфичностью. В табл. 1 суммированы сведения о соответствующих лектинах, изученных к настоящему времени. По своей способности активировать генерацию O_2^- фагоцитами изученные лектины существенно различаются, и их эффект зависит от используемой дозы активатора (рис. 1). Маннозоспецифичный соpA наиболее широко используется для активации фагоцитов вследствие его доступности и хорошо охарактеризованных биохимических свойств. Этот лектин активен лишь в форме тетрамера, тогда как его димерная форма (сукцинилизированный соpA) полностью лишена активности [24, 26]. СоpA отличается неселективностью по отношению к различным типам клеток и вызывает активацию гранулоцитов человека, лейкоцитов и перитонеальных макрофагов морской свинки, других клеток [13, 15, 24, 27]. Другой маннозоспецифичный лектин, протеин D из сурфактанта крыс, избирательно активирует альвеолярные макрофаги и не оказывает влияния на перитонеальные макрофаги [28].

Высокой активностью в отношении фагоцитов обладают Wheat germ агглютинин (WGA), взаимодействующий с N-ацетилглюкозаминном и остатками сиаловых кислот, и РНА, взаимодействующий с олигосахаридами сложной структуры [19, 24]. Отметим, что WGA являет-

Таблица 1

Лектины, вызывающие активацию NADPH-оксидазной системы плазматической мембраны фагоцитов

Источник лектина	Углеводная специфичность	Ссылка
<i>Actinomyces viscosus</i>	lac, β -D-gal	[46]
<i>Canavalia ensiformis</i>	α -D-man, α -D-glc	[13—15, 19, 24—26, 35]
<i>Dolichos biflorus</i>	α -D-galNac	[26]
<i>Erythrina cristagalli</i>	β -D-gal(1—4)-D-glcNac	[26]
<i>Escherichia coli</i>	α -D-man	[40, 42]
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	lac, D-gal, D-galNac	[47]
<i>Halocynthia roretzi</i>	D-gal	[29]
<i>Phaseolus vulgaris</i>	Олигосахариды	[15, 24, 26, 35]
<i>Ricinus communis</i>	β -D-gal	[26]
<i>Triticum vulgare</i>	(D-glcNac) ₂ , NeuNac	[15, 19, 26, 35]
<i>Viscum album</i>	D-gal	[26]
Белок D сурфактанта крыс	D-man	[28]
Галактозоспецифичный лектин из плаценты человека, 14 000	D-gal	[26]
Маннозоспецифичный лектин из сыворотки крови	D-man	[41]

ся специфическим стимулятором дыхательного взрыва макрофагов морской свинки и в этом отношении превосходит *сopA* и PHA [15].

Большую группу лектинов, вызывающих генерацию O_2^- фагоцитами, образуют галактозоспецифичные лектины различного происхождения: *Viscum album* агглютинин (VAA), *Ricinus communis* агглютинин (RCA), *Halocynthia roretzi* агглютинин [26, 29]. VAA и RCA — типичные представители растительных токсинов, состоящие из углеводсвязывающей субъединицы В и токсичной субъединицы А [30]. Интересно, что способность VAA активировать генерацию O_2^- нейтрофилами человека связана исключительно с углеводсвязывающей субъединицей В [26]. Отметим, что галактозоспецифичный лектин из плаценты человека (галаптин, 14 кДа), выделенный на том же хроматографическом материале, что и VAA, обладает очень низкой активностью.

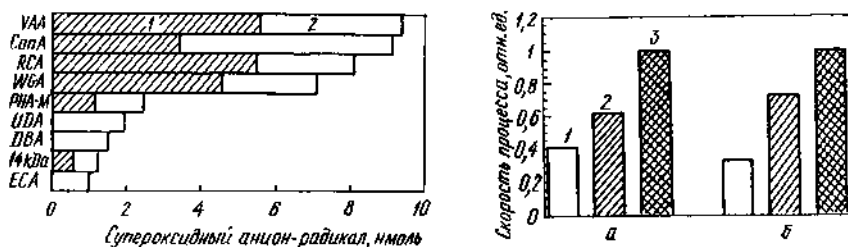
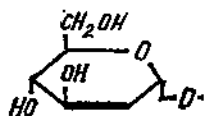


Рис. 1. Влияние различных лектинов на уровень генерации O_2^- нейтрофилами человека [26]. Клетки ($2 \cdot 10^6$ кл/мл) инкубировали в течение 15 мин при $37^\circ C$ в присутствии 80 мкМ цитохрома С и измеряли изменение поглощения при 550 нм (1, 2 — 50 и 100 мкг/мл соответственно)

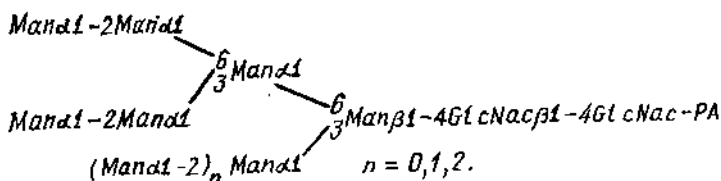
Рис. 2. Зависимость скорости агрегации нейтрофилов (а) и скорости образования H_2O_2 этими клетками (б) от концентрации *V. album* агглютинина. Концентрация нейтрофилов 10^6 кл/мл; измерения проводили при $37^\circ C$ и непрерывном перемешивании клеточной суспензии (1 — 2,5; 2 — 5; 3 — 25 мкг/мл)

Следовательно, способность лектинов активировать дыхательный взрыв нейтрофилов зависит от природы лектина и, вероятно, обусловлена различиями в их связывании с углеводными детерминантами различной степени разветвленности на поверхности клеток.

Действительно, большинство лектинов проявляет высокое сродство не столько к моносахаридам в терминальной части углеводной цепи, сколько к олигосахаридам сложной структуры [31]. Поскольку углеводная часть гликолигандов, ответственных за лектин-углеводное узнавание, может варьировать в значительной степени по химическому составу [32], необходимо учитывать химическую гетерогенность лектиновых рецепторов клеток. Рассмотрим в качестве примера *сopA*, который специфически взаимодействует с моноуглеводом типа:



Очевидно, что *сopA* может связываться специфически с терминальными невозстановленными группами G1c1-, Man1- и GlcNAc1-, а также с остатками -2G1c1- и -2Man1- внутри углеводной цепи [33]. Среди 17 исследованных N-олигосахаридов наивысшим сродством *сopA* обладает к олигосахариду сложной структуры:



Однако и другие углеводы могут участвовать во взаимодействии этого лектина с фагоцитами, так как *сopA*-индуцированная генерация O_2^- нейтрофилами человека и морской свинки блокируется не только α -метил-D-маннозидом, но (хотя в меньшей степени) и некоторыми другими моносахаридами (табл. 2). Можно поэтому предположить, что различия в сродстве лектинов к углеводной части β -субъединицы цитохрома b_{-245} являются одним из факторов регуляции дыхательного взрыва клеток. Важным свидетельством в пользу такого предположения

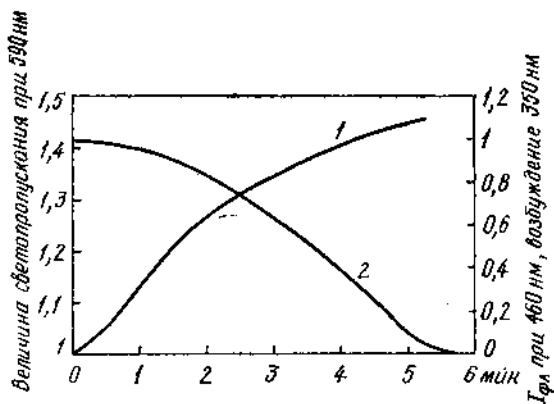


Рис. 3. Кинетики агрегации нейтрофилов человека (1) и H_2O_2 -зависимого окисления 1 мкМ скополетина в суспензии этих клеток под влиянием *E. coli* AB1157 ($D_{500}=0,13$). Измерения проводили при $37^\circ C$; концентрация нейтрофилов $2 \cdot 10^6$ кл/мл; в экспериментах с использованием скополетина суспензия содержала дополнительно 15 мкг/мл пероксидазы и 1 мМ азид натрия

Таблица 2

Влияние различных углеводов на генерацию O_2^- нейтрофилами под влиянием 25 мкг/мл *сopA* (процент ингибирования)

Углевод, 50 мМ	Нейтрофилы морской свинки*	Нейтрофилы человека**
α -Метил-D-маннозид	76	100
D-Манноза	71	82
Лактоза	62	58
N-Ацетил-D-глюкозамин	59	50
N-Ацетил-D-галактозамин	49	63
D-Глюкоза	43	44
α -L-Фукоза	18	45
Мелибиоза	24	53

* Данные из работы [29];
** собственные результаты, измерения проведены по методу [26].

служат данные о том, что лектины, активирующие дыхательный взрыв фагоцитов, выступают в роли индукторов агрегации клеток [34]. Например, концентрации галактозоспецифичного лектина VAA, необходимые для индукции эффективной агрегации клеток, приблизительно те же, что и для генерации H_2O_2 (рис. 2). Электронно-микроскопический анализ с использованием $SeCl_4$, образующего с H_2O_2 электронноплотные преципитаты, показал, что растительные лектины (*сopA*, PNA, WGA) вызывают образование H_2O_2 в области контакта клеточных поверхностей [35]. Высокое сродство к функционально значимым гликолигандам на поверхности клеток в этом случае имеет решающее значение для проявления активности лектинов. Так как H_2O_2 является непосредственным продуктом дисмутации O_2^- , то не исключено, что именно в местах межклеточных контактов интегрируются компоненты дыхательной цепи фагоцитов, включая, прежде всего, взаимодействующий с лектинами цитохром b_{-245} .

Активация дыхательного взрыва фагоцитов представляет собой одну из ключевых реакций этих клеток при их взаимодействии с бактериальными и опухолевыми клетками. Кислородные радикалы, образующиеся при этом, рассматриваются в качестве бактерицидных и цитолитических агентов [36—38]. Примечательно, что межклеточные контакты фагоцитов с клетками-мишенями опосредованы лектин-гликолигандными взаимодействиями соответствующих поверхностных структур клеток. Эндогенные лектины являются неотъемлемыми компонентами поверхности клеток [39], вовлеченными в процессы молекулярного узнавания мембранных гликолигандов. В отличие от водорастворимых растительных лектинов, эндогенные лектины, как правило, активны лишь в составе клеток или в иммобилизованной форме [40—42]. Учас-

тие эндогенных лектинов в формировании межклеточных контактов и активации окислительного метаболизма клеток определяется по ингибирующему действию углеводов на эти реакции. В модельной системе при изучении взаимодействия клеток макрофагальной линии THP-1 с культуральными клетками рака пищевода было установлено, что генерация O_2^- макрофагами ингибируется в наибольшей степени D-маннозой, а GlcNac и Fuc — неэффективны [43]. Использование клеточной линии с модифицированным составом мембранных олигосахаридов позволило авторам этой работы заключить, что N-гликозидные олигосахариды ответственны за активацию макрофагов, причем разветвление этих цепей за счет GlcNac β (1—6) ведет к снижению клеточного ответа.

Более детально изучено взаимодействие фагоцитов с бактериальными клетками, которое опосредовано адгезионными пилиями или фимбриями с различной углеводной специфичностью [44]. Пилии представляют собой лектины на поверхности бактериальных клеток, специфичные к остаткам маннозы (пили 1-го типа), галактозы (пили 2-го типа) или других углеводов. Соответствующие взаимодействия лежат в основе явления «лектинофагоцитоза», обеспечивающего инактивацию патогенных микроорганизмов фагоцитами [45]. Показано, что связывание бактериальных клеток *E. coli*, несущих пили 1-го типа, с нейтрофилами человека сопровождается развитием хемилюминисцентного ответа клеток [40] и образованием H_2O_2 в реакции с гомованилиновой кислотой [42], которые блокировались α -метил-D-маннозидом. Следует отметить, что, хотя изолированные пили не активировали дыхательного взрыва фагоцитов, однако они были эффективны при иммобилизации на частицах латекса. Бактериальные клетки *E. coli* AB1157 также активируют генерацию H_2O_2 нейтрофилами человека, которая протекает одновременно с агрегацией этих клеток (рис. 3). Оба процесса полностью блокируются D-маннозой. Генерация O_2^- нейтрофилами человека, обработанными сиалидазой, наблюдалась под действием *Actinomyces viscosus* T14V и избирательно блокировалось лактозой и α -метилгалактозой [46]. Лактоза и D-галактоза ингибировали также генерацию O_2^- нейтрофилами человека, индуцированную *Fusobacterium nucleatum*, однако GalNac был более специфическим ингибитором [47]. Отметим, что в этом случае активация нейтрофилов сопровождалась не только агрегацией клеток, но и включала процессы деполяризации плазматической мембраны, увеличения уровня внутриклеточного кальция и высвобождения лизоцима. Эти процессы характерны для лектин-индуцированной активации клеток.

Анализ изложенных данных показывает, что дыхательный взрыв фагоцитов в ряде случаев опосредован взаимодействиями типа лектин — гликолитанд. Представляет интерес проверка предположения о том, что в основе этой реакции лежит непосредственное взаимодействие лектинов с ключевым компонентом NADPH-оксидазы плазматической мембраны цитохромом b_{-245} , так как его β -субъединица является гликопротеином, а генерация активных форм кислорода локализована в области межклеточных контактов. Способность лектинов активировать фагоциты позволяет рассматривать их в качестве перспективных соединений, представляющих интерес для паллиативной терапии некоторых видов опухолей. Действительно, при таких онкологических заболеваниях, как рак легких и хроническая нейтрофильная лейкемия, возможность нейтрофилов генерировать O_2^- значительно снижается [48, 49]. Кроме того, многие противораковые препараты ингибируют окислительный метаболизм фагоцитов [50]. В подобных ситуациях возникает необходимость повышения или восстановления нормальной функции этих клеток. Исследования последних лет сосредоточены на изучении свойств галактозоспецифичного лектина из *Viscum album*, который в сверхнизких дозах (1 нг/кг массы) обладает терапевтическим эффектом [30, 51]. Способность VAA, равно как и других лектинов, стимулировать окислительный метаболизм фагоцитов следует считать

одним из важных аспектов их иммуномодулирующей и антиопухоловой активности при скрининге новых препаратов, действие которых основано на принципах белок-углеводного узнавания.

О. В. Тимошенко, С. М. Черенкевич

ГЛІКОБІОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ АКТИВАЦІЇ ДИХАЛЬНОГО ЛАНЦЮГА ФАГОЦИТІВ

Резюме

У стислому огляді розглянуто дані про роль білок-вуглеводних взаємодій в активації дихального вибуху фагоцитів. Відмічено, що єдиним глікозильованим компонентом дихального ланцюга фагоцитів, розміщеним з зовнішнього боку плазматичної мембрани, є β -субоднина цитохрому b_{245} (gp91-phox). Активація дихального ланцюга, що виявляється по генерації супероксидного аніон-радикала чи перекису водню, відбувається під дією ряду розчинних рослинних лектинів та при взаємодії фагоцитів з клітинами-мішенями за посередництвам ендогенних лектинів. Робиться припущення про те, що суттєвим для прояву активності лектинів є їх близькість до функціонально важливих гліколігандів на поверхні клітин.

A. V. Timoshenko, S. N. Cherenkevich

GLYCOBIOLOGICAL ASPECTS OF THE ACTIVATION OF PHAGOCYTES RESPIRATORY CHAIN

Summary

The role of protein-carbohydrate interactions in the activation of phagocytes respiratory burst is discussed. It is noted that β subunit of cytochrome b_{245} is the only glycosylated component of the respiratory chain of phagocytes located on the external surface of the plasma membrane. The respiratory burst of phagocytes is activated by many plant lectins and at the interaction of phagocytes with target cells via endogenous lectins. It is supposed that the activity of lectins depend on their affinity to the functionally significant glycoligands of the cell surface.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Cross A. R., Jones O. N., Harper A. M., Segal A. W. Oxidation-reduction of the cytochrome b found in the plasma-membrane fraction of human neutrophils: a possible oxidase in the respiratory burst // *Biochem. J.*—1981.—104.—P. 599—606.
2. Parcos C. A., Allen R. C., Cochrane C. G., Jesaitis A. J. Purified cytochrome b from human granulocyte plasma membrane is comprised of two polypeptides with relative molecular weights of 91000 and 22000 // *J. Clin. Invest.*—1987.—80.—P. 732—742.
3. Clark R. A., Malech H. L., Gallin G. L. et al. Genetic variants of chronic granulomatous disease: prevalence of deficiencies of two cytosolic components of the NADPH oxidase system // *N. Engl. J. Med.*—1989.—321.—P. 647—652.
4. Harper A. M., Caplin M. F., Segal A. W. Cytochrome b-245 from human neutrophils is a glycoprotein // *Biochem. J.*—1985.—227.—P. 783—788.
5. Cross A. R., Jones O. T. G. Enzymic mechanisms of superoxide production // *Biochim. et biophys. acta.*—1991.—1057.—P. 281—298.
6. Rotrosen D., Yeung C. L., Leto T. L., et al. Cytochrome b_{558} : the flavin-binding component of the phagocyte NADPH oxidase // *Science.*—1992.—256.—P. 1459—1462.
7. Sumimoto H., Sakamoto N., Nozaki M. et al. Cytochrome b_{558} , a component of the phagocyte NADPH oxidase, is a flavoprotein // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*—1992.—186.—P. 1368—1375.
8. Erickson R. W., Malawista S. E., Garrett M. C. et al. Identification of thermostable component of the human neutrophil NADPH oxidase. A model for chronic granulomatous disease caused by deficiency of the p67-phox cytosolic component // *J. Clin. Invest.*—1992.—89.—P. 1587—1595.
9. Mizuno T., Kaibuchi K., Ando S. et al. Regulation of the superoxide-generating NADPH oxidase by a small GTP-binding protein and its stimulatory and inhibitory GDP/GTP exchange proteins // *J. Biol. Chem.*—1992.—267.—P. 10215—10218.
10. Segal A. W. The electron transport chain of the microbicidal oxidase of phagocytic cells and its involvement in the molecular pathology of chronic granulomatous disease // *J. Clin. Invest.*—1989.—83.—P. 1785—1793.

11. Okamura N., Curnett J. T., Roberts R. L., Babior B. M. Relationship of protein phosphorylation to the activation of the respiratory burst in human neutrophils. Defects in phosphorylation of a group of closely related 48-kDa proteins in two forms of chronic granulomatous disease // *J. Biol. Chem.*—1988.—263.—P. 6777—6782.
12. Sha'aji R. I., Molski T. F. P., Gomez-Cambronero J., Huang C.-K. Dissociation of the 47-kilodalton protein phosphorylation from degradation and superoxide production in neutrophils // *J. Leukocyte Biol.*—1988.—43.—P. 18—27.
13. Zabuchi G., Berton G., Soranzo M. R. Mechanism of the potentiating effect of cytochalasin B on the respiratory burst induced by concanavalin A in leucocytes // *FEBS Lett.*—1981.—125.—P. 165—169.
14. Nakagawara A., Minakami S. Role of cytoskeletal elements in cytochalasin E-induced superoxide production by human polymorphonuclear leucocytes // *Biochem. et biophys. acta.*—1979.—584.—P. 143—148.
15. Kayashima K., Onoue K., Nakagawara A., Minakami S. Superoxide anion-generating activities of macrophages as studied by using cytochalasin E and lectins as synergistic stimulants for superoxide release // *Microbiol. Immunol.*—1980.—24.—P. 449—461.
16. Das U. N., Padma M., Sagar P. S. et al. Stimulation of free radical generation in human leukocytes by various agents including tumor necrosis factor is a calmodulin dependent process // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*—1990.—167.—P. 1030—1036.
17. Wright C. D., Hoffman M. D. Comparison of the rates of calmodulin and protein kinase C in activation of the human neutrophils respiratory burst // *Ibid.*—1987.—142.—P. 53—62.
18. Simchowitz L. Intracellular pH modulates the generation of superoxide radicals by human neutrophils // *J. Clin. Invest.*—1985.—76.—P. 1079—1088.
19. Ohsaka A., Saito M., Suzuki I. et al. Phorbol myristate acetate potentiates superoxide release and membrane depolarization without affecting an increase in cytoplasmic free calcium in human granulocytes stimulated by the chemotactic peptide, lectins and the calcium ionophore // *Biochim. et biophys. acta.*—1988.—941.—P. 19—30.
20. Khwaja A., Carver J. E., Linch D. C. Interactions of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (CSF), granulocyte CSF, and tumor necrosis factor α in the priming of the neutrophil respiratory burst // *Blood.*—1992.—79, N 3.—P. 745—753.
21. Луцук М. Д., Панасюк Е. Н., Луцук А. Д. Лектины.— Львов: Вища шк., 1981.—156 с.
22. Тимошенко А. В., Черенкевич С. Н. Кластеры мембранных рецепторов и их движение в клетках // *Успехи соврем. биологии.*—1990.—109, Вып. 2.—С. 206—218.
23. Romeo D., Zabucchi G., Rossi F. Reversible metabolic stimulation of polymorphonuclear leucocytes and macrophages by concanavalin A // *Nature New Biol.*—1973.—243.—P. 111.
24. Cohen M. S., Metcalf J. A., Root R. K. Relation of oxygen metabolism in human granulocytes: relationship between stimulus binding and oxidative response using plant lectins as probes // *Blood.*—1980.—55, N 6.—P. 1003—1010.
25. Cohen H. I., Chovanec M. E., Wilson M. K., Newburger P. E. ConA-stimulated superoxide production by granulocytes: reversible activation of NADPH oxidase // *Ibid.*—1982.—60, N 5.—P. 1188—1194.
26. Timoshenko A. V., Gabius H.-J. Efficient induction of superoxide release from human neutrophils by the galactose-specific lectin from *Viscum album* // *Biol. Chem. Hoppe-Seyler.*—1993.—374.—P. 237—243.
27. Colton C. A., Abel C., Patchett J. et al. Lectin staining of cultured CNS microglia // *J. Histochem. and Cytochem.*—1992.—40, N 4.—P. 505—512.
28. Van Iwaarden J. F., Shimizu H., Van Colde P. H. M. et al. Rat surfactant protein D enhances the production of oxygen radicals by rat alveolar macrophages // *Biochem. J.*—1992.—286.—P. 5—8.
29. Yokosawa H., Harada K., Igarashi K. et al. Galactose-specific lectin in the hemolymph of solitary ascidian, *Halocynthia roretzi*. Molecular, binding, and functional properties // *Biochim. et biophys. acta.*—1986.—870.—P. 242—247.
30. Gabius S., Joshi S. S., Kayser K., Gabius H.-J. The galactose-specific lectin from mistletoe as a biological response modifier (review) // *Int. J. Oncology.*—1992.—1.—P. 705—708.
31. Debray H., Decout D., Strecher G. et al. Specificity of twelve lectins towards oligosaccharides and glycopeptides related to N-glycosylproteins // *Eur. J. Biochem.*—1981.—117.—P. 41—45.
32. Хьюз Р. Гликопротеины.— М.: Мир, 1985.—140 с.
33. Kobata A. Structures and functions of the sugar chains of glycoproteins // *Eur. J. Biochem.*—1992.—209.—P. 483—501.
34. Тимошенко А. В., Черенкевич С. Н. Индуцированная агрегация клеток // *Укр. биохим. журн.*—1991.—63, № 6.—С. 3—14.
35. Ohno Y.-I., Hirai K.-I., Kanoh T. et al. Subcellular localization of hydrogen peroxide production in human polymorphonuclear leukocytes stimulated with lectins, phorbol myristate acetate, and digitonin: an electron microscopic study using $CeCl_3$ // *Blood.*—1982.—60, N 5.—P. 1195—1202.
36. Babior B. M. Oxidants from phagocytes: agents of defense and destruction // *Ibid.*—1984.—64.—P. 959—966.

37. Adams D. O., Nathan C. F. Molecular mechanisms in tumor-cell killing by activated macrophages // *Immunol. Today*.—1983.—4.—P. 166—169.
38. Nathan C. F., Silverstein S. C., Brukner L. H., Cohn Z. A. Extracellular cytotoxicity by activated macrophages and granulocytes. II. Hydrogen peroxide as a mediator of cytotoxicity // *Exp. Med.*—199.—P. 100—113.
39. Gabius S., Hellmann K. P., Ciesiolka T. et al. Lineage- and differentiation-dependent alterations in the expression of receptors for glycoconjugates (lectins) in different human hematopoietic cell lines and low grade lymphomas // *Blut*.—1989.—59.—P. 165—170.
40. Mangán D. F., Snyder I. S. Mannose-sensitive stimulation of human leukocyte chemiluminescence by *Escherichia coli* // *Infect. Immunity*.—1979.—26, N 3.—P. 1014—1019.
41. Kuhlman M., Joiner K., Ezekowitz R. A. B. The human mannose-binding protein functions as an opsonin // *J. Exp. Med.*—1989.—169.—P. 1733—1745.
42. Goetz M. B., Siverblatt F. J. Stimulation of human polymorphonuclear leukocyte oxidative metabolism by type 1 pili from *Escherichia coli* // *Infect. Immunity*.—1987.—55, N 3.—P. 534—540.
43. Takano R., Nose M., Kanno H. et al. Recognition of N-glycosidic carbohydrates on esophageal carcinoma cells by macrophage cell line THP-1 // *Amer. J. Pathol.*—1990.—137, N 2.—P. 393—401.
44. Езенчук Ю. В. Патогенность как функция биомолекул.—М.: Медицина, 1985.—240 с.
45. Boner G., Mhashilkar A. M., Rodriguez-Ortega M., Sharon N. Lectin-mediated nonopsonic phagocytosis of type 1 *Escherichia coli* by human peritoneal macrophages of uremic patients treated by peritoneal dialysis // *J. Leuk. Biol.*—1989.—46.—P. 239—245.
46. Sandberg A. L., Mudrick L. L., Cisar J. O. et al. Stimulation of superoxide and lactoferrin release from polymorphonuclear leukocytes by the type 2 fimbrial lectin of *Actinomyces viscosus* T14V // *Infect. Immunity*.—1988.—56, N 1.—P. 267—269.
47. Mangán D. F., Novak M. J., Vora S. A. et al. Lectinlike interactions of *Eusobacterium nucleatum* with human neutrophils // *Ibid.*—1989.—57, N 11.—P. 3601—3611.
48. Hara N., Ichinose Y., Asoh H. et al. Superoxide anion-generating activity of polymorphonuclear leukocytes and monocytes in patients with lung cancer // *Cancer Res.*—1992.—69.—P. 1682—1687.
49. Kaplan S. S., Berkow R. L., Joyce R. A. et al. Neutrophil function in chronic neutrophils leukemia: defective respiratory burst in response to phorbol ester // *Acta Haematol.*—1992.—87.—P. 16—21.
50. Hara N., Ichinose Y., Motohiro A. et al. Influence of chemotherapeutic agents on superoxide production by human polymorphonuclear leukocytes // *Cancer*.—1990.—66.—P. 684—688.
51. Beuth J., Ko H. L., Gabius H.-J. et al. Behavior of lymphocyte subsets and expression of activation markers in response to immunotherapy with galactoside-specific lectin from mistletoe in breast cancer patients // *Clin. Invest.*—1992.—70.—P. 658—661.

Белорус. гос. ун-т, Минск

Получено 23.07.93