

УДК 577.27, 57.083.3

Антитела против необычных форм сиалилированных гликанов

П. С. Обухова^{1,2}, М. М. Зиганшина², Н. В. Шилова^{1,2}, А. А. Чинарев¹, Г. В. Пазынина¹, А. Ю. Нокель^{1,2}, А. В. Терентьева², Н. Р. Хасбиуллина², Г. Т. Сухих^{2,3}, А. А. Рагимов³, Э. Л. Салимов³, В. И. Бутвиловская⁴, С. М. Полякова^{1,5}, Д. Саха⁶, Н. В. Бовин^{1,7*}

¹Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, 117997 Россия

²Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, 117997 Россия

³Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет), Москва, 119991 Россия

⁴Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта РАН, Москва, 119991 Россия

⁵ООО «Синтавр», Москва, 117997 Россия

⁶Центр биомедицинских исследований, Институт последипломного медицинского образования имени Санджая Ганди, Лакхнау, 226014 Индия

⁷Центр технологических инноваций Kode, Оклендский технологический университет, Окленд, 1010 Новая Зеландия

*E-mail: professorbovin@yandex.ru

Поступила в редакцию 11.11.2021

Принята к печати 16.03.2022

DOI: 10.32607/actanaturae.11631

РЕФЕРАТ Ранее мы показали, что в крови здоровых доноров: (1) отсутствуют естественные антитела против гликопротеинов, содержащих Neu5Acα (N-ацетилнейраминую кислоту) – наиболее распространенную форму сиаловой кислоты человека, (2) в невысоких титрах присутствуют антитела, способные связывать олигосахариды, отличающиеся от типичных сиалилированных гликанов млекопитающих только тем, что природная α-гликозидная форма Neu5Ac заменена на βNeu5Ac. В данной работе мы более подробно исследовали антитела против βNeu5Ac, а также проверили предположение о Kdn (2-кето-3-дезоксид-*D*-глицеро-*D*-галактононулозоновой кислоте) как возможной причине появления этих антител в крови человека, принимая во внимание ожидаемую перекрестную реактивность с Kdn-гликанами, которые встречаются в бактериальных гликоконъюгатах как в α-, так и в β-формах. Мы наблюдали взаимодействие иммуноглобулинов периферической крови с сиалиллактозаминами (где «сиалил» представляет собой Kdn или нейраминую кислоту) только у очень ограниченного числа доноров, в то время как с моносахаридом Kdn взаимодействовали все образцы, независимо от конфигурации гликозидной связи остатка Kdn, причем уровень связывания некоторых из них был высоким. Это означает, что бактериальные Kdn-гликоконъюгаты вряд ли инициируют образование антител к βNeu5Ac-содержащим гликанам у человека. Чтобы найти причину появления этих антител, мы сосредоточились на неинфекционных патологиях, а также на беременности, при которой происходят значительные изменения в иммунной системе, что обусловлено развитием толерантности к аллоантигенам плода. В результате, в крови большинства (2/3) обследованных беременных женщин мы обнаружили иммуноглобулины класса M, направленные к Neu5Acβ2-3Galβ1-4GlcNAcβ; кроме того, из плаценты были элюированы иммуноглобулины класса G против Neu5Acβ2-3Galβ1-4GlcNAcβ и Neu5Acβ2-6Galβ1-4GlcNAcβ. Предполагается, что обнаруженные антитела выполняют функцию блокирования антигенов плода.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА сиалилированные гликаны, Kdn, естественные антитела человека, беременность, гликоцип.
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ ЗРП – задержка роста плода; ПЭ – преэклампсия; Gal – галактоза; GalNAc – N-ацетилгалактозамин; GlcNAc – N-ацетилглюкозамин; Kdn – 2-кето-3-дезоксид-*D*-глицеро-*D*-галактононулозоновая кислота; LN – N-ацетиллактозамин Galβ1-4GlcNAcβ; Neu5Ac – N-ацетилнейраминная кислота; Neu5Gc – N-гликолилнейраминная кислота; RFU – относительные единицы флуоресценции; SLN – сиалиллактозамин.

ВВЕДЕНИЕ

В клетках животных наиболее распространены две формы сиаловой кислоты – Neu5Ac и Neu5Gc. В составе гликопротеинов сиаловые кислоты обычно находятся в терминальных позициях сложных гликанов, где они $\alpha 2,3$ - или $\alpha 2,6$ -связаны с остатком Gal, или $\alpha 2,6$ - с остатком GalNAc. Сиалилированные гликаны участвуют в многочисленных процессах биологического распознавания [1], поэтому не удивительно, что антитела (т.е. аутоантитела) к Neu5Ac-гликанам не детектируются у здоровых людей [2]. Однако обнаружены антитела к некоторым не встречающимся в природе олигосахаридам, содержащим Neu5Ac в β -форме [2]. Для того чтобы объяснить их происхождение и предназначение, была выдвинута гипотеза о том, что наблюдаемые антитела против β Neu5Ac на самом деле нацелены на фрагменты полисахаридов/липополисахаридов бактерий *Streptomyces*, *Klebsiella* и др. (<http://csdb.glycoscience.ru/database/>), которые часто содержат структурно похожую сиаловую кислоту, а именно 2-кето-3-дезоксид-*D*-глицеро-*D*-галактононулозоновую кислоту (Kdn) в β -аномерной форме [2, 3]. В пользу этого свидетельствует присутствие в крови здоровых доноров антител к Kdn-гликанам, типичным для липополисахаридов [4]. Поэтому мы исследовали человеческие антитела с использованием «сиалового» гликоципа, содержащего моносахариды α - и β -Kdn [5], синтетические 6'- и 3'-сиалиллактозамины, где остаток сиаловой кислоты – это Kdn, а также соответствующие α - и β -Neu5Ac-производные (схема 1). Анализировали сыворотки крови условно здоровых доноров и женщин с физиологической и осложненной беременностью. В этой статье мы обсуждаем возможные причины появления антител, направленных против β -форм сиаловых кислот.

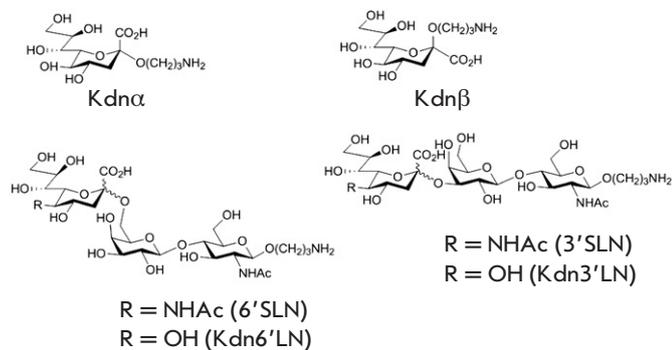


Схема 1. Структуры синтетических Kdn-гликанов, используемых в этой работе (в составе сиаловой версии гликоципа), и соответствующих трисахаридов, содержащих Neu5Ac

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Kdn-гликаны

Kdn-гликаны получены в виде индивидуальных аномеров (95% чистоты по данным ВЭЖХ и ЯМР) [5], конфигурация сиалозидной связи была подтверждена химическими сдвигами и константами спин-спинового взаимодействия, типичными для H-3 протонов Kdn, как описано в [5].

Доноры и пациенты

Исследованы биологические образцы от 104 индивидов: 16 доноров (8 женщин и 8 мужчин) из Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова (Москва, Россия) – группа 1; ретроспективная выборка, включающая 88 пациенток из Национального медицинского исследовательского центра акушерства, гинекологии и перинатологии (Москва, Россия), отобранных для участия в исследовании (табл. 1): 26 небеременных здоровых женщин, обратившихся в Центр для планирования беременности (группа 2); 30 пациенток с нормальной беременностью (группа 3); 32 пациентки с осложненной беременностью (группа 4), включающие 41% пациенток с преэклампсией (ПЭ), 25% с задержкой роста плода (ЗРП) и 34% с ПЭ в сочетании с ЗРП. Клинические характеристики групп представлены в табл. 2. Критерии включения в группу 1: возраст от 18 лет, отсутствие абсолютных противопоказаний для донорства, нормальные показатели общего анализа крови, биохимического анализа крови, коагулограммы и артериального давления. Критерии включения в группу 2: наличие беременности в анамнезе, наступившей в естественном цикле без использования вспомогательных репродуктивных технологий, нормальный менструальный цикл, отсутствие гормональных нарушений. Критерии включения в группу 3: отсутствие хронических гинекологических или соматических заболеваний, отсутствие воспалительных заболеваний в стадии обострения, неосложненное течение беременности, отсутствие медикаментозной терапии (за исключением витаминов или минеральных добавок), нормальная флора влагалища и нормальные результаты ультразвукового исследования и доплерографии во время текущей беременности. Критерии включения в группу 4: беременность, осложненная ПЭ и/или ЗРП. Все беременные пациентки имели спонтанную одноплодную беременность и родоразрешались путем кесарева сечения. Пациентки с HELLP-синдромом (атипичной формой тяжелой преэклампсии, которая характеризуется симптомами: H (hemolysis) – внутрисосудистый гемолиз, EL (elevated liver enzymes) – повышение печеночных

Таблица 1. Образцы и соответствующие версии гликоципов

Группа	Индивиды, число	Биоматериал	Образцы, число	Версия гликоципа	Источник биоматериалов	
1	Здоровые доноры	16	Сыворотки крови	16	#1 Сиаловый гликоцип (17 олигосахаридов)	Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский университет), Москва, 119991 Россия
2	Здоровые небеременные женщины (доноры)	26	Сыворотки крови	26	#3 (441 олигосахарид и 219 бактериальных полисахаридов)	
3	Беременные здоровые женщины	30	Сыворотки крови	26	#2 (381 олигосахарид)	
			Элюаты из плаценты	30		
4	Женщины с осложненной беременностью	32	Сыворотки крови	29	#2 (381 олигосахарид)	Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова МЗ РФ, Москва, 117997 Россия
			Элюаты из плаценты	32		

Таблица 2. Клиническая характеристика исследуемых групп

Признак	Группа 1 здоровые доноры	Группа 2 небеременные здоровые пациентки	Группа 3 пациентки с нормальной беременностью	Группа 4 пациентки с осложненной беременностью	p-критерий*
Возраст доноров и пациентов, лет**	33.0 (18–62)	30.0 (24–44)	32.5 (23–40)	34.5 (24–45)	0.2253
Систолическое артериальное давление, мм рт. ст.**	нормотензивные	118.0 (110–120)	110.0 (103–130)	150.0 (110–210)	<0.0001
Диастолическое артериальное давление, мм рт. ст.**		75.0 (70–82)	70.0 (60–80)	95.0 (70–115)	<0.0001
Гестационный возраст новорожденных при родах, недели***	-	-	39.2 (39.0–40.0)	34.8 (30.40–37.20)	<0.0001
Вес новорожденных, г**	-	-	3462.0 (2800–4180)	1997.0 (440–3300)	<0.0001
Оценка новорожденных по шкале Апгар**	-	-	8.0 (8)	7.0 (2–8)	<0.0001

* Сравнение групп 3 и 4.

** Данные представлены в виде медиан с минимальными и максимальными значениями, использован U-критерий Манна–Уитни.

*** Данные представлены в виде медиан с межквартильным диапазоном, использован U-критерий Манна–Уитни.

ферментов, LP (low platelet count) – снижение уровня тромбоцитов в крови) были исключены из исследования. Критериями исключения для всех групп были: тяжелые соматические заболевания, включая аутоиммунные, острые и хронические воспалительные заболевания в стадии обострения, гемотрансфузии или трансплантация органов в анамнезе, иммунотерапия, гормонотерапия и применение препаратов, влияющих на выработку и биодоступность антител, включая низкомолекулярные гепарины.

Все пациентки дали письменное информированное согласие на участие в исследовании. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом соответствующих медицинских организаций.

Диагностические критерии преэклампсии и задержки роста плода

Включение пациенток в группы осуществлялось в соответствии с критериями Международного общества по изучению артериальной гипертензии

во время беременности (ISSHP) [6]. Пренатальная диагностика ЗРП основывалась на критериях, описанных в [7]. Клинические характеристики исследуемых групп приведены в *табл. 2*.

Сбор образцов сывороток крови

В группе 1 образцы сывороток крови получены с помощью вакуумных пробирок для сбора крови VACUETTE® с красной крышкой с активатором образования сгустка и гелем для разделения (4 мл, $L \times \varnothing = 75 \times 13$ мм). В ретроспективной когорте образцы сывороток крови собраны в вакуумные пробирки для сбора крови S-Monovette® Serum, с белой крышкой, с активатором образования сгустка (4.9 мл, $L \times \varnothing = 90 \times 13$ мм). В течение 1 ч после забора крови образцы центрифугировали в течение 10 мин при 2000 *g* и хранили до анализа антител при -80°C .

Элюция антител из ткани плаценты

От пациенток из групп 3 и 4 во время кесарева сечения получали плаценту и элюировали плацента-ассоциированные антитела, как описано ранее [8], используя 10.0 г ткани плаценты (производили забор главным образом ворсинчатого хориона, базальной и хориальной пластинки). От каждой пациентки забирали одинаковое количество ткани плаценты. Образцы элюатов с ингибитором протеазы SIGMAFAST (S8820, Sigma-Aldrich, MO, США) в концентрации, рекомендованной производителем, хранили максимум 7 дней при 4°C до исследования. Элюированные антитела анализировали на гликочипах без разбавления, с детекцией только IgG (методика проведения анализа описана ниже).

Гликочип

Использовали гликочипы трех форматов (ООО «Семиотик», Россия): #1 – содержащие только сиалилированные гликаны (около 20 гликанов, далее эту версию называли сиаловой версией чипа), #2 – содержащие 381 олигосахарид, #3 – содержащие 441 олигосахарид и 219 бактериальных полисахаридов; в состав второй и третьей версии входили все сиалилированные гликаны первой. Чистота гликанов составляла 95–98% согласно данным ВЭЖХ и ЯМР. Печать гликанов осуществляли в соответствии с международными правилами, изложенными в [4]. Каждый лиганд на чипе был нанесен в 6–12 повторах; факт иммобилизации подтверждали с помощью стандартной плазмы крови человека, моноклональных и аффинно-выделенных поликлональных антител, а также с помощью растительных лектинов согласно протоколу контроля качества производителя.

Сыворотки крови и элюаты из плаценты анализировали с использованием гликочипа как описано в [4] и [8] соответственно. Соответствие образцов и форматов чипа приведено в *табл. 1*. Полученные результаты представляли в виде медианы относительных единиц флуоресценции (RFU) по повторам каждого гликана. Величину фона определяли как сигнал от поверхности, не содержащей лиганда. Пороговое значение рассчитывали как величину фона, умноженную на 10. Сигналы, превышающие пороговый уровень, считали значимыми. Частоту встречаемости данных антител рассчитывали как процент (%) числа индивидов, у которых была исследована сыворотка крови и медиана значений RFU у данного гликана превышала пороговое значение.

Статистический анализ

Статистический анализ проведен с использованием программного обеспечения MedCalc версии 16.4 (MedCalc, Бельгия). Для межгрупповых сравнений применен U-критерий Манна–Уитни. Различия считали значимыми при *p* менее 0.05.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

2-Кето-3-дезоксид-*D*-глицеро-*D*-галактононулоновая кислота, или Kdn, широко распространена в природе и обнаруживается в заметных количествах у бактерий и холоднокровных позвоночных. Остаток Kdn присоединен к углеводной цепи гликолипидов, гликопротеинов, бактериальных капсульных полисахаридов и липополисахаридов связями 2-3, 2-4, 2-6 или 2-8. Kdn обнаруживается во всех типах гликоконъюгатов в различных органах человека, но в крайне низких количествах (0.1–1% от общего содержания сиаловых кислот) [9]. Считается, что Kdn поступает в метаболическую систему человека с пищей, как и Neu5Gc [10]; несколько повышенная экспрессия Kdn обнаружена в эритроцитах плода по сравнению с клетками взрослого человека и в опухолевых тканях яичников [9]. Kdn широко распространена в организмах, с которыми контактирует человек и, безусловно, является моносахаридом, чужеродным для человека, даже его α -связанная форма.

При тестировании 16 образцов сывороток крови здоровых доноров (группа 1) с помощью сиаловой версии гликочипа мы не обнаружили IgG ни против Kdn α 2-3Gal β 1-4GlcNAc β (Kdn α 2-3'LN) и Kdn α 2-6Gal β 1-4GlcNAc β (Kdn α 2-6'LN), ни против соответствующих Kdn β -версий (*рис. 1*). Однако в этой небольшой выборке мы не выявили антител и против α -связанной формы Kdn в составе Kdn α 2-3Gal β 1-4GlcNAc β , хотя исследовательская группа A. Varki детектировала с помощью аналогичного

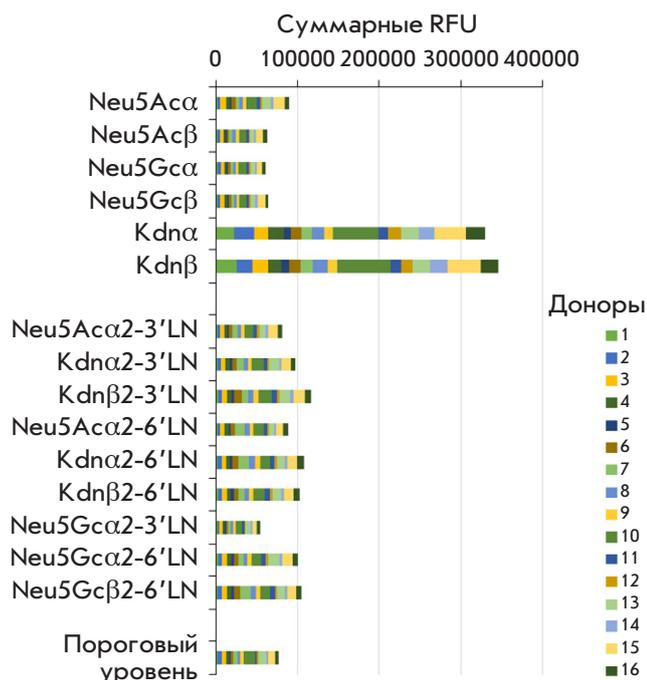


Рис. 1. Связывание человеческих сывороточных антител IgG класса (от 16 доноров) с сialiлированными гликанами. Результаты сialiовой версии гликоципа (формат #1) представлены в виде диаграммы накопления, т.е. значения RFU для всех донорских образцов суммировались

гликоципа антитела IgG против этого трисахарида у ограниченного числа доноров [10, 11]. Мы обратили внимание на это несоответствие и извлекли наши данные по условно здоровым женщинам, где использовалась полная версия гликоципа, в составе которого присутствовал трисахарид Kdn α 2-3Gal β 1-4GlcNAc β . Согласно этим данным, представленным на рис. 2, 15 из 26 женщин действительно имели антитела к этому трисахариду, но они относились

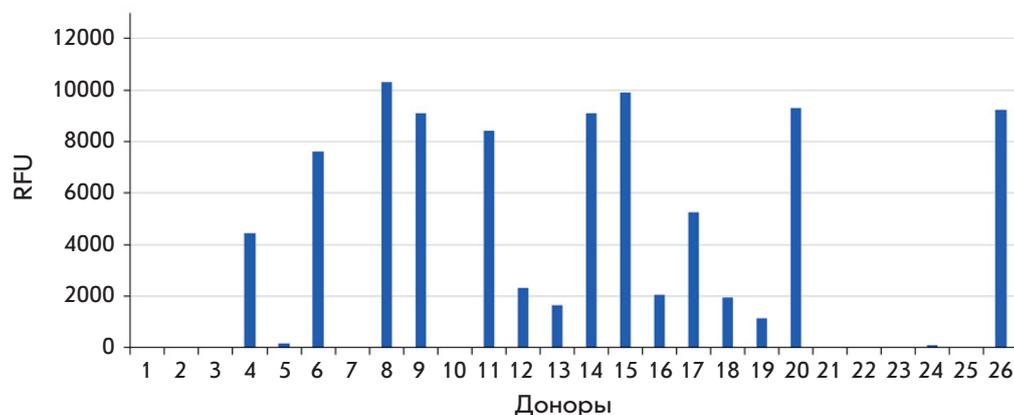


Рис. 2. В крови 15 из 26 здоровых доноров присутствуют антитела (IgM) к трисахариду Kdn α 2-3Gal β 1-4GlcNAc β . Представлены результаты гликоципа формата #3. Значения RFU порогового уровня вычтены

только к классу IgM, в то время как IgG-антитела не обнаружены. Информация об исследуемых образцах и соответствующих версиях гликоципов приведена в табл. 1.

Мы объясняем вышеуказанное расхождение между результатами тем, что антитела, способные связываться с Kdn-формой сialiиллактозамина, образуются в ответ на бактериальные инфекции (т.е. мы имеем дело с адаптивными иммуноглобулинами), которые появляются с разной частотой в разных небольших когортах в зависимости от региона, времени года и т.д.

В отличие от описанных выше данных по Kdn-трисахариду, у большинства здоровых доноров группы 1 наблюдался умеренный (или спорадически высокий) уровень антител IgG класса к моносахариду Kdn (рис. 3) и, что примечательно, почти одинаковый для α - и β -форм. Наблюдаемые сигналы от моносахарида Kdn у высокореагирующих доноров оказались близкими к значениям RFU для L-рамнозы, которую использовали здесь в качестве эталона высокого связывания, в то время как антитела к моносахариду Neu5Ac (как α -, так и β -формы) не обнаружены (рис. 1), что подтверждается ранее опубликованными данными [4]. Бактериальные полисахариды, к основной цепи которых Kdn присоединена в виде бокового заместителя, по-видимому, являются гликотопами для широко распознающих антител, которые связываются с моносахаридом Kdn.

Отсутствие у здоровых доноров антител к трисахаридам, в которых остаток Kdn связан β -гликозидной связью, указывает на то, что липополисахариды, содержащие Kdn, вряд ли можно рассматривать как стимул появления обнаруженных ранее [2] антител против гликанов, содержащих β -связанную Neu5Ac.

Однако анти-Kdn-антитела не были предметом данного исследования. Нам было важно пред-

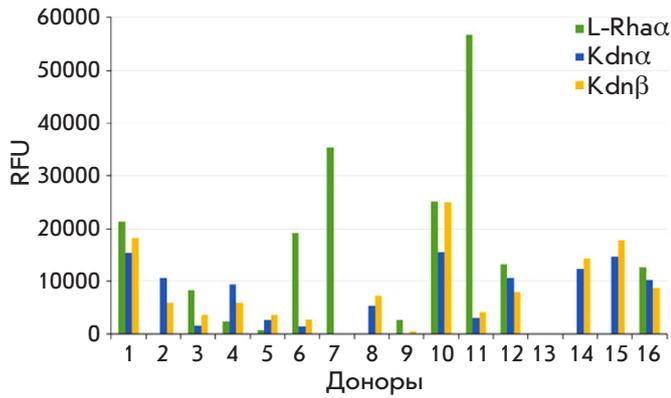


Рис. 3. Связывание человеческих сывороточных антител IgG класса (группа 1, 16 доноров) с моносахаридом Kdn в его α- и β-спейсерированных формах, приведено сравнение с αL-рамнозой (L-Rhaα). Показаны результаты силовой версии гликочипа (формат #1). Значения RFU порогового уровня вычтены

ложить обоснованное объяснение происхождения и биологического значения ранее обнаруженных антител к Neu5Acβ-содержащим гликанам [2]. Как отмечалось выше, предположение о липополисахаридах как о триггере и мишени этих антител противоречит представленным экспериментальным данным, а именно отсутствию их связывания с Kdn-лактозаминами у подавляющего числа доноров и неспособности различать α- и β-формы моносахарида Kdn. Поэтому объяснение происхождения и функции антител к гликанам, содержащим βNeu5Ac, следует искать в другом направлении; первая такая попытка описана ниже.

Мы исследовали частоту встречаемости антител против Neu5Acβ2-3Galβ1-4GlcNAcβ и Neu5Acβ2-6Galβ1-4GlcNAcβ (т.е., β-форм 3'- и 6'-сиалиллактозаминов) в крови женщин с нормальной и осложненной развитием ПЭ и ЗРП беременностью. ПЭ и ЗРП относятся к группе больших акушерских синдромов, связанных с дефектами плацентации, и характеризуются развитием гипериммунного ответа на фетальные алло-антигены [12, 13]. Кроме антител крови, изучены элюаты из плацент беременных групп 3 и 4 (табл. 3, рис. 4). Частота встречаемости антител оказалась удивительно высокой (табл. 3, рис. 4), особенно в случае антител к 2-3-изомеру Neu5Acβ2-3Galβ1-4GlcNAcβ. Как уже упоминалось [2, 14], антитела к соответствующим α-сиалилированным гликанам практически отсутствовали у здоровых доноров. Их редко выявляли у женщин с нормальной беременностью, но обнаруживали при осложнениях беременности, что, по-видимому, связано с развитием иммунного ответа [15] и нарушением толерантности к плоду. Наши данные подтверди-

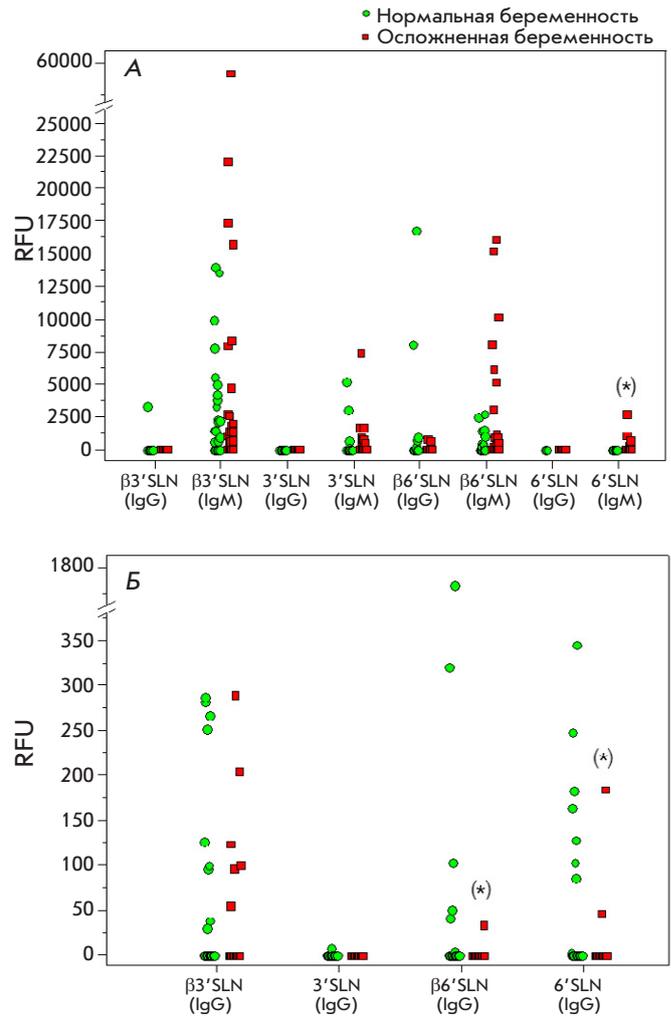


Рис. 4. Связывание сывороточных антител IgG и IgM классов (А) и элюированных плацента-ассоциированных антител IgG класса (Б) с трисахаридами 3'SLN и 6'SLN (сравнение Neu5Acβ- и Neu5Acα-форм). Представлены данные гликочипа формата #2 для 30 беременных здоровых женщин и 32 женщин с осложнениями беременности (ПЭ и ЗРП). Значения RFU порогового уровня рассчитаны для каждой группы отдельно (для сывороток и элюатов, для IgG и IgM) как описано в разделе «Экспериментальная часть». (*) – значимые межгрупповые различия (U-критерий, $p < 0.05$)

ли это наблюдение. Примечательно, что антитела к βNeu5Ac-содержащим гликанам также обнаруживали довольно часто (в 20–30% случаев) в элюатах из плацент (табл. 3). Это были антитела, представленные только иммуноглобулинами класса G, что неудивительно, так как материнские иммуноглобулины класса M не проходят плацентарный барьер; в то же время антитела IgM класса к Neu5Acβ2-3Galβ1-4GlcNAcβ обнаруживались с высокой частотой

Таблица 3. Частота встречаемости соответствующих антител, узнающих сиалилированные гликаны. Этот параметр равен доли лиц (в %), у которых RFU был выше порогового значения

Сиалилированные гликаны	Доля пациенток с нормальной беременностью (кровь)		Доля пациенток с осложненной беременностью (кровь)		Доля пациенток с нормальной беременностью (плацента)	Доля пациенток с осложненной беременностью (плацента)
	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgG
Структура						
Neu5Ac β 2-3Gal β 1-4GlcNAc β (β 3'SLN)	4	65	0	69	30	19
Neu5Ac α 2-3Gal β 1-4GlcNAc β (β 3'SLN)	0	15	0	35	0	0
Neu5Ac β 2-6Gal β 1-4GlcNAc β (β 6'SLN)	19	31	7	45	20	3
Neu5Ac α 2-6Gal β 1-4GlcNAc β (β 6'SLN)	0	0	0	17	27	6

той в материнской крови, тогда как IgG соответствующей специфичности в их крови отсутствовали. Поскольку в плаценте представлены фетальные антигены отцовского происхождения [16], мы предполагаем, что эти иммуноглобулины G, расположенные резидентно в плаценте и обнаруживаемые в элюатах, выполняют защитную роль от надзорной функции материнской иммунной системы, связываясь с алло-антигенами в плаценте; о чем свидетельствует их более низкая частота встречаемости у пациенток с осложненной беременностью. По-видимому, при ПЭ и ЗРП нарушается механизм маскировки алло-антигенов антителами с блокирующими свойствами. Это предположение согласуется с концепцией формирования во время беременности защитных блокирующих антител, маскирующих фетальные алло-антигены в плаценте от атаки иммунной системы матери [17, 18]. J. Gu и соавт. [19] показали, что защитные антитела класса IgG могут продуцироваться в плаценте, и они регулируют локальные иммунные реакции. Вторым (и более вероятным, на наш взгляд) объяснением того факта, что антитела обнаружены в ткани плаценты, но отсутствуют в периферической крови, является полное или почти полное их депонирование на плацентарных антигенах, в результате чего их содержание в крови становится ниже порога чувствительности метода обнаружения. Мы считаем, что β -сиалилированные гликаны являются не истинными эпитопами наблюдаемых антител, а мимотопами белковых антигенов, хотя прямых доказательств этому пока нет; это предположение в дальнейшем предполагает поиск истинных эпитопов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Профилирование антител человека с использованием обширного набора гликанов выявляет ряд иммуноглобулинов с неожиданной специфичностью, который включает антитела к β -Neu5Ac-содержащим гликанам. Целью данного исследования был поиск причин появления и особенностей функционирования

этих антител. Изначально мы предположили, что идентифицированные антитела направлены к Kdn-содержащим гликоконъюгатам бактериального происхождения, которые встречаются как в α -, так и в β -связанных формах. Однако эта гипотеза не подтвердилась данными, представленными здесь, поэтому истинные антигены и физиологическую роль этих антител еще предстоит определить. В то же время мы обнаружили антитела этой необычной специфичности в крови (IgM) и ткани плаценты (IgG) при беременности, что дает основание для дальнейшего изучения роли обнаруженных антител в репродуктивной иммунологии.

БЛАГОДАРНОСТИ

Часть экспериментов проведена с использованием оборудования, предоставленного Центром коллективного пользования Института биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова (ИБХ) при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (соглашение № RFMEFI 621117X0018). Авторы выражают благодарность лаборатории сбора и хранения биологического материала (Биобанк) Национального медицинского исследовательского центра акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова за предоставление образцов крови. ●

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ (проекты № 18-53-45008 [Н.В. Шилова, А.А. Чинарев, Г.В. Пазынина, Н.В. Бовин] и № 19-015-00102 [М.М. Зиганшина, Н.Р. Хасбиуллина]) и Министерства науки и технологий правительства Индии (проект № INT/RUS/RFBFR/P-321 [Д. Саха]) в рамках сотрудничества DST и РФФИ.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Varki A. // *Nature*. 2007. V. 446. № 7139. P. 1023–1029. <https://doi.org/10.1038/nature05816>.
2. Shilova N., Huflejt M.E., Vuskovic M., Obukhova P., Navakouski M., Khasbiullina N., Pazynina G., Galanina O., Bazhenov A., Bovin N. // *Top. Curr. Chem.* 2015. V. 366. P. 169–181.
3. Deng L., Chen X., Varki A. // *Biopolymers*. 2013. V. 99. № 10. P. 650–665. <https://doi.org/10.1002/bip.22314>.
4. Obukhova P., Tsygankova S., Chinarev A., Shilova N., Nokel A., Kosma P., Bovin N. // *Glycobiology*. 2020. V. 30. № 6. P. 395–406. <https://doi.org/10.1093/glycob/cwz107>.
5. Chinarev A.A., Sablina M.A., Kunetskiy R.A., Shilova N.V., Polyakova S.V., Paramonov A.S., Saha J., Bovin N.V. // *Mendeleev Commun.* 2021. V. 31. № 4. P. 490–492.
6. Brown M.A., Magee L.A., Kenny L.C., Karumanchi S.A., McCarthy F.P., Saito S., Hall D.R., Warren C.E., Adoyi G., Ishaku S. // *Pregn. Hypert.* 2018. V. 13. P. 291–310. <https://doi.org/10.1016/j.preghy.2018.05.004>.
7. Ziganshina M.M., Kulikova G.V., Fayzullina N.M. Yarotskaya E.L., Shchegolev A.I., Le Pendu J., Breiman A., Shilova N.V., Khasbiullina N.R., Bovin N.V., et al. // *Placenta*. 2020. V. 90. P. 98–102. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2019.12.005>.
8. Ignat'eva N.V., Ziganshina M.M., Shilova N.V., Khasbiullina N.R., Bovin N.V., Tyutyunnik V.L., Sukhikh G.T. // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2019. V. 167. № 1. P. 120–122. <https://doi.org/10.1007/s10517-019-04474-4>.
9. Inoue S., Kitajima K. // *Glycoconj. J.* 2006. V. 23. № 5–6. P. 277–290. <https://doi.org/10.1007/s10719-006-6484-y>.
10. Kawanishi K., Saha S., Diaz S., Vaill M., Sasmal A., Siddiqui S.S., Choudhury B., Sharma K., Chen X., Schoenhofen I.C., et al. // *J. Clin. Invest.* 2021. V. 131. № 5. P. e137681. <https://doi.org/10.1172/JCI137681>.
11. Saha S., Coady A., Sasmal A., Kawanishi K., Choudhury B., Yu H., Sorensen R.U., Inostroza J., Schoenhofen I.C., Chen X., et al. // *mBio*. 2021. V. 12. № 1. P. e03226–20. <https://doi.org/10.1128/mBio.03226-20>.
12. Brosens I., Pijnenborg R., Vercruyssen L., Romero R. // *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2011. V. 4. № 3. P. 193–201. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2010.08.009>.
13. Wilczynski J.R. // *Hum. Immunol.* 2006. V. 67. № 7. P. 492–511. <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2006.04.007>.
14. Huflejt M.E., Vuskovic M., Vasiliu D., Xu H., Obukhova P., Shilova N., Tuzikov A., Galanina O., Arun B., Lu K., et al. // *Mol. Immunol.* 2009. V. 46. № 15. P. 3037–3049. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2009.06.010>.
15. Yang X., Zhang C., Chen G., Sun C., Li J. // *J. Obstet. Gynaecol. Res.* 2019. V. 45. № 1. P. 39–46. <https://doi.org/10.1111/jog.13839>.
16. Deshmukh H., Way S.S. // *Annu. Rev. Pathol.* 2019. V. 14. P. 185–210. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathmechdis-012418-012743>.
17. Barrientos G., Fuchs D., Schrocksnadel K., Ruecke M., Garcia M.G., Klapp B.F., Raghupathy R., Miranda S., Arck P.C., Blois S.M. // *J. Reprod. Immunol.* 2009. V. 79. № 2. P. 201–210. <https://doi.org/10.1016/j.jri.2008.11.002>.
18. Malan Borel I., Gentile T., Angelucci J., Pivadori J., Guala M.C., Binaghi R.A., Margni R.A. // *J. Reprod. Immunol.* 1991. V. 20. № 2. P. 129–240. [https://doi.org/10.1016/0165-0378\(91\)90029-p](https://doi.org/10.1016/0165-0378(91)90029-p).
19. Gu J., Lei Y., Huang Y., Zhao Y., Li J., Huang T., Zhang J., Wang J., Deng X., Chen Z., et al. // *Hum. Reprod.* 2015. V. 30. № 2. P. 380–391. <https://doi.org/10.1093/humrep/deu323>.