

IWONA KĄTNIK-PRASTOWSKA

Struktura i biologia kwasów sjałowych

Structure and Biology of Sialic Acids

Katedra Chemii i Immunochemii AM we Wrocławiu

Streszczenie

Do rodziny kwasów sjałowych zalicza się pochodne kwasu neuraminowego, monosacharydu o 9 atomach węgla, stanowiącego składnik wielu glikokoniugatów (glikoprotein i glikolipidów), szczególnie u wyższych zwierząt. Występowanie wariantów kwasu sjałowego zależy od gatunku oraz typu komórki i jej stadium rozwojowego. Kwas sjałowy zajmuje w glikanach glikokoniugatów pozycję końcową i nadaje ustrojowym cząsteczkom ładunek ujemny. Ta reprezentatywna pozycja kwasu sjałowego w strukturach złożonych predysponuje ją do uczestnictwa w oddziaływaniach komórkowych i międzycząsteczkowych. W pracy omówiono modyfikacje kwasu N-acetylo-5-neuraminowego, określono wpływ kwasu sjałowego na właściwości fizykochemiczne i immunologiczne oraz na katabolizm glikoprotein. Przedstawiono także współczesny stan wiedzy o biologicznej funkcji kwasów sjałowych, ich modulującą rolę w komórkowych i międzycząsteczkowych procesach biologicznego rozpoznania. Dyskutowano znaczenie ekspresji glikoform $\alpha 2,3$, $\alpha 2,6$ lub $\alpha 2,8$ sjałoglikoprotein w fizjopatologii organizmu ludzkiego (Adv. Clin. Exp. Med. 2003, 12, 5, 653–663).

Słowa kluczowe: kwasy sjałowe, kwas N-acetylo-5-neuraminowy, kwas N-glikolilo-5-neuraminowy, biologiczne rozpoznanie, sjałoglikoformy.

Abstract

To the sialic acid family belongs derivatives of neuraminic acid (Neu), monosaccharide with nine carbons, being component of most glycoconjugates (glycoproteins and glycolipids), particularly in higher animals. The distribution of sialic acid variants is species specific and depends on the cell type and its development stage. Sialic acid is exposed as terminal component of sialylated glycoconjugates and contributes significantly to the overall negative charge of the cell surface and glycoproteins. This representative outer position of sialic acid in glycans and complex molecules predisposes it to the participation in cellular and molecular interactions. In the present review some modifications of N-acetyl-5-neuraminic acid are described, and the role of sialic acid in physicochemical and immunological properties as well as in glycoprotein catabolism is discussed. This article also summarizes knowledge about the modulatory effect of sialic acid on biological recognition events between cells as well as cell-molecule interactions. Finally, some information about the significance of $\alpha 2,3$ or $\alpha 2,6$ and $\alpha 2,8$ sialoglycoprotein glycoform expression in physiopathological conditions of human organism are given (Adv. Clin. Exp. Med. 2003, 12, 5, 653–663).

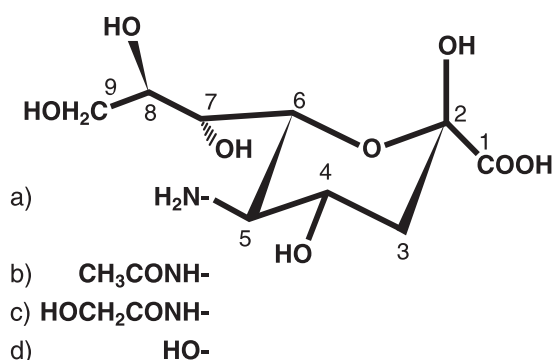
Key words: sialic acids, N-acetyl-5-neuraminic acid, N-glycolylo-5-neuraminic acid, biological recognition, sialoglycoforms.

Występowanie i struktury

Kwasy sjałowe tworzą rodzinę monocukrów, pochodnych kwasu neuraminowego – Neu (kwas 5-amino-3,5-dideoksy-2-nonulosonowy; ryc. 1a) o 9 atomach węgla z wolną grupą karboksylową

przy anomerycznym węglu C2 i zjonizowaną w ustroju. Rodzinę tę stanowi ponad 40 naturalnie występujących pochodnych, głównie w postaci związanej z glikoproteinami i glikolipidami (glikokoniugatami) [1].

Cząsteczki kwasów sjałowych występują prawie we wszystkich żywych organizmach. Różne formy molekularne wykryto w wirusach, u nie-



Ryc. 1. Struktury chemiczne kwasu neuraminowego i jego głównych pochodnych: a – kwas neuraminowy, b – kwas N-acetylneuraminowy, Neu5Ac, c – kwas N-glikoliloneuraminowy, Neu5Gc, d – kwas 3-deoksy-2-nonulosonowy (kwas 3-deoksy-D-glicero-D-galakto-nonulosonowy) – Kdn

Fig. 1. Structures of neuraminic acid and its main derivatives: a – neuraminic acid, b – N-acetylneuraminic, Neu5Ac, c – N-glycolylneuraminic acid, Neu5Gc, d – 3-deoxy-2-nonulosonic acid (3-deoxy-D-glicero-D-galacto-nononic acid) – Kdn

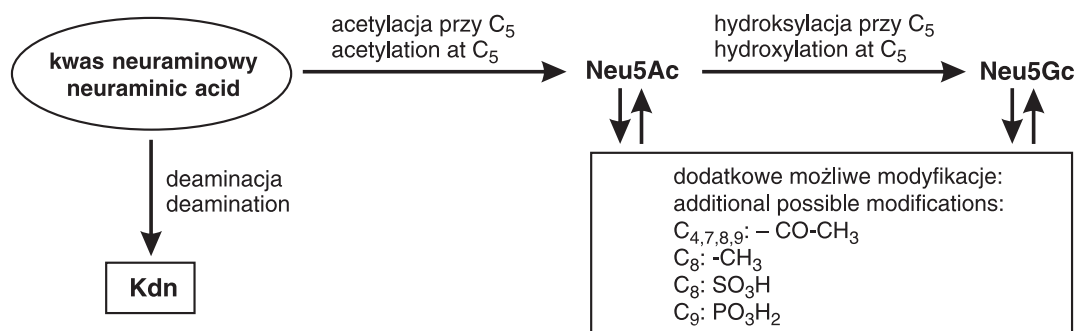
których bakterii, pierwotniaków i najliczniej u zwierząt wyższych. W postaci wolnej kwas sjałowy występuje w śladowych ilościach [2, 3], a większość sjałoglikokoniuatów jest wbudowanych do błon komórkowych oraz stanowią rozpuszczalne glikoproteiny płynów ustrojowych [1–4]. Nadmierne nagromadzenie wolnego kwasu sjałowego w tkankach obserwuje się w chorobie Salla stanowiącej dziedziczny defekt białka będącego transporterem kwasu sjałowego [5].

Kwas sjałowy występuje w strukturach oligosacharydowych w pozycji końcowej, nieredukują-

cej, złożonych glikoprotein (w tym mucyn) oraz glikolipidów, głównie gangliozydów [6, 7]. Ze względu na zawartość kwasu sjałowego i jego rozmieszczenie w glikanach dwu-, trój- oraz cztero-antenowych N-glikoprotein wyróżnia się glikofor-my asjał-, monosjał-, disjał- i wysoce usjałow-ane. Większość glikoprotein surowiczych jest wysoce usjałowana; wyjątek stanowi immunoglo-bulina G, zawierająca tylko 25% cukrów w pełni usjałowanych [8].

Fundamentalnymi cząsteczkami zaliczanymi do rodziny kwasów sjałowych są pochodne N-ace-tylowe albo N-glikolilowe kwasu neuraminowe-go (ryc. 1b i c; ryc. 2). Pochodna glikolilowa (Neu5Gc) różni się od Neu5Ac dodatkową grupą hydroksylową w grupie N-acetylowej [9]. Zwy-czajowo nazwa „kwas sjałowy” dotyczy wszyst-kich pochodnych kwasu neuraminowego, chociaż kwas N-acetylo-5-neuraminowy jest formą najczę-ściej występującą w organizmach. Często stoso-wanymi skrótami kwasu N-acetylo-5-neuramino-wego są: Neu5Ac, SA (sialic acid) oraz dawniej NANA. Listę różnych związków należących do rodziny kwasów sjałowych przedstawili w pracach przeglądowych Schauer et al. [1], Kelm i Schauer [6] oraz Varki [10]. Na rycinie 2 przedstawiono najczęściej występujące pochodne kwasu neura-minowego. Specyficzne systemy enzymatyczne uczestniczą w regulacji wytwarzania odpowiednio modyfikowanych form kwasów sjałowych, szcze-gólnie w takich procesach, jak organogeneza i me-tastaza [11].

Kwas N-acetylo-5-neuraminowy (Neu5Ac) jest najbardziej znanym przedstawicielem rodziny kwasów sjałowych. W strukturach oligosachary-dowych N-glikoprotein kwas sjałowy wiąże się



Ryc. 2. Modyfikacje kwasu neuraminowego. Kwas N-acetylo-5-neuraminowy (Neu5Ac) jest najczęściej występującą formą kwasu neuraminowego i stanowi prekursor do syntezy innych pochodnych. Przyłączenie grupy –OH przy N-acetylowej grupie Neu5Ac powoduje powstanie kwasu glikoliloneuraminowego (Neu5AcGc). Zarówno Neu5Ac, jak i Neu5Gc mogą być dalej modyfikowane przez O-acetylację, metylację, estryfikację nieorganicznymi kwasami. Odszczepienie grupy aminowej przy C5 kwasu neuraminowego powoduje powstanie Kdn

Fig. 2. Modifications of neuraminic acid. N-acetyl-5-neuraminic acid (Neu5Ac) is a main form of neuraminic acid and the most frequently occurring. It is also a precursor for biosynthesis of neuraminic acid derivatives. Adding –OH group at N-acetyl group of Neu5Ac forms N-glycolylneuraminic acid (Neu5Gc). Both Neu5Ac and Neu5Gc could be modified by O-acetylation, O-methylation, or by ester forming with inorganic acids. Kdn is formed by removing of C5 amino group from neuraminic acid

z galaktozą, a w O-glikoproteinach z N-acetylogalaktozoaminą za pomocą wiązań glikozydowych typu $\alpha 2,3$ i/lub $\alpha 2,6$. Kwasy sjałowe mogą tworzyć liniowe polimery, złożone nawet z 200 reszt Neu5Ac połączonych wiązaniem glikozydowym $\alpha 2,8$. Polisjałowe glikany wykryto w białkach mucynowych pochodzenia nowotworowego [12] oraz na komórkowych cząsteczkach adhezyjnych (NCAM) w układzie nerwowym [13].

Oprócz N-5-acetylowych pochodnych kwasu neuraminowego są rozpowszechnione O-acetylowane pochodne przy jednej albo kilku funkcjonalnych grupach hydroksylowych węgli C7-C9 [1, 14, 15], w osoczu O-acetylowane pochodne wykryto dotychczas tylko podczas rozwoju płodu oraz u chorych na czerniaka [3]. Acetylacja przy C4 i metylacja, najczęściej przy C8, występują sporadycznie [6]. Spiro i Spiro [16] opisali pochodne kwasu neuraminowego, w których grupy –OH przy węglach C9 lub C8 są zestryfikowane kwasami nieorganicznymi, fosforowym lub siarkowym. Deaminacja kwasu neuraminowego przy C5 prowadzi do powstania nowego związku z grupą hydroksylową przy C5, nazywanego kwasem ketodeoksynonulosonowym (Kdn: kwas 3-deoksy-D-glicero-D-galaktononulosonowy) (ryc. 1d; ryc. 2), zidentyfikowanego jako składnik gangliozydów [15]. Nietypowe modyfikacje kwasu N-, O-diacetyloneuraminowego wykryto u *Crithidia fasciculata* (*Flagellate*). Pochodne kwasu neuraminowego 2,3-didehydro- oraz 2,7 anhydro-, niemające wolnej grupy hydroksylowej zdolnej do tworzenia wiązania glikozydowego, wykryto w płynach biologicznych i wydzielinach jako wolne, niezwiązane z innymi strukturami [15]. Należy dodać, że każde podstawienie jednej grupy funkcyjnej kwasu sjałowego daje możliwe dwie nowe struktury cukrowe, a każda z wymienionych pochodnych może występować jako odmienna glikoforma glikokoniugatów, różniąca się dodatkowo typem wiązania anomerycznego ($\alpha 2,3$; $\alpha 2,6$; $\alpha 2,8$), łączącego kwas sjałowy do następnego sacharydu w sekwencji oligosacharydowej.

Olbrzymia różnorodność monosacharydów występujących w odmiennych kombinacjach stereochemicznych pozwoliła na wysunięcie hipotezy uwzględniającej ewentualną rolę cukrów jako cząsteczek kodujących informacje biologiczne w procesach rozpoznania biologicznego [17]. Wiele doniesień wskazuje, że ekspresja odpowiednich modyfikacji kwasu sjałowego zależy ściśle od gatunku, tkanki i rozwoju organizmu, sugerując znaczącą biologiczną funkcję tych związków [1, 10, 18]. Wymienione modyfikacje kwasu sjałowego wbudowanego w glikokoniugaty różnią się dostępnością dla hydrolitycznego rozpadu przez swoiste sjałidazy. Na przykład pochodne zawiera-

jące grupy O-acetylowe lub O-metylowe są uwalniane ze struktur złożonych wolniej przez większość sjałidaz. Zablockowanie grupy hydroksylowej przy C4 ochrania przed enzymatycznym rozszczepieniem [1].

Biologiczna funkcja kwasów sjałowych

Wpływ na właściwości fizykochemiczne i biologiczne makrocząsteczek

Kwas sjałowy wywiera znaczący wpływ na konformację, rozpuszczalność, lepkość i ładunek glikoprotein. Uczestniczy w stabilizacji strukturalnych właściwości makrocząsteczek, w skład których wchodzi. Usunięcie całej części cukrowej z glikoprotein *in vitro* prowadzi do zmian strukturalnych i fizykochemicznych apoproteiny. Usjałowane glikokoniugaty osłaniają przed działaniem enzymów proteolitycznych część polipeptydową, a szczególnie miejsca o znaczeniu funkcjonalnym. Ujemny ładunek, jaki niosą kwasy sjałowe związane z glikokoniugatami zawartymi w płynach ustrojowych i związanymi na komórkach, powodują, że glikokaliks wiąże wodę i jony o przeciwnym ładunku. Szczególnie wysoce usjałowane mucyny dzięki kwasom sjałowym są związkami silnie uwodnionymi [1]. Między komórkami a otaczającym zewnątrzkomórkowym matriks dochodzi zarówno do przyciągania ujemnie naładowanych kwasów sjałowych i cząsteczek o przeciwnym ładunku, jak i do odpychania cząstek o tym samym ładunku. Ujemny ładunek usjałowanych erytrocytów zapobiega adhezji krwinek czerwonych [19].

Usjałowane glikany osłaniają antygenowe i funkcjonalne miejsca rozlokowane w białku pod rozgałęzioną częścią cukrową. Deglikozylacja, w tym desjałizacja, zachodząca *in vivo* jest posttranslacyjną remodyfikacją glikoprotein. Wysoce swoiste glikanazy (wymagania dotyczą reszty cukrowej, typu wiązania glikozydowego, konfiguracji), skracając struktury oligosacharydowe lub je całkowicie usuwając, przyczyniają się do strukturalnego polimorfizmu glikoprotein i wykazują potencjalną modulującą rolę w interakcjach receptor–ligand.

Reszty kwasu sjałowego mogą nie tylko maskować miejsca antygenowe cząsteczek, w skład których wchodzi, ale również stanowić ich istotny składnik. Usunięcie kwasu sjałowego z substancji układu grupowego krwi MN prowadzi do utraty ich antygenowości [20]. Dołączenie kwasu sjałowego

wego do antygenów cukrowych T i Tn, obecnych na komórkach nowotworowych, znosi ich immunoreaktywność [21]. Usjalowane oligosacharydy rozmieszczone na powierzchni bakterii mogą osłaniać drobnoustroje przed odpowiedzią odpornościową gospodarza przez blokowanie syntezy przeciwciał [15].

Glikozylacja i stopień usjalowania rekombinowanych glikoprotein o działaniu farmakologicznym są istotne dla stosowania ich w leczeniu, np. odsjalowana erytropoetyna traci zdolność stymulowania syntezy krwinek czerwonych *in vivo* [15].

Kwas sjałowy ochronia glikoproteiny przed katabolizmem

Rozmieszczony na końcu oligosacharydowych struktur glikoprotein kwas sjałowy osłania ułożone pod nim reszty galaktozy lub N-acetylogalaktozaminy. Degradacja usjalowanych glikoprotein rozpoczyna się z katalitycznym udziałem sjałidaz (neuraminidaz), enzymów zewnątrz- i wewnątrzkomórkowych.

Neuraminidazy są superrodziną należącą do klasy hydrolaz, są wszechobecne i występują u wyższych eukariota, wirusów, bakterii i protozoa. Poszczególne unikatowe sjałidazy charakteryzują się ściśle określonymi wymaganiami konfiguracyjnymi i konformacyjnymi. 4-O-acetylowane pochodne kwasu sjałowego nie są hydrolizowane przez większość sjałidaz. Prawdopodobnie nietypowe modyfikacje kwasu sjałowego w pozycji C4 są przeszkodą steryczną dla sjałidaz hydrolizujących Neu5Ac, obecny na większości fizjologicznych glikoprotein.

Usjalowane i pozbawione kwasu sjałowego glikoproteiny różnią się okresem półtrwania w organizmie. Odsjalowane glikoproteiny z odsłoniętą resztą galaktozy lub N-acetylogalaktozaminy, w przeciwieństwie do usjalowanych, są szybko usuwane z krążenia przez swoje receptory dla asjałoglikoprotein. Receptory dla asjałoglikoprotein znaleziono na hepatocytach, komórkach Kupffera, otrzewnowych makrofagach i plemnikach. Receptory różnią się między sobą nie tylko budową, ale również funkcją. Wątrobowy receptor pośredniczy w wiązaniu i endocytozie odsjalowanych glikopeptydów, a receptory na makrofagach umożliwiają wchłanianie większych cząstek i komórek (np. limfocytów, erytrocytów) pozbawionych kwasu sjałowego [6, 22].

Kwasy sjałowe jako ligandy uczestniczące w procesach rozpoznania biologicznego

Ze względu na końcowe umiejscowienie w sekwencji oligosacharydowej glikokonjugatów kwas sjałowy są komponentą-determinantą zdolną do rozpoznania przez inne komórki, cząsteczki lub/i ligandy. Z tego powodu kwasy sjałowe są wciągane w istotne dla funkcji komórkowych procesy biologicznego rozpoznania; najważniejsze są omówione w dalszej części artykułu. Należy pamiętać, że funkcja biologiczna glikokomponent ściśle zależy od biologicznego kontekstu, w którym komórka aktualnie się znajduje.

Kwasy sjałowe w procesach zakażenia

Patogenne i niepatogenne drobnoustroje często zasiedlają komórki organizmu gospodarza dzięki rozpoznaniu kwasu sjałowego glikokonjugatów komórek gospodarza przez rozmieszczone na powierzchni drobnoustroju receptory lektynowe. Interakcja ta jest wstępnym etapem adsorpcji czynnika patogennego na błonie komórkowej gospodarza [23, 24]. Interakcja jest swoista i wymaga odpowiedniej konfiguracji kwasu sjałowego. Oto kilka przykładów. Receptory wirusa grypy typu A i B rozpoznają kwas sjałowy przyłączony do glikanów komórek większości zwierząt wiązaniem $\alpha 2,3$, a do komórek ludzkich i świńskich $\alpha 2,6$. Wirus grypy typu C atakuje komórki bogate w kwas sjałowy dodatkowo acetylowany przy węglu C9. Wirus Sendai (*Paramyxoviruses*) rozpoznaje kwas sjałowy $\alpha 2,3$ na glikoproteinach i glikolipidach. Receptorem dla *Cardiovirus* (*encephalomyelitis virus*) jest kwas N-acetylo-5-neuraminowy albo N-glikolilo-5-neuraminowy, nie stwierdzono zależności od typu wiązania anomerycznego [6].

Wstępem do kolonizacji tkanek gospodarza przez bakterie jest ich tropizm do tkanek gospodarza. U podstaw adhezji bakterii leżą m.in. oddziaływania receptor bakteryjny–ligand sjałoglikoproteinowy. Zredukowanie stopnia usjalowania komórek epitelialnych układu oddechowego predysponuje do zwiększonej zachorowalności na zakażenie bakteryjne [25]. *Escherichia coli* występują w przewodzie pokarmowym ssaków i nie są patogenne dla człowieka, aczkolwiek szczepy wyposażone w fimbrie mogą być przyczyną zakażenia. Szczep *Escherichia coli*, bogaty w S-fimbrie, jest przyczyną zapalenia mózgu u noworodków. Szczep ten wykazuje swoistość wobec erytrocy-

tów bogatych w sekwencje zakończone kwasem sjałowym Neu5Ac α 2,3Gal β 1,3GalNAc. Inny szczep K99 wykazuje powinowactwo do Neu5Gc. Zakażenia tym szczepem u ludzi są mało prawdopodobne, ponieważ ludzkie komórki nie mają tej modyfikacji kwasu sjałowego. Patogenna bakteria *Streptococcus suis* wywołuje zapalenie mózgu u prosiąt, ale nie u ludzi. Okazało się, że do adhezji tych bakterii dochodzi dzięki interakcji ze strukturami krwinkowymi zawierającymi Neu5Ac α 2,3 przyłączonymi do polilaktozoaminowych łańcuchów. Istnieją przesłanki pozwalające sądzić, że prosięta karmione mlekiem matki, które jest bogate w złożone oligosacharydy, wykazują zmniejszoną zdolność do zachorowania. Usjałowane cukry mleka, a szczególnie siary są naturalnymi ligandami dla bakterii, hamując możliwość oddziaływania z glikokoniugatami błonowymi tkanek gospodarza. Również *Helicobacter pylori*, główny etiologiczny czynnik aktywnego chronicznego zapalenia żołądka, kolonizuje tkanki gospodarza dzięki przyleganiu bakterii do glikoprotein błonowych w sposób zależny od kwasu sjałowego [15].

Mniej wiadomo o roli kwasów sjałowych w mechanizmach molekularnych chorób wywoływanych przez pierwotniaki. *Plasmodium falciparum* (protozoa), będący przyczyną malarii, jest replikowany w krwinkach czerwonych gospodarza. Do inwazji dochodzi dzięki rozpoznaniu struktur Neu5Ac α 2,3 glikoforyny – białka błonowego erytrocytów.

Struktury sjało-Lewis jako ligandy w interakcji z komórkowymi receptorami selektynowymi

Struktury Lewis są determinantami antygenowymi występującymi nie tylko, jak początkowo

sądzono, na krwinkach czerwonych, leukocytach, ale również na innych błonowych i rozpuszczalnych glikokoniugatach i nabłonkowych mucynach [26]. Pod względem chemicznym jest to trisacharyd zbudowany z: D-laktozoaminowego rdzenia z przyłączoną L-fukozą. Struktury Lewis są heterogenne i występują jako Lewis^a (Le^a), Lewis^b (Le^b), Lewis^x (Le^x), Lewis^y (Le^y). W tabeli 1 podano skład cukrowy i sekwencje struktur sjało-Lewis. Każda z tych struktur może występować dodatkowo w postaci glikoforyny usjałowanej kwasem Neu5Ac przyłączonym wiązaniem glikozydowym o konfiguracji α 2,3. Należy pamiętać, że odpowiedni typ wiązania determinuje strukturę przestrzenną, ma to znaczenie w oddziaływaniach struktur sjało-Lewis z ich komórkowymi receptorami.

Antygeny sjało-Lewis stanowią ligand indukowany przez cytokiny (IL-1, TNF) i rozpoznawany przez trzy cząsteczki adhezyjne, nazwane selektynami: E (endothelial leucocyte adhesion molecule 1 – ELAM-1, CD-62E), L (LECAM-1, CD62L) i P (platelet activation-dependent granule external membrane protein – PADGEM, CD62P). Selektyny E, L i P różnią się miejscem występowania, budową i swoistością. Naturalnie występujące struktury sjało-Lewis, i ich modyfikowane pochodne, w tym usiarczanowane [27], są rozpoznawane przez domenę rozpoznającą cukry CRD selektyn z różnym powinowactwem, przeważnie słabym, z niską swoistością, w sposób zależny od jonów wapnia. Sugeruje się, że między komórkami śródbłonna a limfocytami zachodzi kilka tego typu oddziaływań [28]. Ligandami dla L-selektyn są cząsteczki podobne do mucyn, bogate w wysoce usjałowane struktury glikanowe, określane jako CD34 [6].

Oddziaływania struktur oligosacharydowych typu sjało-Lewis z selektynami leżą u podstaw molekularnych, m.in. zasiedlania krążących leukocytów w węzłach chłonnych, kierowania limfo-

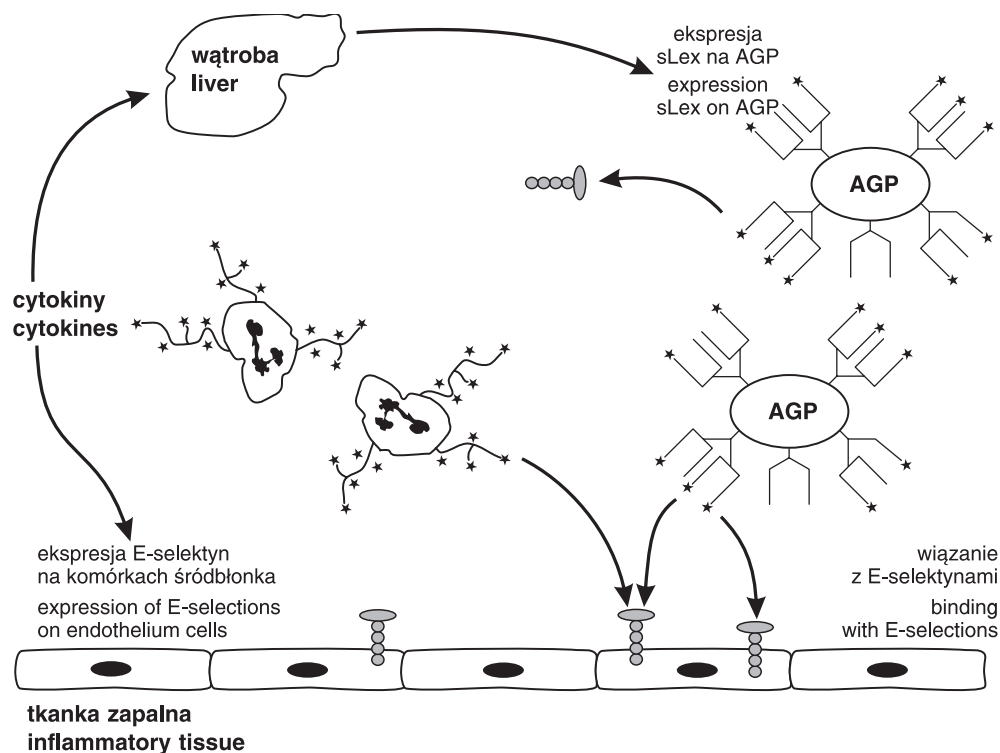
Tabela 1. Występowanie kwasu sjałowego w glikokoniugatach oraz sekwencje cukrowe epitopów sjało-Lewis

Table 1. Occurrence of sialic acid on glycoconjugates and carbohydrate sequences of sialyl-Lewis epitopes

Struktura glikanu (Glycan structures)	Występowanie (Occurrence)
Neu5Ac α 2,3Gal β 1,3GalNAc-R Neu5Ac α 2,3Gal β 1,3/4GlcNAc-R	O-glikany glikoprotein (łańcuchy typu 1) i gangliozydów N- i O-glikany w glikoproteinach (łańcuchy typu 2) i w glikolipidach
Neu5Ac α 2,6Gal β 1,4GlcNAc-R	N-glikany w glikoproteinach
Neu5Ac α 2,3Gal β 1,4GlcNAc(Fuc α 1,3)-R	sjało-Lewis ^x na N- i O-glikanach, i w glikolipidach
Neu5Ac α 2,3Gal β 1,4(Fuc α 1,2)GlcNAc(Fuc α 1,3)-R	sjało-Lewis ^y
Neu5Ac α 2,3Gal β 1,3GlcNAc(Fuc α 1,4)-R	sjało-Lewis ^a na N- i O-glikanach, glikolipidach
Neu5Ac α 2,3Gal β 1,3(Fuc α 1,2)GlcNAc (Fuc α 1,4)-R	sjało-Lewis ^b
Neu5Ac α 2,8 NeuNAc	polisjałowe kwasy na N-glikanach i wielu gangliozydach

R – struktury oligosacharydowe glikokoniugatów, które na nieredukującym końcu zawierają kwas sjałowy przyłączony wiązaniem glikozydowym typu α 2,3 i/lub α 2,6.

R – glycan structures to which sialic acid is bound by glycosidic bonds α 2,3 and/or α 2,6.



Ryc. 3. Hipotetyczna interakcja struktur sjalo-Le^x (*) z E-selektynami w procesie zapalnym.

Według hipotezy Van Dijka et al. [32] struktury cukrowe sjalo-Le^x należące do AGP (α_1 kwaśnej glikoproteiny) i pojawiające się w zapaleniu są konkurencyjnymi inhibitorami adhezji E-selektyn komórek śródbłónka do leukocytów krwi. Modulowane jest przenikanie leukocytów przez ściany naczyń. Prawdopodobnie zmiany w glikozylacji AGP przyczyniają się do wyciszenia komórkowych reakcji w procesie zapalnym. Schemat jest polską wersją przygotowaną przez E. Kratz, rysunku zamieszczonego w Havenaar E. C.: α_1 -Acid glycoprotein; Expression of Sialyl Lewis^x during chronic inflammation in relation to its function. Faculty of Medicine, Vrije Universiteit, Amsterdam 1998, s. 12–42

Fig. 3. Model of interaction of sialyl-Le^x (*) with E-selectins in an inflammatory process.

According to Van Dijk et al. [32] AGP sialyl-Le^x glycan structures occurring during inflammation are competitive inhibitors of endothelium E-selectin adhesion to leucocytes. It results modulation of leucocytes leaking across the endothelium. It is possible that changes in glycosylation are part of humoral feed-back response and dampen down cellular inflammatory reactions. The picture was done by E. Kratz according to Havenaar E. C.: α_1 -Acid glycoprotein; Expression of Sialyl Lewis^x during chronic inflammation in relation to its function. Faculty of Medicine, Vrije Universiteit, Amsterdam 1998, pp. 12–42

cytów do różnych narządów docelowych, warunkują swoje funkcje w odmiennych fazach wędrówki limfocytów poza naczyniami krwionośnymi, w przenikaniu limfocytów przez śródbłonek naczyń w miejscach zapalnych. Sugeruje się uczestnictwo struktur sjalo-Lewis w modulacji komórkowej adhezji, agregacji i modulacji funkcji receptorów [15, 26].

Ekspresja struktur sjalo-Lewis w tkankach, osoczu i płynach ustrojowych jest przedmiotem licznych prac badawczych próbujących wyjaśnić rolę tych cząstek w zachodzących procesach patofizjologicznych [28, 29]. Ekspresja antygenów sjalo-Lewis wzrasta w chorobie nowotworowej i z tego powodu antygeny są zaliczane do ważnych markerów nowotworowych [30]. Ekspresja sjalo-Le^a i sjalo-Le^x wykazuje korelację z powstawaniem przerzutów w nowotworach okrężnicy i może stanowić wartość prognostyczną w pooperacyjnej terapii pacjentów [31]. Interesującą hipotezę

zaproponowali Van-Dijk et al. [32] dla pojawiających się w stanach zapalnych struktur sjalo-Le^x na α_1 -kwaśnej glikoproteinie. A mianowicie pojawiające się w stanach zapalnych struktury sjalo-Le^x mogą stanowić konkurencyjny inhibitor dla struktur Lewis obecnych na limfocytach i uczestniczących w przemieszczaniu się limfocytów przez śródbłonek naczyń (ryc. 3).

Usjalowane glikany stanowią ligandy w oddziaływaniach z sjaloadhezynami

Kwas sjalowy glikokoniugatów jest rozpoznawany z wysoką swoistością przez członków rodziny sjaloadhezyn. Sjaloadhezyny są odrębną podgrupą białek immunoglobulinopodobnych, wystę-

pują głównie na komórkach układu hemopoetycznego i otrzymały nową nazwę Siglecs od skrótu angielskiego sialic acid-binding immunoglobulin-like lectins [33]. Do tej grupy są zaliczane białka, które spełniają dwa warunki: wiążą usjałowane glikany oraz wykazują podobieństwo w sekwencji z innymi sjałoadhezykami w części N-końcowej w domenie V i sąsiedniej domenie C2 [34]. Nowe identyfikowane adhezyny otrzymują kolejne numery Siglecs 1,2...10 [35]. Mutacje reszty argininy w domenie V-set sjałoadhezy, tworzącej mostki solne z grupą karboksylową kwasu sjałowego, znoszą swoiste wiązanie między tymi cząsteczkami. Do rodziny Siglecs zalicza się białka CD22 na komórkach B [36], CD33 na prekursorze komórki mieloidalnej, monocytach oraz makrofagowe sjałoadhezyny [34]. Antygen CD33 jest uważany za ważny marker w rozpoznawaniu ostrych białaczek mieloidalnych. Sjałoadhezyny na makrofagach i dendrocytach oraz na CD33 rozpoznają kwas sjałowy glikoprotein i glikolipidów w sekwencji Neu5Ac α 2,3Gal β 1,3GalNAc i Neu5Ac α 2,3Gal β 1,3(4)GlcNAc. Sjałoadhezyna CD22 o 7 domenach immunoglobulinopodobnych wiąże ligandy zawierające Neu5Ac przyłączone wiązaniem α 2,6 do Gal β w N-glikoproteinach. Wiązanie CD22 do CD45 zachodzi ponadto pod kontrolą funkcjonalnego usjałowania Neu5Ac α 2,6. W interakcji ze sjałoadhezyką uczestniczą grupy funkcyjne kwasu sjałowego, a szczególnie karboksylowa przy C2, grupy hydroksylowe w łańcuchu glicerolowym C7–C9, podstawniki przy C5 i grupa hydroksylowa przy C3, tworząc wiązania jonowe, wodorowe oraz kontakty hydrofobowe z odpowiednim miejscem aminokwasowym na Siglecs. Oddziaływania sjałoadhezyny z ligandem są bardzo wrażliwe na wszelkie modyfikacje kwasu sjałowego [6, 34].

Interakcja kwasu sjałowego z Siglecs leży u podstaw adhezji komórek oraz takich procesów, jak: rozwój neuronów i komórek układu hemopoetycznego, przemieszczanie się limfocytów do organów chłonnych i w niektórych oddziaływaniach w układzie odpornościowym [34]. Crocker i Varki [36] uważają, że sjałoadhezyny mogą uczestniczyć w regulacji funkcji wrodzonego układu odpornościowego.

Charakterystyka modyfikacji kwasów sjałowych

Badania ostatniego 10-lecia jasno wskazują, że obserwowane *in vivo* modyfikacje kwasu sjałowego mogą odgrywać kluczową rolę w regulacji

kontroli sygnałów przekazywanych między błonowymi cząsteczkami uczestniczącymi w procesach oddziaływań międzykomórkowych. Istnieją przesłanki pozwalające sądzić, że obecność odpowiednich stereoswoistych postaci kwasu sjałowego jest adekwatna do stanu biologicznego komórki, w której występuje. Dotychczas niewiele wiadomo o funkcji kontrareceptorów w kontroli ścieżek przekazujących sygnały. Wiedza taka byłaby szczególnie przydatna w badaniach nad nowymi lekami, analogami kwasu sjałowego, mogącymi mieć zastosowanie jako inhibitory selektyn i sjałoadhezy w terapii procesów zapalnych i profilaktyce metastazy komórek nowotworowych. Poniżej scharakteryzowano najczęściej występujące modyfikacje kwasu neuraminowego.

N-acetylo-hydroksylacja Neu5Ac i ekspresja kwasu N-glikoliloneuraminowego

N-acetylo-hydroksylacja Neu5Ac prowadzi do powstania kwasu N-glikoliloneuraminowego (Neu5Gc) (ryc. 2). Rozległość tego typu sjałizacji zależy w znacznej mierze od gatunku, stopnia rozwoju tkanki i wpływu środowiska [1, 9]. Pochodna glikolilowa jest obecna w wielu zwierzęcych glikokoniugatach od *Echinodermata* (*deuterostomate*) do ssaków. Neu5Gc w mucynach z gruczołu podśliniankowego u świń wiąże się preferencyjnie z GalNAc za pomocą wiązania glikozydowego α 2,6, a w N-glikanach świńskiej witronektyny przyłącza się do ramienia rozbudowanego przez Man α 2,6. Grupa hydroksylowa reszty glikolilowej może ulegać reakcji acetylacji. Taką pochodną wykryto na szczurzych trombocytach. Ponadto Neu5Gc występuje w postaci pochodnych O-acylowych, podobnie jak „wszędobylski” kwas Neu5Ac. O-acetylacja może zachodzić w pozycjach C4 i C7-9, a O-laktozylacja w pozycji C9. Pochodne 8-O-metylowane wykryto u roztwórczy morskich. Kwas N-glikoliloneuraminowy w postaci oligomerycznej występuje w płaszczu glikoproteinowym otoczki jaj rybich, a u niektórych ssaków jest zasocjowany z komórkami NCAM.

Do tej pory nie stwierdzono obecności Neu5Gc u bakterii oraz u kurcząt. Tkanki zdrowych dorosłych ludzi nie zawierają lub zawierają śladowe ilości Neu5Gc. Kwas N-glikoliloneuraminowy stanowi mniej niż 0.01% całkowitej zawartości kwasu sjałowego w ludzkim mózgu, wątrobie, osoczowych glikoproteinach, aktywowanych limfocytach T, na komórkach śródbłonna tkanek płodu oraz na łożysku [37]. Neu5Gc pojawia się w nowotworowych guzach z częstotliwością 30–50% w zależności od typu guza. Glikoko-

niugaty zawierające Neu5Gc okazały się immunogenne dla ludzi i kurcząt, prowadząc do wytwarzania przeciwciał heterofilnych nazywanych przeciwciałami Hanganutziu-Deicher. Antygeny reagujące z przeciwciałami Hanganutziu-Deicher wykryto na glikokoniugatach i mucynach wydzielanych przez ludzkie guzy, w tym przez nowotwory okrężnicy, *melanoma*, *retinoblastoma* i raki płuc. Z tego powodu zalicza się je do antygenów onkofetalnych. Większość antygenów Hanganutziu-Deicher zidentyfikowano jako gangliozydy zawierające Neu5Gc. Ilość tego antygeny, określana metodami immunologicznymi, spektrometrią masową, lub chromatografią gazową, w ludzkich guzach jest jednak niewielka i wynosi mniej niż 1% całkowitej zawartości kwasu sjałowego, najczęściej 0,01–0,1%. Szczegóły dotyczące biologii Neu5Gc można znaleźć w pracach przeglądowych [1, 37].

O-Acyłacja i de-O-acetyłacja kwasów sjałowych

Najczęstszym typem enzymatycznej O-acyłacji kwasu N-acetyloneuraminowego jest acetyłacja grup hydroksylowych przy węglu C9 (Neu5,9Ac). Pochodna Neu5,9Ac powstaje jako jedna z ostatnich modyfikacji w aparacie Golgiego. Ekspresja tego typu modyfikacji dotyczy, jak dotąd wykazano, glikokoniugatów związanych z błoną, najczęściej mucyn, a nie rozpuszczalnych białek opuszczających cysterny *trans*-Golgi. Reakcja 9-O-acetyłacji wymaga obecności O-acetyltransferazy ze swoistością tylko dla jednej pozycji węgla i jednego typu wiązania anomerycznego oraz właściwego substratu [14]. Ten typ modyfikacji wykryto na podśliniankowych mucynach bydłych, na antygenach różnicowania tymocytów CD43 i CD45RB oraz glikoproteinie gp40 – głównym receptorze wirusa grypy typu C. Udowodniono rolę Neu5,9Ac w interakcjach między gospodarzem a patogenem oraz sugeruje się jego uczestnictwo w wewnątrzkomórkowych przemianach. Pochodne 7-O-acetylowane najczęściej są wbudowane w cząsteczki błony lizosomu. Możliwa jest acetyłacja przy C7, a następnie migracja acetylowej grupy do C9 przez C8. 4-O-acetylowane pochodne wykryto u koni, małp, świń morskich. 9-O i 4-O-acetyłacja kwasu N-acetyloneuraminowego redukuje, a nawet w niektórych połączeniach ochrania, kwas N-acetylo-5-neuraminowy (Neu5Ac) przed działaniem neuraminidaz, szczególnie bakteryjnych. Krwinki czerwone, które poddano de-O-acetyłacji są rozpoznawane szybciej przez makrofagi otrzewnowe. Zaobserwowano wzrost ekspresji O-acetylowanego kwasu sjałowego w gangliozy-

dach pochodzących z czerniaka. Proponuje się zaliczenie O-acetylowej pochodnej kwasu sjałowego do grupy antygenów zasocjowanych z guzem. Sądzi się, że ten typ molekularnej modyfikacji kwasu Neu5Ac uczestniczy w regulacji rozpoznania komórkowego [6, 14, 15].

O-Metyłacja kwasów sjałowych

Metyłacja jest rzadko występującym typem modyfikacji. Wykryto ją u *Echinodermata*. Metylowe grupy znaleziono w pozycji C8 kwasu N-glikolilo-5-neuraminowego (Neu5Gc) i w znacznie mniejszych ilościach w Neu5Ac, ale także w 9-O-acetylowanych pochodnych kwasu sjałowego [1].

Znaczenie różnorodności sjałoglikoform ze względu na typ anomerycznego wiązania Neu5Ac α 2,3/Neu5Ac α 2,6 i Neu5Ac α 2,8

Prace ostatnich lat nad biologią kwasów sjałowych dostarczają nielicznych, jak dotąd, informacji o zmiennej ekspresji izoform Neu5Ac α 2,3 albo/i Neu5Ac α 2,6 na glikoproteinach rozpuszczalnych i zakotwiczonych na komórce. Vallejo et al. [18] udowodnili, że podczas dojrzewania tkanek, szczególnie układu nerwowego, oddechowego, moczowo-płciowego i chłonnego, świń zdarzają się modyfikacje polegające na odmiennym typie wiązania anomerycznego Neu5Ac α 2,6 lub/i Neu5Ac α 2,3 do Gal w glikokoniugatach. Obserwowany typ wiązania Neu5Ac zależy od pochodzenia tkanki i jest różny w glikokoniugatach tkanki noworodka lub osobnika dojrzałego. W większości glikokoniugaty tkanek noworodków ssaczyc są bogate w Neu5Ac α 2,3, a w niektórych tkankach Neu5Ac α 2,6 nie występuje w ogóle lub jest obecny w znikomych ilościach. W tych samych tkankach u osobników dorosłych dominuje natomiast Neu5Ac α 2,6. Szczególnie komórki ośrodkowego układu nerwowego u noworodków są bogate w Neu5Ac α 2,3, a w miarę dojrzewania ekspresja typu wiązania anomerycznego zmienia się i obserwuje się zwiększoną ekspresję izomeru Neu5Ac α 2,6 przy jednoczesnym pojawianiu się 9-O-acetylowych pochodnych Neu5Ac w korze mózgowej i mózdzku. Biorąc pod uwagę, że Neu5Ac α 2,3 jest krytycznym składnikiem ligandów dla niektórych mikrobiologicznych lek-

tyn, zrozumiała staje się infekcyjność i organotropizm wirusów w zależności od stadium dojrzewania gospodarza. Na przykład wirus różyczki (*rubulavirus*) wywołuje patologiczne objawy w układzie nerwowym i oddechowym u noworodków i małych zwierząt, a nie u dorosłych. U dorosłych osobników atakuje wyłącznie komórki układu rozrodczego, ponieważ komórki te są bogate w Neu5Ac α 2,3 rozpoznawany preferencyjnie przez wirus różyczki.

Hampel et al. [38] przedstawili dowody, że fibronektyna płodowa, obecna w płynie owodniowym, charakteryzuje się glikotopem, w którego skład wchodzi Neu5Ac α 2,3. W osoczu dorosłego człowieka fibronektyna zawiera głównie Neu5Ac α 2,6. Identyfikacja Neu5Ac α 2,3 w stosunku do względnej zawartości Neu5Ac α 2,6 w płynie owodniowym oraz w wydzielinie z pochwy ciężarnej, pozwala na przewidywanie terminu porodu do 10. dni przed rozwiązaniem.

U gryzoni w procesie implantacji embrionu oraz w tworzeniu łożyska jednocześnie ze zmianami w morfologii i metabolizmie komórek endometrium zachodzą modyfikacje w glikozylacji istniejących glikokoniugatów oraz w nowo pojawiających się uglikozylowanych składników. Szczególnie glikokoniugaty błony doczesnej u ciężarnych myszy i szczurów charakteryzowały się różnicami w sjałizacji. W trofoblaście u myszy pojawiają się nowe glikodeterminanty bogate w Neu5Ac α 2,3 i w poli-Neu5Ac α 2,8, ale nie w Neu5Ac α 2,6. Ekspresja spolimeryzowanych struktur Neu5Ac α 2,8 zmniejsza się jednak w czasie po implantacji jaja. Niedobór struktur Neu5Ac α 2,6 wydaje się istotny w przygotowaniu endometrium do przyjęcia trofoblastu [39]. Reszty powierzchniowego kwasu sjałowego uczestniczą prawdopodobnie w regulacji adhezji komórek. W nowotworach komórki bogate w Neu5Ac α 2,6 wykazują zmniejszone właściwości przylegania i charakteryzują się wyższą złośliwością i możliwościami tworzenia przerzutów [40, 41]. Ekspresja struktur sjał α 2,6laktozaminowych jest szczególnie silna w transformacji nowotworowej i różnicowaniu się tkanek. Ich znaczenie nie jest jeszcze poznane, ale sugeruje się modulowanie biologicznych interak-

cji przez ukrywanie laktozaminowych struktur znajdujących się pod kwasem sjałowym swoistych dla galaktozowego receptora lektynowego albo dzięki bezpośredniej reakcji z komórkowymi lektynami rozpoznającymi kwas sjałowy. Izoformy usjałowanych glikokoniugatów mogą wywierać immunosupresyjny efekt w blokowaniu adhezji i towarzyszących procesów aktywacji (activation-related events) [18, 40].

CD22, glikoproteina zasocjowana z receptorem dla antygeny na komórkach B działa jako negatywny regulator receptora w przekazywaniu sygnałów w sposób zależny od obecności Neu5Ac α 2,3. Lanoue et al. [42] sugerują, że w kontekście odpowiedniej interakcji CD22 ze sjał α 2,3-glikokoniugatami aktywowane komórki B są zdolne do wyciszania autoreaktywności i hamowania odpowiedzi autoimmunologicznej. Alvarez et al. [43] wykazali, że wzór usjałowania tymocytów zmienia się podczas ich kolejnych etapów dojrzewania, początkowo występuje ekspresja Neu5Ac α 2,6, a dojrzałe tymocyty są bogate w Neu5Ac α 2,3. Ekspresja Neu5Ac α 2,6/Neu5Ac α 2,3 na tymocytach pozostaje pod kontrolą swoistych glikozylotransferaz oraz mikrośrodowiska.

Polisjałowe kwasy są zbudowane z linearnego homopolimeru, w którym reszty kwasu sjałowego są połączone między sobą wiązaniami Neu5Ac α 2,8 i są dołączane przez swoiste sjałylotransferazy do sekwencji Neu5Ac α 2,8Neu5Ac α 2,6GalNAc lub Neu5Ac α 2,8Neu5Ac α 2,3Gal w O- i N- glikanach glikoprotein i w gangliozydach. Takie struktury zidentyfikowano po raz pierwszy w ikrze pstrąga tęczowego [15] oraz jako składniki niektórych ludzkich glikoforyn [44]. Obecnie znane są struktury polisjałowe oligosacharydowe i disacharydowe na bydłczej fetuinie, alfa₂-makroglobulinie i na embrionalnych komórkach NCAM w mózgu [14]. Glikokoniugaty bogate w polisjałowe kwasy występują najczęściej na tkankach embrionalnych i nowotworowych. Tanaka et al. [12] sądzą, że polisjałowe struktury pełnią istotną rolę w progresji nowotworu, przyczyniają się do powstawania odległych przerzutów w niedrobnokomórkowych nowotworach płuca i są niekorzystnym czynnikiem prognostycznym.

Piśmiennictwo

- [1] Schauer R., Kelm S., Reuter G., Roggentin P., Shaw L.: Biochemistry and role of sialic acids. In: Biology of the sialic acids. Ed. Rosenberg A., Plenum Press, New York 1995, pp. 7–47.
- [2] Sillanauke P., Ponnio M., Jaasskelainen I. P.: Occurrence of sialic acid in healthy humans and different disorders. Eur. J. Clin. Invest. 1999, 29, 413–425.
- [3] Waters P. J., Lewry E., Pennock C. A.: Measurements of sialic acid in serum and urine: clinical applications and limitations. Ann. Clin. Biochem. 1992, 29, 625–637.
- [4] Dezan C. C., Nicolau J., Souza D. N., Walter L. R. F.: Flow rate, amylase activity, and protein and sialic acid concentrations of saliva from children aged 18, 30 and 42 months attending a baby clinic. Arch. Oral Biol. 2002, 47, 423–427.

- [5] Biancheri R., Verbeek E., Rossi A., Gaggero R., Roccagiatagliata L., Gatti R., van Diglen O. P., Verheijen F. W., Mancini G. M. S.: An Italian severe Salla disease variant associated with a SLC17A5 mutation earlier described in infantile sialic acid storage disease. *Clin. Genet.* 2002, 61, 443–447.
- [6] Kelm S., Schauer R.: Sialic acids in molecular and cellular interactions. *Int. Rev. Cytol.* 1997, 175, 137–240.
- [7] Millar J. S.: The sialylation of plasma lipoproteins. *Atherosclerosis* 2001, 154, 1–13.
- [8] Kobata A.: A retrospective and prospective view of glycopathology. *Glycoconjugate J.* 1998, 15, 323–331.
- [9] Brinkman-Van der Linden E. C. M., Sjöberg E. R., Raj Junela L., Crocker P. R., Varki N., Varki A.: Loss of N-glycolylneuraminic acid in human evolution. *J. Biol. Chem.* 2000, 275, 8633–8640.
- [10] Varki A.: Diversity in the sialic acids. *Glycobiology* 1992, 2, 25–40.
- [11] Van den Eijnden D. H., Joziassse D. H.: Enzymes associated with glycosylation. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 1993, 3, 711–721.
- [12] Tanaka F., Otake Y., Nakagawa T., Kawano Y., Miyahara R., Li M., Yanagihara K., Inui K., Oyanagi H., Yamada T., Nakayama J., Fujimoto I., Ikenaka K., Wada H.: Prognostic significance of polysialic acid expression in resected non-small cell lung cancer. *Cancer Res.* 2001, 61, 1666–1670.
- [13] Charter N. W., Mahal L. K., Koshland D. E. Jr., Bertozzi C. R.: Differential effects of unnatural sialic acid on the neural cell adhesion molecule and neuronal behavior. *J. Biol. Chem.* 2002, 277, 9255–9261.
- [14] Klein A., Roussel P.: O-acetylation of sialic acids. *Biochimie* 1998, 80, 49–57.
- [15] Reutter W., Stäsche R., Stehling P., Baum O.: The biology of sialic acids: Insights into their structure, metabolism and function in particular during viral infection. In: *Glycosciences status and perspectives*. Eds.: Gabius H.-J. and S., Chapman and Hall, Weinheim 1997, pp. 245–259.
- [16] Spiro M. J., Spiro R. G.: Sulfation of the N-linked oligosaccharides of influenza virus hemagglutinin: temporal relationship and localization of sulfotransferases. *Glycobiology* 2000, 10, 1235–1242.
- [17] Rüdiger H., Siebert H.-Ch., Solis D., Jiménez-Barbero J., Romero A., Von der Lieth C.-W., Diaz-Mauriño T., Gabius H.-J.: Medical chemistry based on the sugar code: Fundamentals of lectinology and experimental strategies with lectins as targets. *Curr. Med. Chem.* 2000, 7, 389–416.
- [18] Vallejo V., Reyes-Leyva J., Hernandez J., Ramirez H., Delannoy P., Zenteno E.: Differential expression of sialic acid on porcine organs during the maturation process. *Comp. Biochem. Physiol. B* 2000, 126, 415–424.
- [19] Suzuki Y., Tateishi N., Cicha I., Maeda N.: Aggregation and sedimentation of mixtures of erythrocytes with different properties. *Clin. Hemorheol. Microcircul.* 2001, 25, 105–117.
- [20] Waśniowska K., Reichert Ch. M., McGinniss M. H., Schroer K. R., Zopf D., Lisowska E., Messeter L., Lundblad A.: Two monoclonal antibodies highly specific for the blood group N determinant. *Glycoconjugate J.* 1985, 2, 163–176.
- [21] Lisowska E.: Tn antigens and their significance in oncology. *Acta Biochim. Pol.* 1995, 42, 11–18.
- [22] Goluboff E. T., Mertz J. R., Tres L. L., Kierszenbaum A. L.: Galactosyl receptor in human testis and sperm is antigenically related to the minor C-type (Ca²⁺-dependent) lectin variant of human and rat liver. *Mol. Reprod. Dev.* 1995, 40, 460–466.
- [23] Karlsson N. G., Olson F. J., Jovall P.-A., Andersch Y., Enerbäck L., Hansson G. C.: Identification of transient glycosylation alterations of sialylated mucin oligosaccharides during infection by the rat intestinal parasite *Nippostrongylus brasiliensis*. *Biochem. J.* 2000, 350, 805–814.
- [24] Kremling Ch., Herrler G.: Sialic acid binding activity of transmissible gastroenteritis coronavirus affects sedimentation behavior of virions and solubilized glycoproteins. *J. Virology* 2001, 75, 844–849.
- [25] Kube D., Adams L., Perez A., Davis P. B.: Terminal sialylation is altered in airway cell with impaired CFTR-mediated chloride transport. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2001, 280, L482–L492.
- [26] Michalski J.-C.: Structure and analysis of glycoprotein-associated oligosaccharides. In: *Glycans in cell interaction and recognition. Therapeutic aspects*. Ed. Aubery M., Harwood Academic Publishers, Australia–Canada–France–Germany–India–Japan–Luxemburg–Malaysia–The Netherlands–Russia–Singapore–Switzerland 2001, pp. 17–35.
- [27] Loveless W., Feizi T., Valeri M., Day R., Bay S.: A monoclonal antibody. MIN/3/60, that recognizes the sulpho-Lewis^x and sulpho-Lewis^a sequences detects a subpopulation of epithelial glycans in the crypts of human colonic epithelium. *Hybridoma* 2001, 20, 223–229.
- [28] Bakowsky U., Schumacher G., Gege Ch., Schmidt R. R., Rothe U., Bendas G.: Cooperation between lateral ligand mobility and accessibility for receptor recognition in selectin-induced cell rolling. *Biochemistry* 2002, 41, 4704–4712.
- [29] Kątnik I., Goodarzi M. T., Turner G. A.: An improved ELISA for the determination of sialyl Lewis^x structures on purified glycoconjugates. *Glycoconjugate J.* 1996, 13, 1043–1047.
- [30] Fujiwara Y., Shimada S., Takenaka K., Kajiyama K., Shirabe K., Sugimachi K.: The sialyl Lewis^x expression in hepatocarcinogenesis: potential predictor for the emergence of hepatocellular carcinoma. *Hepato-Gastroenterol.* 2002, 49, 213–217.
- [31] Kijima H., Kashiwagi H., Dowaki S., Ohtani Y., Tobita K., Matsubayashi H., Ajioka Y., Watanabe H., Tsuchida T., Yamazaki H., Nakamura M., Ueyama Y., Tanaka M., Makuuchi H.: Stromal sialyl Le^a expression is correlated with vascular invasion of human gallbladder adenocarcinoma. *Inter. J. Oncol.* 2000, 17, 55–60.
- [32] Van Dijk W., Havenaar E. C., Brinkman-Van der Linden E. C. M.: α_1 -Acid glycoprotein (orosomucoid): pathological changes in glycosylation in relation to its function. *Glycoconjugate J.* 1995, 12, 227–233.
- [33] Brinkman-Van der Linden E. C. M., Varki A.: New aspects of Siglec binding specificities, including the significance of fucosylation and the sialyl-Tn epitope. *J. Biol. Chem.* 2000, 275, 8625–8632.
- [34] Kelm S.: Ligands for Siglecs. In: *Results and problems in cell differentiation 2001*, Crocker P. R. Ed.: *Mammalian Carbohydrate Recognition Systems* Springer-Verlag, Berlin–Heidelberg 2001, Vol. 33 pp. 153–176.

- [35] Crocker P. R., Varki A.: Siglecs, sialic acids and innate immunity. *Trends Immunol.* 2001, 22, 337–342.
- [36] Jin L., McLean P. A., Neel B. G., Wortis H. H.: Sialic acid binding domains of CD22 are required for negative regulation of cell receptor signaling. *J. Exp. Med.* 2002, 195, 1199–1205.
- [37] Malykh Y. N., Schauer R., Shaw L.: N-glycolylneuraminic acid in human tumours. *Biochimie* 2001, 83, 623–634.
- [38] Hampel D. J., Köttgen B., Dudenhausen J. W., Köttgen E.: Fetal fibronectin as a marker for an imminent (pre-term) delivery. A new technique using the glycoprotein lectin immunosorbent assay. *J. Immunol. Methods* 1999, 224, 31–42.
- [39] Jones C. J. P., Kimber S. J., Illingworth I., Aplin J. D.: Decidual sialylation shows species-specific differences in the pregnant mouse and rat. *J. Reprod. Fertil.* 1996, 106, 241–250.
- [40] Dall'Olio F.: The biology and biochemistry of the sialyl- α 2,6-lactoaminyllinkage. *Curr. Top. Biochem. Res.* 2000, 2, 63–75.
- [41] Lin S., Kemmner W., Grigull S., Schlag P. M.: Cell surface α -2,6-sialylation affects adhesion of breast carcinoma cells. *Exp. Cell Res.* 2002, 276, 101–110.
- [42] Lanoue A., Batista F. D., Stewart M., Neuberger M. S.: Interactions of CD22 with α -2,6-linked sialoglycoconjugates: innate recognition of self to dampen B cell autoreactivity? *Eur. J. Immunol.* 2002, 32, 348–355.
- [43] Alvarez G., Lascurain R., Pérez A., Degand P., Montaña L. F., Martínez-Cairo S., Zenteno E.: Relevance of sialoglycoconjugates in murine thymocytes during maturation and selection in the thymus. *Immunol. Invest.* 1999, 28, 9–18.
- [44] Krotkiewski H.: The structure of glycophorins of animal erythrocytes. *Glycoconjugate J.* 1988, 5, 35–48.

Adres do korespondencji:

Iwona Kątnik-Prastowska
Katedra Chemii i Immunochemii AM
ul. Bujwida 44a
50-345 Wrocław
e-mail: iwona@immchem.am.wroc.pl

Praca wpłynęła do Redakcji: 20.12.2002 r.
Po recenzji: 28.01.2003 r.
Zaakceptowano do druku: 7.02.2003 r.

Received: 20.12.2002
Revised: 28.01.2003
Accepted: 7.02.2003