

Uloga lektina u imunosnom odgovoru

Funarić, Iva

Undergraduate thesis / Završni rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Department of Chemistry / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za kemiju**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:182:883389>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-13**

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Department of Chemistry, Osijek](#)



Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku – Odjel za kemiju
Sveučilišni prijediplomski studij Kemija

Iva Funarić

Uloga lektina u imunosnom odgovoru

Završni rad

Osijek, 2024.

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku – Odjel za kemiju

Sveučilišni prijediplomski studij Kemija

Iva Funarić

Uloga lektina u imunosnom odgovoru

Završni rad

Mentorica: izv. prof. dr. sc. Martina Šrajer Gajdošik

Neposredna voditeljica: dr. sc. Marija Paurević

Osijek, 2024.

Naziv sveučilišta: Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera – Odjel za kemiju

Naziv studija: Sveučilišni prijediplomski studij Kemija

Znanstveno područje: Prirodne znanosti

Znanstveno polje: Kemija

Znanstvena grana: Primijenjena kemija

ULOGA LEKTINA U IMUNOSNOM ODGOVORU

IVA FUNARIĆ

Rad je izrađen na: Sveučilište u Osijeku – Odjel za kemiju

Mentor: izv. prof. dr. sc. Martina Šrajer Gajdošik

Neposredni voditelj: dr. sc. Marija Paurević

Sažetak: Lektini su proteini koji se vežu za ugljikohidrate i glikokonjugate. Zbog sposobnosti prepoznavanja drugih molekula izrazito su važni u raznim biomedicinskim istraživanjima, a primjenu nalaze i u terapiji i dijagnostici. U kontekstu imunskog odgovora, lektini imaju važnu ulogu kao imunomodulatori. U urođenom imunskom odgovoru, lektini su uključeni u aktivaciju sustava komplemenata, prepoznavanje patogena i fagocitozu. Također, lektini sudjeluju i u modulaciji stečenog imunskog odgovora kroz aktivaciju T- i B-stanica. Uz svoju ulogu u zaštiti organizma lektini su povezani s razvojem autoimunih bolesti. U radu su prikazani rezultati iz literaturno dostupnih podataka, a pretraživana je literatura na hrvatskom i engleskom jeziku.

Ključne riječi: *lektini, imunski odgovor, urođeni, stečeni, patogeni, receptori.*

Jezik izvornika: hrvatski jezik

Završni rad obuhvaća: 31 stranicu, 4 slike, 2 tablice, 47 literaturnih navoda

Rad prihvaćen: 10. rujna 2024. godine

Stručno povjerenstvo za ocjenu rada:

1. izv. prof. dr. sc. Vlatka Gvozdić
2. izv. prof. dr. sc. Martina Šrajer Gajdošik
3. doc. dr. sc. Olivera Galović
4. izv. prof. dr. sc. Elvira Kovač-Andrić

Rad je pohranjen: Knjižnica Odjela za kemiju, Kuhačeva 20, 31000 Osijek

Repozitorij Odjela za kemiju, Osijek

Name of the university: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek – Department of Chemistry**

Name of study programme: **University undergraduate study programme in Chemistry**

Scientific field: Natural sciences

Scientific field: Chemistry

Scientific branch: Applied chemistry

ROLE OF LECTINS IN THE IMMUNE RESPONSE

IVA FUNARIĆ

The paper was created on: Department of Chemistry

Supervisor: Assoc. Prof. Martina Šrajer Gajdošik, PhD

Assistant supervisor: Marija Paurević, PhD

Abstract: Lectins are proteins that bind to carbohydrates and glycoconjugates. Due to their ability to recognize other molecules, they are extremely important in various biomedical research, and they are also used in therapy and diagnostics. In the context of the immune response, lectins play an important role as immunomodulators. In the innate immune response, lectins are involved in complement system activation, pathogen recognition and phagocytosis. Also, lectins participate in the modulation of the acquired immune response through the activation of T- and B-cells. In addition to their role in protecting the body, lectins are associated with the development of autoimmune diseases. The paper presents the results from the data available in the literature, and the literature in Croatian and English was searched.

Keywords: *lectins, immune response, innate, acquired, pathogens, receptors.*

Original language: *Croatian language*

The final paper includes: 31 pages, 4 pictures, 2 tables and 47 references

Work accepted: September 10, 2024

Reviewers:

1. Assoc. Prof. Vlatka Gvozdić, PhD
2. Assoc. Prof. Martina Šrajer Gajdošik, PhD
3. Assist. Prof. Olivera Galović, PhD
4. Assoc. Prof. Elvira Kovač-Andrić, PhD

Thesis deposited in: Library of the Department of Chemistry, Ulica Franje Kuhača 20, Osijek
Repository of the Department of Chemistry, Osijek

Sadržaj

| | |
|--|-----------|
| 1. UVOD | 1 |
| 2. LEKTINI..... | 2 |
| 2.1. Povijesni razvoj | 2 |
| 2.2. Strukturne karakteristike lektina | 3 |
| 2.3. Klasifikacija lektina..... | 4 |
| 3. LEKTINI U UROĐENOM IMUNOSNOM ODGOVORU..... | 6 |
| 3.1. Prepoznavanje patogena..... | 6 |
| 3.1.1. C-tip lektinski receptori..... | 6 |
| 3.2. Fagocitoza | 9 |
| 3.3. Sustav komplemenata..... | 10 |
| 3.3.1. Lektin koji veže manozu (MBL)..... | 11 |
| 3.3.2. Fikolini | 12 |
| 3.3.3. Lektinski put..... | 13 |
| 4. LEKTINI U STEČENOM IMUNOSNOM ODGOVORU | 15 |
| 4.1. Aktivacija T-stanica | 15 |
| 4.2. Diferencijacija T-stanica..... | 16 |
| 4.3. „Kontrakcija“ T-stanica | 16 |
| 4.4. B-stanice..... | 17 |
| 5. ULOGA LEKTINA U RAZVOJU AUTOIMUNIH BOLESTI | 19 |
| 5.1. Izazivanje autoimunosti..... | 20 |
| 6. PRIMJENE U BIOMEDICINI | 22 |
| 6.1. Dijagnostika | 22 |
| 6.2. Terapija..... | 23 |
| 6.2.1. Antitumorska aktivnost | 23 |
| 6.2.2. Lektini u isporuci lijekova..... | 23 |
| 7. ZAKLJUČAK..... | 25 |
| 8. POPIS KRATICA..... | 26 |
| 9. LITERATURNI PREGLED..... | 27 |

1. UVOD

Imunosni sustav čini skup stanica i molekula koje imaju specijaliziranu ulogu u obrani organizma od infekcija. Ljudski organizam posjeduje dvije linije obrane: urođeni (nespecifični) imunostni sustav i stečeni (specifični) imunostni sustav. Urođeni imunostni sustav predstavlja prvu liniju obrane organizma od patogena. On reagira jednako na sve klice i strane tvari te se iz toga razloga naziva i nespecifičnim imunostnim sustavom. Iako ga karakterizira vrlo brza reakcija na strane tvari, urođeni imunostni sustav ne može uvijek spriječiti širenje klica. Ako urođeni imunostni sustav ne uništi klice, onda stečeni imunostni sustav preuzima tu zadaću. Stečeni imunostni sustav ciljano uništava klicu koja uzrokuje infekciju te ga karakterizira nešto sporija reakcija na strane organizme, ali za razliku od urođenog imunostnog sustava, stečeni ima sposobnost pamćenja patogena, što ga čini bitnim za dugotrajnu zaštitu organizma. Urođeni i stečeni imunostni sustavi često se opisuju kao kontrasni, međutim oni djeluju zajedno i tako osiguravaju cjelovitu imunostnu obranu [1,2]. Za imunostnu obranu su ključni i lektini, nekatalitički proteini koji vežu ugljikohidrate. Oni su ključne molekule u različitim biološkim procesima, a uključeni su i u prepoznavanje patogena i pokretanje imunostnog odgovora. U posljednjih nekoliko desetljeća, istraživanja o lektinima značajno su se proširila i tako otkrila njihovu važnu ulogu u regulaciji urođenog i stečenog imunostnog odgovora [3].

2. LEKTINI

Lektini su proteini koji prepoznaju i vežu šećere, odnosno ugljikohidrate. Naziv „lektin“ dolazi od latinske riječi *legere* što znači „odabrati“. Lektini su sveprisutni u živim organizmima te se smatra da imaju ključnu ulogu u interakcijama stanica, prepoznavanju molekula i regulaciji različitih fizioloških funkcija. Ovi proteini neimunog podrijetla imaju jedinstvenu sposobnost vezanja za glikane, glikoproteine i polisaharide, čime omogućuju prepoznavanje i komunikaciju među stanicama. Zbog svojih specifičnih veznih svojstava, lektini su postali važan alat u proučavanju interakcija između ugljikohidrata i proteina. Kroz povijest su identificirani i klasificirani prema različitim kriterijima, a njihova strukturna raznolikost omogućuje široku primjenu u biomedicini, uključujući isporuku lijekova, dijagnostiku i terapiju [3,4].

2.1. Povijesni razvoj

Istraživanje lektina započelo je 1888. godine kada je Stillmark izolirao ricin iz sjemena ricinusa (*Ricinus communis* L.), ovo otkriće se smatra početkom lektinologije. Stillmark je prvi primijetio sposobnost lektina da aglutiniraju eritrocite, a deset godina kasnije Elfstrand je detaljnije opisao ovu pojavu. Prilikom aglutinacije, hemaglutinini uzrokuju zgrušavanje, odnosno grupiranje eritrocita. Tijekom ovog razdoblja uslijedila su brojna istraživanja koja su se bavila otkrivanjem i opisivanjem hemaglutinina iz raznih izvora [5].

Jedan od značajnih iskoraka u istraživanju lektina dogodio se kada je James B. Sumner prvi put izolirao konkanvalin A, lektin iz sjemenki biljke *Canavalia ensiformis* L., poznatije kao konjska grahorica. Sumner je istaknuo sposobnost ovog lektina da aglutinira krvne stanice i stanice kvasca. Daljnji napredak u istraživanju lektina su postigli Boyd i Reguera, koji su otkrili da specifičnost lektina prema krvnim stanicama ovisi o krvnoj grupi i različitim životinjskim vrstama. Ovo otkriće otvorilo je put za istraživanje molekularnih mehanizama interakcije lektina s različitim stanicama [5,6].

Watkins je uvelike doprinio razumijevanju lektina otkrivši da određeni šećeri mogu inhibirati aglutinaciju lektina, čime je objasnio osnovne mehanizme njihova djelovanja. Ovo je otkriće omogućilo bolju analizu specifičnosti lektina prema različitim šećerima, što je

potaknulo daljnje istraživanje njihovih svojstava i potencijalnih primjena. Šezdesetih godina prošlog stoljeća, lektini su našli primjenu u stimulaciji limfocita posredovanom mitogenima (mali proteini ili peptidi koji sudjeluju u procesu induciranja stanične diobe), aglutinaciji malignih stanica te u pročišćavanju bioloških molekula pomoću afinitetne kromatografije [7].

Tijekom 1970-ih, istraživanja su se sve više fokusirala na molekularna svojstva lektina. Istraživači su počeli proučavati fizikalno-kemijske parametre lektina, njihov primarni slijed aminokiselina i trodimenzionalnu strukturu. Posebno je značajan doprinos dala rendgenska kristalografija visoke rezolucije koja je omogućila detaljnu analizu strukture konkanvalina A. Ova su istraživanja otvorila put za razumijevanje interakcija lektina na molekularnoj razini i pružila uvid u njihove funkcionalne sposobnosti [6,7].

1980-ih, tehnologija rekombinantne DNA revolucionirala je istraživanje lektina omogućujući molekularno kloniranje lektina iz različitih izvora. Goldstein je redefinirao lektine kao proteine koji vežu šećere ili glikoproteine neimunog porijekla. Barondes je dodatno proširio ovu definiciju uključujući sve proteine koji vežu ugljikohidrate, osim antitijela ili enzima. Do 1995. godine, najšire prihvaćena definicija opisivala je lektine kao proteine s barem jednom nekatalitičkom domenom koja se reverzibilno veže na specifične mono- ili oligosaharide. Ovaj kriterij klasifikacije, temeljene na prisutnosti specifične domene, postao je ključan u identifikaciji i primjeni lektina u različitim biološkim i medicinskim istraživanjima [7].

2.2. Strukturne karakteristike lektina

Specifičnost lektina prema ugljikohidratima temelji se na trodimenzionalnoj strukturi njihovih veznih mjesta i pokazuje očuvane aminokiselinske profile unutar obitelji lektina. Ove molekule dijele slične aminokiselinske ostatke, uključujući one koji sudjeluju u vezanju monosaharida, pri čemu većina njih koordinira metalne ione neophodne za stabilnost podjedinica i pravilno pozicioniranje ovih ostataka. Lektini također mogu vezati dodatne metalne ione te ostvarivati interakcije koje su koordinirane molekulama vode i ugljikohidratima. Ovi proteini imaju između 2 i 12 mjesta interakcija, ovisno o vrsti molekule i stupnju oligomerizacije. Razlike u strukturi lektina javljaju se od primarne strukture pa do najviših razina molekularne organizacije, pri čemu variraju u slijedu aminokiselina, broju podjedinica i prirodni polipeptida. Stabilnost ovih proteina uvelike ovisi o interakcijama među podjedinicama. Specifičnost i afinitet veznih mjesta postižu se primarno vodikovim vezama, uz

pomoć van der Waalsovih sila i hidrofobnih interakcija s aromatskim aminokiselinama koje su u blizini hidrofobnih dijelova monosaharida, što doprinosi stabilnosti i specifičnosti nastalih kompleksa [8].

Prisutnost iona u okolišu može utjecati na interakciju između lektina i ugljikohidrata, a određeni ioni mogu pojačati tu interakciju. Također, koncentracija iona može omogućiti stvaranje micela od monomera ugljikohidrata na hidrofobnim dijelovima lektina. Stabilnost kompleksa osigurava se s jednom ili više vodikovih veza. Testovi su pokazali da elektrostatske interakcije između aminokiselinskih ostataka lektina i liganada značajno olakšavaju vezanje kompleksa. Specifične interakcije poput vodikovih veza i elektrostatičkih sila, kao i nespecifične interakcije poput van der Waalsovih, doprinose čvrstoći i stabilnosti molekularnog kompleksa [8].

2.3. Klasifikacija lektina

Lektini su složeni proteini koji se mogu klasificirati prema raznim svojstvima. Najstarija klasifikacija lektina je prema podrijetlu, odnosno organizmu iz kojeg potječu pa se tako lektini dijele na biljne, životinjske, virusne, bakterijske i gljivične lektine. Ova klasifikacija je jednostavna i široko korištena, ali ne pruža dovoljno informacija o strukturi ili funkciji lektina. Drugi način klasifikacije lektina je prema monosaharidima koje prepoznaju i vežu. Neki od najčešćih šećera prema kojima se lektini klasificiraju su:

- D-galaktoza
- N-acetil-D-galaktozamin
- D-manoza
- L-fukoza
- N-acetil-D-glukozamin
- Sijalinska kiselina

Iako je ova klasifikacija bila korisna, kasnije je otkriveno da određeni lektini prepoznaju složenije saharidne jedinice ili mogu vezati više vrsta saharida jednako učinkovito [5,7].

Neke skupine lektina klasificirane su prema predloženoj funkciji ili lokaciji unutar organizma, primjerice lektini tipa C zahtijevaju prisutnost kalcijevih iona za vezanje šećera, dok lektini tipa I često ometaju staničnu signalizaciju. Za mnoge lektine, ovakva klasifikacija može biti izazovna zbog nedostatka detaljnog razumijevanja njihovih uloga [5].

Najbolji način klasifikacije lektina je prema njihovoj strukturi i strukturnim motivima vezanja šećera. Određivanje trodimenzionalne strukture lektina često je izazovno, ali s razvojem alata za pretraživanje i analizu sekvenci i strukturalne sličnosti, ovaj pristup se čini obećavajućim za budućnost [5].

3. LEKTINI U UROĐENOM IMUNOSNOM ODGOVORU

3.1. Prepoznavanje patogena

Odgovor domaćina na patogene započinje aktivacijom urođenog imunskog sustava, a kasnije uključuje stečeni imunski sustav koji se oslanja na različite citokine, kemokine i kostimulacijske signale koje izražavaju stanice koje predstavljaju antigene. T-limfociti i B-limfociti imaju ključnu ulogu u stečenom imunskom odgovoru, koji se odlikuje specifičnošću prema antigenima i sposobnošću pamćenja specifičnih patogena. Nasuprot tome, urođeni imunski sustav reagira brzo na patogene, ali bez specifičnosti ili memorije prema antigenima. Epitelne stanice posjeduju različite receptore za prepoznavanje uzoraka, PRR (engl. *pattern recognition receptors*), koji im omogućuju da reagiraju na podražaje poput izloženosti antigenu ili infekcije. Ove stanice izlučuju razne citokine i kemokine koji usmjeravaju imunsko stanice na mjesto infekcije i aktiviraju obrambene mehanizme [9,10].

Molekulski obrasci povezani s patogenom, PAMP (engl. *pathogen-associated molecular pattern*) su strukture karakteristične za određene skupine patogena, koje prepoznaju stanice urođenog imunskog sustava. Ovaj evolucijski očuvan sustav pruža prvu liniju obrane tijela protiv virusa i mikroorganizama, kao i u održavanju tjelesne ravnoteže kontroliranjem upalnih procesa i stanične smrti. Receptori poput PRR-a, koji su prisutni na brojnim stanicama domaćina, omogućuju prepoznavanje patogenih molekula kao što su PAMP-ovi, kao i molekule nastale tijekom izvanstaničnih oštećenja [9].

Među PRR-ovima su TL-receptori, TLR (engl. *toll-like receptors*), oligomerizacijski receptori koji vežu nukleotid i C-tip lektinski receptori, CLR (engl. *C-type lectins receptor*). Međutim, nepravilna ekspresija i prekomjerna aktivacija ovih PRR-a može dovesti do upalnih bolesti [9,11].

3.1.1. C-tip lektinski receptori

C-tip lektinski receptori čine široku grupu receptora koji se specifično vežu za ugljikohidrate uz prisustvo kalcija. Aktivnost lektinskog djelovanja ovih receptora je posredovana očuvanim domenama za prepoznavanje ugljikohidrata, CRD (engl. *carbohydrate recognition domain*). U

odnosu na druge PRR-ove, CLR-ovi su od posebne važnosti za antigen prezentirajuće stanice, APC (engl. *antigen presenting cells*), poput dendritičkih stanica, koje imaju ulogu u prepoznavanju, preuzimanju i obradi antigena te njihovom konačnom predstavljanju efektorskim stanicama. U usporedbi s ostalim PRR-ovima, CLR-ovi su brojniji i raznovrsniji u pogledu njihove morfologije i tipova. Oni su prisutni na površini APC-a te omogućuju prepoznavanje različitih glikozilacijskih obrazaca u antigenima, što dovodi do njihovog vezanja i preuzimanja. Na taj način, CLR ne samo da prepoznaju i preuzimaju antigene, već također prenose signale unutar stanica, pomažući makrofagima i dendritičkim stanicama u učinkovitom pokretanju urođene imunosti [9,12].

S obzirom na molekularnu strukturu, CLR-ovi se javljaju u dva oblika: topljivi i transmembranski. Topljivi CLR-ovi su posebna potklasa lektina s karakterističnim funkcijama zahvaljujući njihovoj topljivosti u plazmi i prisutnosti na sluznicama. Prepoznavanje mikroba putem topljivih CLR-ova može rezultirati njihovim uklanjanjem kroz opsonizaciju¹, aktivaciju komplementa, inicijaciju fagocitoze ili inhibiciju njihovog rasta. Topljivi CLR-ovi su također uključeni u regulaciju stečenih imunskih odgovora povezivanjem APC-a s ugljikohidratima na mikrobima. Strukturno, topljivi CLR-ovi nemaju signalne motive, a imunski odgovori se aktiviraju nakon opsonizacije fagocitnim stanicama. Topljivi CLR-ovi, koji pripadaju obitelji kolektina s kolagenom, uključuju lektin koji veže manozu, MBL (engl. *mannose-binding lectin*), plućne surfaktante proteine A i D i bubrežni kolektin 1, CL-K1 (engl. *collectin kidney 1*). U **Tablici 1.** je prikazan sažetak odabranih transmembranskih CLR-ova i njihovih funkcija [9,13,14].

¹ Opsonizacija - proces u kojem se bakterije i ostale stanice oblažu tvarima koje potiču i olakšavaju fagocitozu.

Tablica 1. Pregled odabranih CLR-ova, uključujući primjere liganda i funkcija izvedenih iz patogena koje prepoznaju. (Preuzeto i prilagođeno iz [14])

| Lektin tipa C | Gen | Grupa CLR | Patogeni koje prepoznaju | Ligandi | Funkcije |
|-----------------|--------|-----------|--|--|---|
| Dektin-2 | CLEC6A | II | <i>M. tuberculosis</i> , <i>S. enterica</i> , <i>S. mansoni</i> , <i>C. albicans</i> , <i>A. fumigatus</i> , <i>Malassezia spp.</i> | Glikani bogati manozom, α -manani, O-glikozilirani manozom-bogati glikoprotein | Prepoznavanje patogena; unos antigena |
| Mincle | CLEC4E | II | <i>M. tuberculosis</i> , <i>S. pneumoniae</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>H. pylori</i> , <i>C. albicans</i> , <i>Malassezia spp.</i> | α -Manoza, gliceroglikolipid vezan za manitol, manozil zasićene masne kiseline, TDM | Prepoznavanje patogena i nekrotičnih stanica; Indukcija proizvodnje citokina |
| DC-SIGN | CD209 | II | <i>Mycobacterium spp.</i> , <i>H. pylori</i> , <i>Lactobacillus spp.</i> , <i>Leishmania spp.</i> , HIV-1, Denga virus, Ospice, Virus gripe tipa A | Glikani bogati manozom i fukozom, Lewisovi antigeni | Prepoznavanje patogena; unos antigena; Interakcije APC/T stanica; Migracija stanica |
| DCIR | CLEC4A | II | HIV-1 | Manoza, fukoza | Inhibicija funkcija APC-a kao što je proizvodnja citokina |
| Dektin-1 | CLEC7A | V | <i>Mycobacterium spp.</i> , <i>L. infantum</i> , <i>C. albicans</i> , <i>P. carinii</i> , <i>A. fumigatus</i> , <i>C. neoformans</i> | β -1,3-glukani | Prepoznavanje patogena; Diferencijacija T-stanica |
| MMR | MRC1 | I | <i>S. pneumoniae</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>C. albicans</i> , <i>P. carinii</i> , HIV-1, Denga virus | Mannoza, fukoza, sijalil-Lewis ^x | Prepoznavanje patogena; unos antigena; adhezija stanica; fagocitoza |

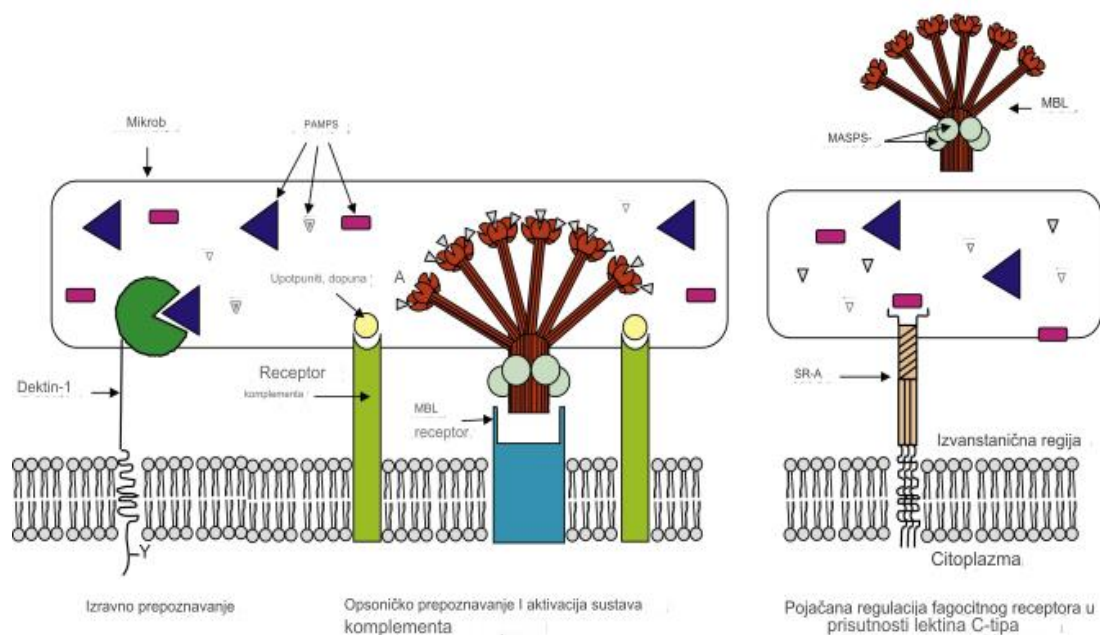
3.2. Fagocitoza

Fagocitoza je proces ovisan o aktinu, u kojem stanice odnosno fagociti okružuju i razgrađuju velike čestice, koje su uglavnom promjera većeg od 0,5 μm . Fagocitoza je filogenetski očuvana u sisavaca i razvila se u izuzetno zamršen proces. Fagocitozu je prvi opisao Ilja Mečinkov krajem 19. stoljeća, za što je kasnije dobio i Nobelovu nagradu. Mečinkova teorija o staničnom imunitetu izdržala je test vremena, no danas je poznato da je proces fagocitoze puno složeniji nego što se izvorno mislilo [15].

Fagocitne stanice su uključene u razne biološke procese, uključujući prepoznavanje i kontrolu invazivnih mikroorganizama. One su ključni sudionici u imunom odgovoru organizma. Urođeno prepoznavanje patogenih germinativnom linijom temelji se na receptorima za prepoznavanje uzoraka kodiranih germinativnom linijom. Ovi receptori mogu biti topljivi ili vezani za membranu, a prepoznaju očuvane mikrobne strukture poput bakterijskih lipopolisaharida i gljivičnih β -glukana, koji su poznati kao molekularni obrasci povezani s patogenima [15].

Topljivi PRR-ovi uključuju kolektine, fikoline, pentraksine i komplement, koji oblažu ili "opsoniziraju" infektivne agense. Ova opsonizacija omogućuje da fagociti lakše „progutaju“ patogene preko specifičnih opsoničkih receptora. Osim što olakšavaju fagocitozu, neki od ovih proteina također reguliraju ekspresiju drugih fagocitnih receptora na površini stanica, što može imati neizravan utjecaj na sposobnost stanica da prepoznaju i unose patogene [15].

S druge strane, PRR-ovi koji su vezani za membranu, izravno prepoznaju mikrobe i posreduju njihovom unosu. Lektini tipa C, kao što je Dektin-1, mogu izravno detektirati PAMP-ove na površini mikroba i na taj način posredovati u fagocitozi. Topljivi lektini tipa C, poput MBL-a mogu izravno komunicirati s patogenima i olakšati opsonizaciju mikroba, što rezultira lakšom fagocitozom putem specifičnih receptora. Osim toga, neki lektini tipa C mogu aktivirati sustav komplemenata što dovodi do njegovog taloženja na mikrobnj površini i fagocitoze posredovane receptorima sustava komplemenata. Naposljetku, lektini tipa C mogu pojačati ekspresiju drugih fagocitnih receptora, neovisno o njihovom vezanju za mikrobe, kao što je slučaj s MBL-om koji pojačava ekspresiju receptora sakupljača A, SR-A (engl. *scavenger receptor-A*) (**Slika 1.**) [15].



Slika 1. Izravno prepoznavanje, opsonizacija, aktivacija sustava komplemenata i regulacija receptora lektinima tipa C. (Preuzeto i prilagođeno iz [15])

3.3. Sustav komplemenata

Sustav komplemenata dio je humoralnog² urođenog imunskog odgovora, poznat po svojim regulatornim i efektorskim funkcijama. Ovaj sustav, koji se nalazi u tjelesnim tekućinama u neaktivnom obliku, sastoji se od aktivacijskih čimbenika, receptora i regulacijskih molekula. Njegova glavna uloga je prepoznavanje i eliminacija patogena, uklanjanje apoptotičnih stanica te regulacija upalnih procesa. Sustav komplemenata se aktivira kroz tri glavna puta: klasičnim, alternativnim i lektinskim putem. Svaki put u sustavu komplemenata aktivira se različitim signalima. Klasični put pokreću protutijela vezana za površine mikroorganizma, a do aktivacije dolazi kada se kompleksi antitijelo-antigen vežu za prvi protein u kaskadi - C1q, što dovodi do aktivacije C1r i C1s. Za razliku od klasičnog puta, koji ovisi o prisutnosti antigena, alternativni put može se spontano aktivirati, što ga čini ključnim dijelom prve linije obrane organizma protiv infekcija. Ova aktivacija može nastati spontano kroz hidrolizu molekula C3 što rezultira stvaranjem C3b koji potom pokreće kaskadu aktivacije komplemenata. Također, patogeni poput bakterija ili virusa mogu izravno ili neizravno potaknuti ovaj put, jer PAMP-ovi na površini mikroorganizama mogu djelovati u interakciji s komponentama komplemenata, što također

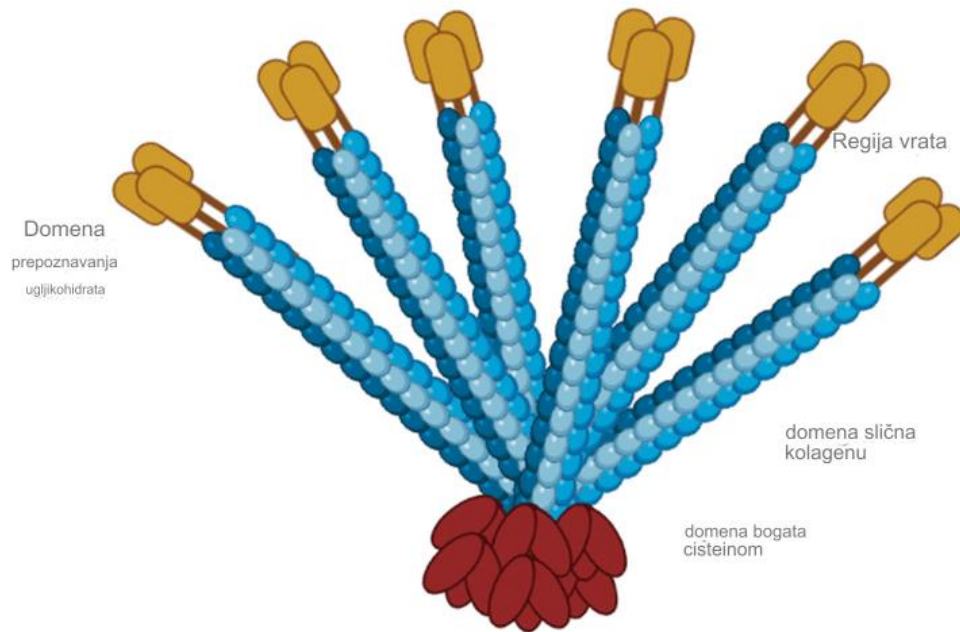
² Humoralan – odnosi se na tjelesne tekućine, kao što su krv i limfa ili je povezan s tekućinama unutar tijela.

dovodi do aktivacije puta. Lektinski put komplementa aktivira se kada se molekule za prepoznavanje uzoraka, poput MBL-a, CL-K1 i fikolina vežu za PAMP-ove, kao što su D-manoza, N-acetil-D-glukozamin, ili acetilne skupine koji se nalaze na površini patogena, ili apoptoničnih ili nekrotičnih stanica [16,17,18,19,20].

3.3.1. Lektin koji veže manozu (MBL)

MBL je ključna molekula u lektinskom putu komplementarnog sustava. Ovaj protein sintetizira se u stanicama jetre i izlučuje u krvotok u obliku velikih multimernih kompleksa. MBL pripada skupini proteina poznatih kao kolektini, koji karakteristično sadrže kolagenske domene i CRD domene. MBL se naziva lektinom tipa C zbog svoje sposobnosti da prepozna šećerne strukture ovisno o prisutnosti Ca^{2+} , uz to je poznat i kao „obrambeni kolagen“ zbog svoje važne uloge u urođenom imunosnom odgovoru i eliminaciji patogena [20,21,22].

Struktura MBL-a sastoji se od trimera koji čine identični polipeptidni lanci. Svaki lanac uključuje N-terminalnu domenu bogatu cisteinom, regiju sličnu kolagenu, spiralnu domenu vrata u obliku dvostruko uvijenih α -uzvojnica te CRD. Ove strukture međusobno su povezane disulfidnim vezama, čime formiraju osnovnu strukturnu jedinicu MBL-a. Ta strukturna jedinica dodatno se polimerizira u kompleksnije oligomerne oblike (**Slika 2.**). Iako individualni MBL trimeri nisu u potpunosti funkcionalni, dimerni i viši oligomerni oblici s tetramerima, čine glavne aktivne oblike prisutne u cirkulaciji. CRD domena MBL-a omogućava prepoznavanje i vezanje lektina za njegove ciljne molekule, dok oligomerna struktura proteina osigurava multivalentno vezanje [20,23,24].



Slika 2. Strukturne podjedinice MBL-a. (Preuzeto i prilagođeno iz [25])

MBL je sposoban prepoznati ponavljajuće sekvence ugljikohidratnih struktura na površinama raznih patogena, uključujući viruse, bakterije, gljivice, protozoe i višestanične parazite, kao i na apoptotičnim i tumorskim stanicama. Unatoč imenu lektin koji veže manozu, MBL nije specifičan samo za manozu već prepoznaje i šećere koji posjeduju 3- i 4-OH skupine u ekvatorijalnoj ravnini šećernog prstena. To uključuje glukozu, L-fukozu, N-acetilmanozamin (ManNAc) i N-acetilglukozamin (GlcNAc), ali ne i galaktozu. Osim ugljikohidrata, MBL može vezati i fosfolipide, neglikozilirane proteine i nukleinske kiseline [20].

Vežanjem na ciljne molekule, MBL izaziva niz bioloških efekata. On igra važnu ulogu u aktivaciji komplementarnog sustava lektinskim putem, djeluje kao opsonin, omogućujući opsonofagocitozu, MBL sudjeluje i u modulaciji upalnih procesa i prepoznavanju promijenjenih vlastitih struktura u tijelu. Uz to, MBL ima sposobnost modulacije proizvodnje citokina te tako može utjecati na sintezu citokina na razini mRNA kao i na razini proteina [20].

3.3.2. Fikolini

Fikolini su skupina oligomernih proteina koji se sastoje od N-terminalne domene slične kolagenu i globularne C-terminalne domene nalik fibrinogenu. Ovi novi lektini koriste fibrinogen-sličnu domenu kao svoju funkcionalnu komponentu. Fikolini su posebno osjetljivi

na spojeve s N-acetilnom skupinom, kao što je N-acetilglukozamin, koji su ključni dijelovi staničnih stijenki bakterija i gljivica, te nekih specifičnih bakterija. Poput lektina koji veže manozu (MBL), fikolini cirkuliraju u tijelu povezani sa serinskim proteazama povezanim s MBL-om [26].

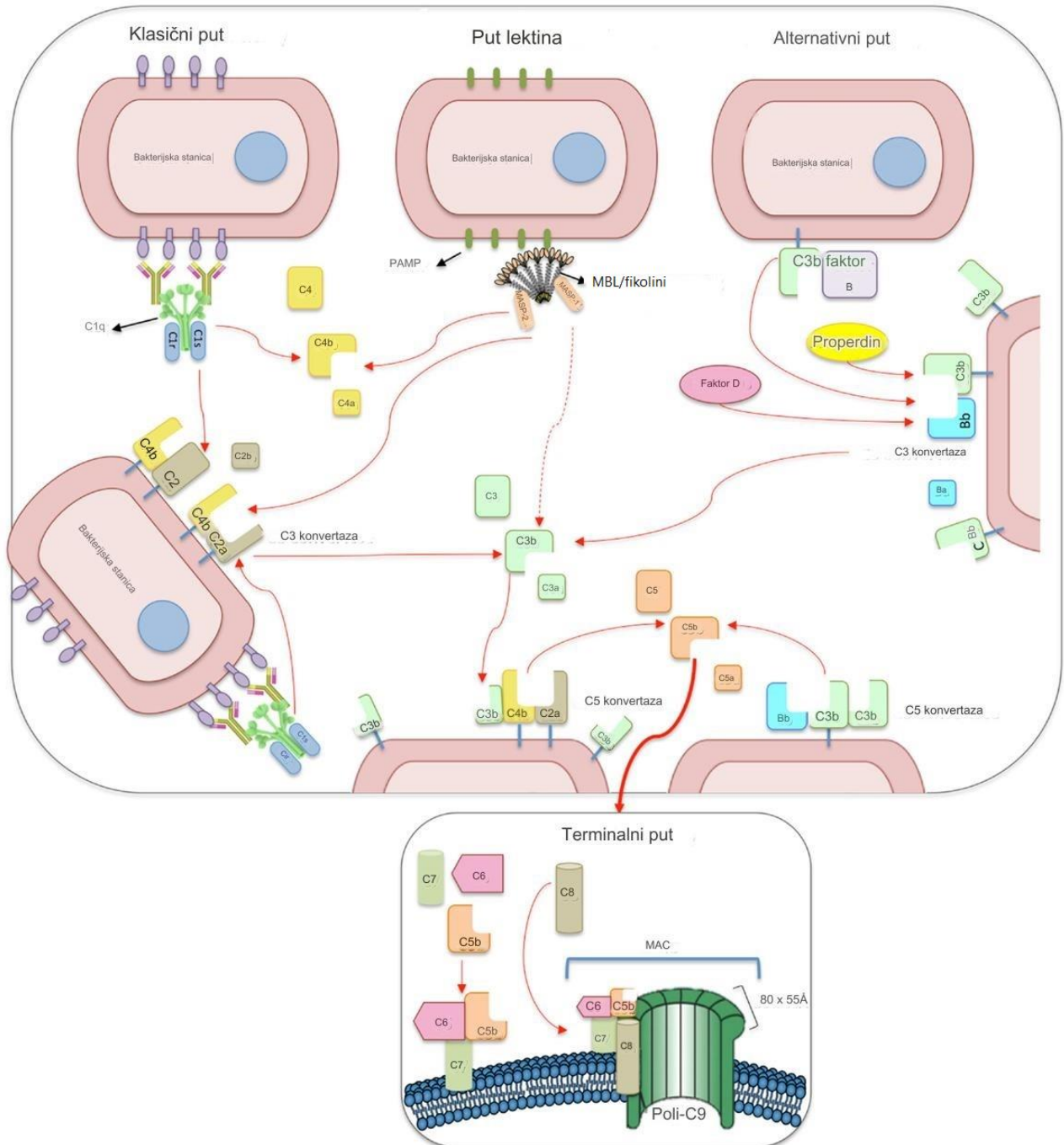
Kod ljudi su identificirane tri vrste fikolina: L-, M- i H-fikolini. Svaki od njih ima različitu ekspresiju u tkivima, lokaciju unutar stanica, specifičnost prema ligandima i sposobnost prepoznavanja bakterija, što ukazuje na to da svaki fikolin ima jedinstvenu funkciju. Također, ovi fikolini formiraju komplekse s tri vrste serinskih proteaza vezane za lektin koji veže manan, MASP (engl. *mannan-binding-lectin-associated serine proteases*) (MASP-1, MASP-2 i MASP3), kao i s dva neenzimska proteina (sMAP i MAP-1). Ovo pokazuje sofisticiranu organizaciju i regulaciju aktivacije lektinskog puta ovisnog o fikolinima [26,27].

Poput MBL-a, fikolini djeluju kao receptori za prepoznavanje uzoraka koji, u interakciji s MASP, mogu aktivirati sustav komplementa putem lektinskog puta. Ova funkcija je ključna u imunskoj obrani protiv patogena od kliničkog značaja. Osim aktivacije komplementa, fikolini doprinose borbi protiv infekcija stimulacijom makrofaga na lučenje interferona gama (IFN- γ), interleukina 6 (IL-6), interleukina 17 (IL-17), dušikovog oksida i čimbenika tumorske nekroze alfa, TNF- α (engl. *tumor necrosis factor alpha*) [20,28].

3.3.3. Lektinski put

Nakon što cirkulirajući MBL, CL-K1 i fikolini prepoznaju i vežu se za svoje ciljeve, oni formiraju komplekse s dva dimera MASP – MASP-1 i MASP-2. Nakon vezivanja, MASP-1 se automatski aktivira i pokreće aktivaciju MASP-2, što dovodi do cijepanja komplementarnih komponenti C4 i C2. Ovo cijepanje omogućuje sklapanje C3 i C5 konvertaza, ključnih enzima koji aktiviraju komponente C3 i C5 komplementarnog sustava. Aktivacija C3 i C5 rezultira stvaranjem C3a i C5a, dva pro-upalna anafilatoksina koji značajno pojačavaju upalni odgovor organizma. Fragment C3b se kovalentno veže za hidroksilne i amino skupine na površini ciljanih molekula, čime označava antigene ili patogene za opsonizaciju i prezentaciju antigena. To omogućuje njihovo učinkovito uklanjanje od strane fagocita putem interakcije s komplementarnim receptorima CR1, CR2, CR3, CR4 i CR1g. U odsustvu regulatornih proteina komplementa, broj površinski vezanih C3b molekula dodatno se pojačava putem alternativnog puta. U ovoj amplifikacijskoj petlji, faktor B se veže za C3b i cijepa ga faktor D, generirajući

alternativni put C3 konvertaze C3bBb. To vodi do ubrzanog stvaranja C3b, označavajući patogene za daljnju opsonizaciju. Konačna faza kaskade komplemenata je formiranje multiproteinskog kompleksa poznatog kao membranski napadački kompleks, MAC (engl. *membrane attack complex*) ovaj kompleks se umeće u stanične membrane, stvarajući pore koje dovode do gubitka integriteta membrane i smrti stanice (Slika 3.) [20,29,30,31].



Slika 3. Putevi aktivacije komplemenata. (Preuzeto i prilagođeno iz [20])

4. LEKTINI U STEČENOM IMUNOSNOM ODGOVORU

Galektini pripadaju obitelji životinjskih lektina koji vežu β -galaktozide. Izvan stanice, galektini se vežu za glikane na površini stanice i tako utječu na različite stanične procese. Međutim, galektini se također nalaze u citosolu i jezgri te mogu utjecati na stanične funkcije kao što su unutarstanični signalni putevi kroz interakcije protein-protein s drugim citoplazmatskim i nuklearnim proteinima. Trenutna istraživanja pokazuju da galektini imaju važnu ulogu u različitim fiziološkim i patološkim procesima, uključujući imunosne i upalne reakcije. Najranija istraživanja koja su pokazala da galektini imaju važnu ulogu u regulaciji imunosne aktivnosti uglavnom su se fokusirala na T-stanice. Ključna otkrića su pokazala sposobnost galektina da utječu na razvoj stečenog imunosnog sustava. Osim na razvoj, galektini utječu i na fazu „kontrakcije“, tijekom koje većina efektorskih stanica nestaje, a manji broj antigen-specifičnih stanica prelazi u fazu pamćenja. Proces kao što je induciranje apoptoze i aktivacija T-stanica ključni su za regulaciju imunosnih reakcija. Ova istraživanja su otkrila protuupalne funkcije mnogih galektina u gotovo svim aspektima stečenih imunosnih odgovora, sugerirajući da galektini mogu djelovati kao mehanizam negativne povratne sprege u razvoju autoimunosti kroz različite izvanstanične i unutarstanične puteve [32,33].

4.1. Aktivacija T-stanica

Otkriveno je da rekombinantni galektini uključuju niz glikoproteina koji su ključni za aktivaciju T-stanica, uključujući diferencijacijske biljege CD2, CD7, CD8, CD43, CD45 (engl. *cluster of differentiation*) i T-stanični receptor 32. To može dovesti do reorganizacije površinskih receptora, kao i promjene u strukturi membrane te promjene vremena poluživota površinskih receptora, što može utjecati na signalne mikrodomene i samu aktivaciju T-stanica [33].

Ranija istraživanja koja su proučavala ulogu galektina u funkciji T-stanica su ispitivala učinak α -1,6-manozilglikoprotein-6- β -N-acetilglukozaminiltransferaze A (Mgat5), enzima koji je odgovoran za formiranje razgranatih N-glikana s polilaktozaminskim strukturama koje obično prepoznaju galektini. U mišjem modelu eksperimentalnog autoimunog encefalomijelitisa, EAE (engl. *experimental autoimmune encephalomyelitis*) koji se koristi za istraživanje multiple skleroze, knockout miševi s inaktiviranim Mgat5 (Mgat5 „knockout“) su pokazali povećanu autoimunost i pojačanu signalizaciju receptora T-stanica, TCR (engl. *T cell*

receptor). Kada su T-stanice divljeg tipa bile inkubirane *in vitro* s laktozom, koja uklanja galektin-3 sa stanične površine, došlo je do relokacije ključnih signalnih komponenti u imunosnu sinapsu, koja je kontakt između T-stanice i APC-a, i poboljšanja signalizacije. Ovi rezultati sugeriraju da izmijenjeno vezivanje galektina na površini T-stanica kod Mgat5 knockout miševa može objasniti opažene promjene u fenotipu T-stanica [33,34,35].

Novo istraživanje pokazuje da protuupalni citokin IL-10 povećava ekspresiju Mgat5 u T-stanicama. Autori su otkrili da Mgat5 pojačava glikozilaciju TCR-a, te da povećano vezanje izvanstaničnog galektina-3 na TCR utiče na kolokalizaciju TCR-a i CD8, povisujući time prag za aktivaciju T-stanica. U miševa bez galektina-3, IL-10 nije snizio prag aktivacije T-stanica sa CD8⁺ kao što je to slučaj kod divljeg tipa miševa, što podupire pretpostavku da galektin-3 ima ulogu u podizanju praga za TCR signalizaciju [33,36].

4.2. Diferencijacija T-stanica

Unutarstanični galektin-9, slično galektinu-3, nakon aktivacije T-stanica regrutira se na citosolnu stranu imunosne sinapse. Povećana ekspresija galektina-9 dovodi do pojačane proizvodnje citokina T-stanica, kao što je IL-17, uslijed aktivacije T-stanica. Miševi s inaktiviranim galektinom-9 pokazuju smanjenu proizvodnju imunoglobulina A (IgA) nakon izlaganja antigenu oralnim putem, što je povezano s manjim brojem pomoćnih T-17 stanica (Th17) i nižim razinama IL-17. S obzirom na to da prisutnost protutijela koje inhibira IL-17 može smanjiti proizvodnju IgA, ovi rezultati ukazuju na to da galektin-9 može potaknuti proizvodnju IgA tako što potiče CD4⁺ T-stanice da se diferenciraju u Th17 stanice. Osim toga, galektini mogu utjecati na aktivaciju i diferencijaciju T-stanica preko modulacije APC [33,37].

4.3. „Kontrakcija“ T-stanica

Nakon što se T-stanice aktiviraju i prošire kao odgovor na prisutnost patogena, dolazi do smanjenja njihovog broja. Istraživanja koja su proučavala interakcije galektina s T-stanicama pokazala su da galektin-1 sudjeluje u „kontrakciji“ T-stanica. Kada se aktivirane T-stanice inkubiraju *in vitro* s galektinom-1, dolazi do apoptoze. Ova funkcija nije jedinstvena za galektin-1, jer slična istraživanja pokazuju da i drugi galektini poput galektina-2, -3, -8 i -9

također mogu imati immunosupresivnu ulogu induciranjem apoptoze u T-stanicama. Dodatna istraživanja su pokazala da intracelularni galektin-3 može inhibirati apoptozu T-stanica putem unutarstaničnih mehanizma, a otkriveno je i da galektin-3 dijeli sličnost u sekvenci s proteinom BCL-2, koji također inhibira apoptozu, i da se veže na njega [33].

U EAE modelu, sustavna primjena galektina-1 i -9 smanjuje autoimunost, što se pripisuje njihovoj sposobnosti da izazovu apoptozu autoreaktivnih T-stanica. Međutim, potrebno je oprezno tumačiti rezultate istraživanja na životinjama gdje se galektini sustavno primjenjuju. Ipak, ovi rezultati su potvrđeni eksperimentima s knockout miševima gdje je uklanjanje određenih galektina pogoršalo simptome bolesti u modelima autoimunih poremećaja. Primjerice, miševi s nedostatkom galektina-1, -8 ili -9 pokazuju ozbiljnije kliničke simptome i povećan broj Th1 i Th17 stanica u EAE modelu. Također, primijećeno je povećanje broja CD8⁺ T stanica kod knockout miševa s galektinom-9 nakon izlaganja herpes simplex virusu, što znači da regulacija sudbine T-stanica nije ograničena samo na CD4⁺ T-stanice ili autoimune bolesti. Ovi rezultati ukazuju na to da razni galektini imaju ključnu ulogu u „kontrakciji“ ukupnog broja T-stanica te otvaraju mogućnost u kojoj bi sustavna primjena galektina mogla imati terapijski potencijal u liječenju autoimunih bolesti [33,38,39].

4.4. B-stanice

Različiti mehanizmi kojima galektini mogu modulirati populaciju T-stanica također utječu na odgovore B-stanica koje su ovisne o T-stanicama. Na primjer, galektin-9 može pojačati proizvodnju IgA u plazma stanicama poticanjem diferencijacije Th17 stanica. Nasuprot tome, intracelularni galektin-3 smanjuje diferencijaciju B-stanica u plazma stanice koje proizvode IgA. To je potvrđeno istraživanjima na galektin-3 knockout miševima, gdje su peritonealne B1 stanice pokazale pojačanu diferencijaciju u plazma stanice koje proizvode IgA kada su tretirane IL-5 i transformirajućim faktorom rasta beta 1, TGFβ1 (engl. *transforming growth factor beta 1*) *in vitro*. Također, postoje dokazi da izvanstanični galektini mogu izravno utjecati na površinske glikane B-stanica, što utječe na njihovu signalizaciju, aktivaciju i diferencijaciju u stanice koje izlučuju antitijela. Na primjer, endogeni galektin-9 može se naći na površini primarnih naivnih B-stanica, gdje regulira grupiranje mikrodomena poput CD22 i CD45. To može oslabiti signalizaciju receptora B-stanica aktiviranjem SHP1 posredovanog CD45, što dovodi do smanjene aktivacije B-stanica i njihove diferencijacije u plazma stanice [33].

Promjene u glikozilaciji proteina na površini B-stanica mogu utjecati na to kako se izvanstanični galektin-1 i galektin-8 vežu za te stanice, što može utjecati na proces njihove diferencijacije. Primjerice, ako dođe do funkcionalnog oštećenja galektina-1 i galektina-8, bilo genetskim isključivanjem, smanjenjem njihove ekspresije ili primjenom specifičnih inhibitora, može doći do smanjenja diferencijacije B-stanica u plazma stanice *in vitro*. Galektin-3 može oslabiti i razvoj B-stanica u germinativnom centru. To se postiže smanjenjem proizvodnje IFN- γ i sprječavanjem diferencijacije T-folikularnih pomoćnih stanica. Istraživanja su pokazala da miševi kojima je gen za galektin-3 isključen imaju više B-stanica u germinativnom centru, više autoantitijela, i veću sklonost razvoju autoimunih bolesti sličnih lupusu. To je vjerojatno posljedica unutarnjih procesa unutar B-stanica, kao što je pokazano u eksperimentima gdje su se te stanice prenosile iz jednog organizma u drugi [33,40].

5. ULOGA LEKTINA U RAZVOJU AUTOIMUNIH BOLESTI

Biljke proizvode toksične lektine koji im služe u zaštiti protiv bolesti, gljivica insekata i plijesni. Otprilike 30 % hrane sadrži lektine, od kojih neki mogu dospjeti u krvotok jer su otporni na probavne enzime. Zbog prisutnosti raznih glikokonjugata poput glikoproteina i glikolipida na staničnim površinama, nedovoljno razgrađeni lektini mogu utjecati na zdravlje ljudi. Kada osoba s nefunkcionalnim enzimima unosi prekomjerne količine lektina, oni mogu uzrokovati manjak hranjivih tvari, ometati probavu i uzrokovati oštećenja crijeva, što uzrokuje poremećaj integriteta crijevne barijere i dovodi do nastanka različitih autoimunih bolesti. Ponovno konzumiranje određenih namirnica izaziva oštećenje sluznice tankog crijeva i omogućuje lektinima ulazak u krvotok kroz limfne čvorove. Nakon što uđu u krv, neprobavljeni lektini mogu se vezati za antigene i različite stanice tkiva, poput kolagenskog tkiva, tkiva štitnjače, gušterače i nadbubrežnog živca. Ovo vezanje može izazvati imunosni napad na lektine i tkivo za koje su lektini vezani. Imunosni napad može dovesti do autoimune reaktivnosti, a potom i do autoimune bolesti. Uobičajeni prehrambeni lektini te stanice i tkiva na koje se mogu vezati prikazani su u **Tablici 2** [41].

Tablica 2. Uobičajeni lektini iz prehrane koji se vežu za različita tjelesna tkiva i stanice.

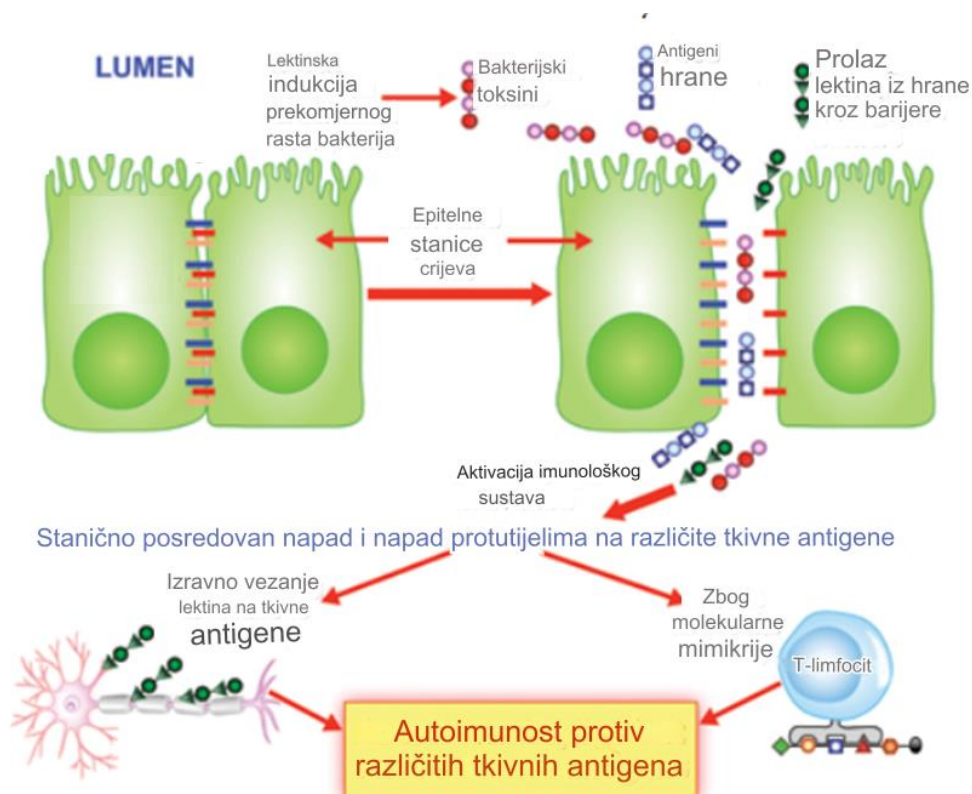
Kratice: WGA, aglutinin pšeničnih klica; SBA, aglutinin sojinog zrna; PNA, aglutinin kikirikija; LA, aglutinin leće; MA, aglutinin gljiva; TA, aglutinin rajčice; PA, aglutinin graška.
(Preuzeto i prilagođeno iz [41])

| Stanice s afinitetom prema lektinima | WGA | SBA | PNA | LA | MA | TA | PA |
|--------------------------------------|-----|-----|-----|----|----|----|----|
| Koža | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | | | |
| Nazofaringealni epitel | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | | | |
| Bukalna sluznica | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | | | |
| Želudac | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | | | |
| Parijetalne stanice | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | | | |
| Crijevna četkasta granica | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | | | |
| Kolonična sluznica | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | | | ✓ |
| Vezivno tkivo | ✓ | ✓ | ✓ | | ✓ | | ✓ |
| Štitnjača | ✓ | ✓ | ✓ | | ✓ | ✓ | ✓ |
| Hrskavica | ✓ | ✓ | ✓ | | ✓ | ✓ | ✓ |
| Jetra | ✓ | ✓ | ✓ | | ✓ | ✓ | ✓ |
| Gušterača | ✓ | ✓ | ✓ | | ✓ | ✓ | |
| Bubrezi | ✓ | ✓ | ✓ | | | | |
| Prostata | ✓ | ✓ | ✓ | | | | |
| Skeletni mišić | ✓ | ✓ | ✓ | | | | |

| | | | | | | | |
|------------------------|---|---|---|--|--|--|--|
| Srčani mišić | ✓ | ✓ | ✓ | | | | |
| Dojka | ✓ | ✓ | | | | | |
| Hipofiza | ✓ | ✓ | | | | | |
| Oko | ✓ | ✓ | | | | | |
| Mozak (mijelin) | ✓ | | | | | | |

5.1. Izazivanje autoimunosti

Prehrambeni lektini iz žitarica, mahunarki i povrća povećavaju propusnost crijeva što omogućava povećani prolaz bakterijskih i prehrambenih antigena, kao i lektina, iz crijeva u druge dijelove tijela. Lektini također djeluju na različite dijelove imunskog sustava, stimuliraju proliferaciju T stanica i proizvodnju upalnih citokina, poput IL-1, TNF- α i IFN- γ koji mogu olakšati autoimuni proces. Shematski prikaz interakcija prehrambenih lektina s crijevima i imunskim sustavom i njihov doprinos upalama i autoimunosti prikazan je na **Slici 4** [41].



Slika 4. Interakcija lektina iz hrane s crijevima i imunskim sustavom i njihov doprinos upalama i autoimunosti. (Preuzeto i prilagođeno iz [41])

Prehrambeni lektini, bakterijski toksini i proteini, nakon ulaska u krvotok, se vežu za različite antigene u tkivima jetre, gušterače, srčanog mišića, prostate, dojke i mozga. To vezanje može potaknuti imunski sustav da reagira na te antigene stvaranjem protutijela protiv lektina, drugih prehrambenih antigena i bakterijskih toksina zbog unakrsne reakcije između različite hrane i bakterijskih antigena s ljudskim tkivom. Ovaj proces, poznat kao molekularna mimikrija, može dovesti do razvoja autoimunih bolesti. Stanični napad i napad protutijela protiv tkivnih antigena vezanih za lektine ili tkivnih antigena koji dijele značajnu sekvencu aminokiselina s hranom i bakterijskim antigenima imaju vrlo veliku ulogu u razvoju autoimunosti putem molekularne mimikrije [41].

Razumijevanje čitavog procesa i mehanizma odgovornog za indukciju autoimunosti može pomoći liječnicima u dizajniranju tretmana za prevenciju autoimunih bolesti izazvanih lektinima. Primjerice, u slučajevima autoimunosti stanica otočića ili autoimunosti štitnjače, lektini stimuliraju humane leukocitne antigene, HLA (engl. *human leucocyte antigens*) klase II, koje ih obično ne pokazuju. Stanice otočića imaju vrlo specifičnu disaharidnu determinantu zvanu N-acetilglukozamin, na koju se vežu lektini pšenice, kikirikija, soje, krumpira i rajčice. Ovo vezanje dovodi do toga da stanice otočića zajedno ekspimiraju HLA-ove klase II i strane antigene, stvarajući situaciju u kojoj je pojedinac laka meta za autoimuni napad. Kao rezultat toga, citotoksična protutijela koja se vežu za stanice otočića i lektine dovode do uništenja β -stanica otočića [41].

Smatra se da je reumatoidni artritis bolest povezana s lektinima. Normalna molekula IgG ima bočni lanac ugljikohidrata na čijem se kraju nalazi galaktoza. Kod reumatoidnog artritisa nedostaje veliki dio galaktoze pa je umjesto njega izložen subterminalni šećer N-acetilglukozamin. Zato je aglutinin pšenične klice, koji je specifičan za N-acetilglukozamin, jedan od okidača reumatoidnog artritisa. Ova činjenica upućuje na to da bi dodaci prehrani s oligomerima N-acetilglukozamina mogli biti učinkoviti za liječenje reumatoidnog artritisa [41].

6. PRIMJENE U BIOMEDICINI

Različiti lektini, a posebice biljni, imaju svojstva koja omogućavaju njihovu primjenu u medicini zbog njihovih specifičnih interakcija i afiniteta. Posebno su važni u liječenju i upravljanju bolesti povezanih s rakom, jer maligne promjene u stanicama pokazuju povećanu interakciju s lektinima iz mahunarki. Korištenje biljnih lektina u biomedicini može se podijeliti na dijagnostiku i terapiju [42].

6.1. Dijagnostika

Biljni lektini pokazuju afinitet prema izmijenjenim glikanima prisutnim na površini stanica koji su karakteristična posljedica abnormalne glikozilacije uzrokovane bolestima raka. Zbog toga su se u ranim istraživanjima koristili kao biljezi stanične površine u biokemijskim ispitivanjima. Napretkom znanstvenih istraživanja, pronađeni su načini za ublažavanje toksičnosti biljnih lektina pa se njihova primjena proširila i na istraživanja *in vivo*. Danas se biljni i endogeni lektini životinjskog podrijetla koriste kao ključni dijagnostički, prognostički i terapijski alati za rak, zahvaljujući sposobnosti otkrivanja malignih stanica [42].

U kliničkoj praksi, serološki testovi koji se temelje na lektinima koriste se za otkrivanje i kvantificiranje glikana u serumu pacijenata oboljelih od raka. Ovi testovi omogućuju dijagnozu, praćenje kliničkog tijeka terapije, rano otkrivanje recidiva i prognozu. Neki biljni lektini koriste se kao specifični markeri u mnogim vrstama raka. Na primjer, aglutinin kikirikija koristi se za identifikaciju specifičnih subpopulacija hematopoetskih stanica, lektin iz biljke *Parkia pendula* (Willd.) Benth. ex Walp. koristi se kao marker za karakterizaciju meningotelnih tumorskih tkiva. Kada se lektini koriste u kombinaciji s fluorescentnim markerima, zahvaljujući svojoj visokoj specifičnosti, mogu se koristiti za detekciju širenja tumora. Tumorska tkiva koja su zahvaćena pojavljuju se kao obojena područja u testovima [42].

6.2. Terapija

6.2.1. Antitumorska aktivnost

Prva primjena biljnih lektina u terapiji proizlazi iz njihove citotoksične sposobnosti uzrokovanja programirane stanične smrti (apoptoze i/ili autofagije) povezane s njihovim afinitetom prema malignim stanicama. Brojna istraživanja su potvrdila da mnogi biljni lektini imaju izravan antikancerogeni učinak na različite vrste stanica raka. Međutim, ova istraživanja je potrebno nastaviti kako se otkrivaju novi lektini i stanične linije raka, s obzirom na to da različiti lektini imaju različite specifičnosti i izazivaju različite reakcije, dok neke vrste raka pokazuju otpornost prema određenim specifičnim lektinima [42].

Konkanavalin A ima sposobnost induciranja apoptoze i autofagije, uz to ima i antiangiogene sposobnosti. Drugi primjeri citotoksičnog antitumorskog učinaka biljnih lektina uključuju lektin *Polygonatum Odoratum*, (Mill.) Druce, za koji je otkriveno da izaziva znakove apoptoze u stanicama raka pluća A549 bez utjecaja na zdrave plućne stanice te lektin korejske imele koji uzrokuje apoptozu u stanicama ljudskog hepatokarcinoma. Također, aglutinin iz crne bazge (*Sambucus nigra*, L.) pokazuje selektivnost prema stanicama raka jajnika i inducira njihovu staničnu smrt disfuzijom mitohondrija [42,43,44].

Postoji mnogo različitih puteva te, unutar tih puteva, različiti načini na koje biljni lektini induciraju svoju aktivnost, čak i kada pripadaju istoj obitelji lektina ili djeluju na isti tip stanica raka. To je jedan od razloga zašto je njihova primjena u liječenju raka toliko privlačna, ako je jedan put neučinkovit u izazivanju programirane stanične smrti u određenim vrstama stanične linije raka, drugi lektini iz iste ili različitih obitelji mogu biti učinkoviti [42].

6.2.2. Lektini u isporuci lijekova

Lektini mogu različito komunicirati s različitim stanicama i mogu djelovati kao prijenosnici lijekova specifično za željene stanice i tkiva. Da bi se mogli koristiti u isporuci lijekova, lektini moraju imati sposobnost snažnog vezanja, nisku toksičnost i specifičnost prema ciljanim molekulama. Lektini mogu djelovati na površini stanice ili se internalizirati putem endocitoze posredovane receptorima. Ove molekule ne samo da omogućuju ciljano vezanje, već također mogu olakšati unos lijeka kojim posreduje stanica. Istraživanja su pokazala da oralna primjena

inzulina uhvaćenog u mikročestice funkcionalizirane površinskim lektinom može produžiti trajanje hipoglikemijskog učinka u štakora s dijabetesom u odnosu na slobodan inzulin. Slična istraživanja su pokazala da kovalentna modifikacija površine mikročestica koje sadrže derivat kemoterapijskog lijeka gemcitabina s aglutininom pšeničnih klica omogućava dulje vezanje na urotelne stanice; vezane mikročestice izdržale su opsežno ispiranje i poboljšano antiproliferativno djelovanje [45].

Liposomi modificirani s konkanvalinom A pokazali su značajno bolju adheziju na stanične membrane u odnosu na liposome bez lektina. Ova adhezija praćena fuzijom vezikula je bila veća i za liposome konjugirane konkanvalinom A nego za nemodificirane liposome. Dodatno, mikrosfere konjugirane konkanvalinom A pokazale su značajno veću stopu pričvršćivanja u usporedbi s nekonjugiranim mikrosferama i mogle su kontrolirati oslobađanje lijeka amoksicilin-trihidrata u simuliranim gastrointestinalnim tekućinama [45,46].

Plutajuće mikročestice s mukoadhezivnim svojstvima, koje sadrže etilcelulozu i hitozan, napunjene su antibiotikom klaritromicinom i vezane s konkanvalinom A kako bi se stvorio nosač lektin-lijek za borbu protiv *Helicobacter pylori*. Vezivanje nije utjecalo na uzgon i oslobađanje klaritromicina iz mikrosfera pomoću modela difuzije sluzi. Oko 40 % lijeka oslobođeno je iz nekonjugiranih i konjugiranih mikrosfera unutar 12 sati. Vezivanje lektina poboljšalo je mukoadheziju i interakciju sa svinjskim želučanim mucinom u usporedbi s nekonjugiranim mikrosferama [45].

Lektini iz sjemenki graška (*Pisum sativum*, L.) inkapsulirani su u alginatna mikroznaca kako bi se koristili za oralnu primjenu lijeka protiv hepatocelularnog karcinoma; rezultati su pokazali da otpuštanje lektina iz mikroznaca ovisi o različitim čimbenicima uključujući nosače koji stvaraju mikroznaca i količinu inkapsuliranih lektina [45,47].

7. ZAKLJUČAK

Lektini su proteini s ključnom ulogom u imunskim odgovorima. Od njihovog otkrića pa sve do modernih istraživanja o njihovim funkcijama, lektini su se pokazali kao izrazito važne komponente urođenog i stečenog imunskog sustava. U urođenom imunskom odgovoru lektini omogućuju prepoznavanje patogena što potiče obrambene mehanizme organizma. Lektinski put sustava komplementa, aktiviran vezanjem lektina na patogene, pokreće kaskadu reakcija koje vode do opsonizacije, pojačavanja upalnog odgovora organizma i eliminacije patogena. Osim toga, lektini tipa C olakšavaju fagocitozu i aktivaciju komplementa, čime pojačavaju imunski odgovor. Galektini su ključni regulatorni proteini u stečenom imunskom odgovoru, gdje igraju važnu ulogu u aktivaciji, diferencijaciji i „kontrakciji“ T-stanica, kao i u funkcijama B-stanica. S druge strane, prehrambeni lektini mogu imati nepovoljne posljedice na zdravlje. Naime, nedovoljno razgrađeni lektini mogu povećati propusnost crijeva i omogućiti ulazak štetnih tvari u tijelo, što dovodi do narušavanja crijevne barijere i potencijalno izaziva autoimune bolesti.

8. POPIS KRATICA

APC – antigen prezentirajuće stanice (engl. *antigen presenting cells*)

CD – diferencijacijski biljeg (engl. *cluster of differentiation*)

CL-K1 – bubrežni kolektin 1 (engl. *collectin kidney 1*)

CLR – C-tip lektinski receptori (engl. *C-type lectins receptor*)

CRD – domena za prepoznavanje ugljika (engl. *carbohydrate recognition domain*)

EAE – eksperimentalni autoimuni encefalomijelitis (engl. *experimental autoimmune encephalomyelitis*)

HLA – humani leukocitni antigeni (engl. *human leucocyte antigens*)

IFN- γ – interferon gama

IG – imunoglobulin

IL - interleukin

MAC – membranski napadački kompleks (engl. *membrane attack complex*)

MASP – serinska proteaza vezana za lektin koji veže manan (engl. *mannan-binding-lectin-associated serine proteases*)

MBL – lektin koji veže manozu (engl. *mannose-binding lectin*)

Mgat5 – α -1,6-manozilglikoprotein-6- β -N-acetilglukozaminiltransferaza (engl. *alpha-1,6-mannosylglycoprotein 6-beta-N-acetylglucosaminyltransferase*)

PAMP – molekularni obrasci povezani s patogenom (engl. *pathogen-associated molecular pattern*)

PRR – receptori za prepoznavanje uzoraka (engl. *pattern recognition receptors*)

SR-A – receptor sakupljača A (engl. *scavenger receptor-A*)

TCR – receptor T-stanica (engl. *T-cell receptor*)

TGF β 1 – transformirajući faktor rasta beta 1 (engl. *transforming growth factor beta 1*)

TLR – TL-receptori (engl. *toll-like receptors*)

TNF- α – čimbenik tumorske nekroze alfa (engl. *tumor necrosis factor alpha*)

9. LITERATURNI PREGLED

1. HeMED. URL: <https://hemed.hr/Default.aspx?sid=17094> (25.7.2024.).
2. J. M. Berg, J. L. Tymoczko, L. Stryer, *Biokemija*, Školska knjiga, Zagreb, **2013**. p. 945.
3. K. Muramoto, Lectins as Bioactive Proteins in Foods and Feeds. *Food Sci Technol Res.* **2017**, *23*, 487-494. DOI: <https://doi.org/10.3136/fstr.23.487>
4. R. Hamid, A. Masood, I. H. Wann, S. Rafiq, Lectins: Proteins with Diverse Applications, *J. Appl. Pharm. Sci.*, **2013**, *3(4)*, 93-103. DOI: [10.7324/JAPS.2013.34.S18](https://doi.org/10.7324/JAPS.2013.34.S18)
5. J. Houser, Structure-functional studies of lectins from pathogenic organisms, Ph.D. Dissertation, Masaryk University, **2014**.
6. M. Tsaneva, E. J. M Van Damme, 130 years of Plant Lectin Research, *Glycoconj J.*, **2020**, *37*, 533-551. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10719-020-09942-y>
7. A. Yousra El-Maradny, M. Esmail El-Fakharany, M. Marwa M. Abu-Serie, H. Mona Hashish, S. Heba Selim, Lectins purified from medicinal and edible mushrooms: Insights into their antiviral activity against pathogenic viruses, *Int. J. Biol. Macromol.*, **2021**, *179*, 239-258. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.03.015>
8. A. F. S. Santos, M. D. C. da Silva, T. H. Napoleão, P. M. G. Paiva, M. T. S. Correia, L. C. B. B. Coelho, Lectins: Function, structure, biological properties and potential applications, *Curr. Top. Pept. Protein Res.*, **2014**, *15*, 42-62.
9. S. Y. Jung, S. S. Kim, Y. H. Kim, H. Y. Chung, S. H. Kim, S. G. Yeo, Expression, Distribution, and Role of C-Type Lectin Receptors in the Human and Animal Middle Ear and Eustachian Tube: A Review, *Molecules*, **2018**, *23*, 734-738.
10. M. A. Willart, K. Deswarte, P. Pouliot, H. Braun, R. Beyaert, B. N. Lambrecht, H. Hammad, Interleukin-1 α controls allergic sensitization to inhaled house dust mite via the epithelial release of GM-CSF and IL-33, *J. Exp. Med.* **2012**, *209*, 1505-1517.
11. K. A. Kigerl, J. P. de Rivero Vaccari, W. D. Dietrich, P. G. Popovich, R. W. Keane, Pattern recognition receptors and central nervous system repair. *Exp. Neurol.* **2014**, *258*, 5-16. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2014.01.001>

12. B. Lepenies, J. Lee, S. Sonkaria, Targeting C-type lectin receptors with multivalent carbohydrate ligands. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2013**, *65*, 1271-1281.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.addr.2013.05.007>
13. K. Drickmaer, M. E. Taylor, Recent insights into structures and functions of C-type lectins in the immune system. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2015**, *34*, 26-34.
14. S. Mayer, M. K. Raulf, B. Lepenies, C-type lectins: their network and roles in pathogen recognition and immunity, *Histochem Cell Biol.* **2017**, *147*, 223-237.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s00418-016-1523-7>
15. A. M. Kerrigan, G. D. Brown, C-type lectins and phagocytosis, *Immunobiology*, **2009**, *214*, 562-75. DOI: <https://doi.org/10.1016%2Fj.imbio.2008.11.003>
16. *Hrvatska enciklopedija, mrežno izdanje*. Leksikografski zavod Miroslav Krleža, 2013. – 2024. URL: <https://www.enciklopedija.hr/clanak/humoralan> (5.9.2024.)
17. Britannica, The Editors of Encyclopaedia. "complement". *Encyclopedia Britannica* <https://www.britannica.com/science/complement-immune-system-component>. (5.9.2024.)
18. Assay Genie <https://www.assaygenie.com/blog/alternative-complement-pathway> (5.9.2024.)
19. K. Parej, Activation and regulation of the lectin pathway of the complement system and the direct cell-activating effect of proteases, Doctoral Thesis, Doctoral School of Eötvös Loránd University, **2014**.
20. M. H. Beltrame, S. J. Catarino, I. Goeldner, A. B. W. Boldt, I. J. de Messias-Reason, The lectin pathway of complement and rheumatic heart disease, *Front. Pediatr.*, **2015**, *2*, 1-14.
DOI: <https://doi.org/10.3389/fped.2014.00148>
21. P. H. Jensen, I. Laursen, F. Matthiesen, P. Højrup, Posttranslational modifications in human plasma MBL and human recombinant MBL, *Biochim Biophys Acta*, **2007**, *1774*, 335-344. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2006.12.008>
22. S. S. Bohlson, D.A. Fraser, A.J. Tenner, Complement proteins C1q and MBL are pattern recognition molecules that signal immediate and long-term protective immune functions, *Mol Immunol*, **2007**, *44*, 33-43. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2006.06.021>

23. F. Larsen, H. O. Madsen, R. B. Sim, C. Koch, P. Garred, Disease-associated mutations in human mannose-binding lectin compromise oligomerization and activity of the final protein, *J Biol Chem*, **2004**, *279*, 21302–21311. DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.m400520200>
24. C. B. Chen, R. Wallis, Stoichiometry of complexes between mannose-binding protein and its associated serine proteases. Defining functional units for complement activation. *J Biol Chem*, **2001**, *276*, 25894–25902. DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.m103539200>
25. https://www.researchgate.net/figure/The-multimeric-structure-of-mannose-binding-lectin-MBL_fig1_350006921 (19.7.2024.)
26. E. Yuichi, M. Matsushita, T. Fujita, The role of ficolins in the lectin pathway of innate immunity, *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, **2011**, *43*, 705-712.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2011.02.003>
27. C. P. Mason, A. W. Tarr, Human Lectins and Their Roles in Viral Infections, *Molecules*, **2015**, *20*, 2229-2271. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules20022229>
28. Y. Ren, Q. Ding, X. Zhang, Ficolins and infectious diseases, *Virol Sin*, **2014**, *29*, 25–32.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s12250-014-3421-2>
29. Hrvatsko strukovno nazivlje URL: <http://struna.ihjj.hr/naziv/opsonizacija/26386/>
(5.9.2024.)
30. S. E. Degn, J. C. Jensenius, M. Bjerre, The lectin pathway and its implications in coagulation, infections and auto-immunity, *Curr Opin Organ Tran*, **2011**, *16*, 21-27.
DOI: <https://doi.org/10.1097/mot.0b013e32834253df>
31. D. Heja, A. Kocsis, J. Dobo, K. Szilágyi, R. Szász, P. Závodszyb, G. Pála, P. Gál, Revised mechanism of complement lectin-pathway activation revealing the role of serine protease MASP-1 as the exclusive activator of MASP-2, *PNAS*, **2012**, *109*, 10498-10503.
DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1202588109>
32. R. Y. Yang, G. A. Rabinovich, F. T. Liu, Galectins: structure, function and therapeutic potential. *Expert Rev Mol Med*, **2013**, *10*, e17, 1-24.
33. F. T. Liu, S. R. Stowell, The role of galectins in immunity and infection, *Nat. Rev. Immunol.*, **2023**, *23*, 479-494. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41577-022-00829-7>

34. S. R. Stowell, M. Dias-Baruffi, L. Pentillä, O. Renkonen, A. K. Nyame, R. D. Cummings, *Glycobiology*, **2004**, *14*, 157-167. DOI: <https://doi.org/10.1093/glycob/cwh018>
35. M. Demetriou, M. Granovsky, S. Quaggin, J. W. Dennis, Negative regulation of T-cell activation and autoimmunity by Mgat5 N-glycosylation, *Nature*, **2001**, *409*, 733-739. DOI: <https://doi.org/10.1038/35055582>
36. K. L. Smith et. al., Interleukin-10 directly inhibits CD8⁺ T cell function by enhancing N-glycan branching to decrease antigen sensitivity, *Immunity*, **2018**, *48*, 299-312. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2018.01.006>
37. H. Y. Chen. et al., Intracellular galectin-9 enhances proximal TCR signaling and potentiates autoimmune diseases, *J. Immunol.*, **2020**, *204*, 1158-1172. DOI: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1901114>
38. M. A. Toscano et al., Differential glycosylation of TH1, TH2 and TH-17 effector cells selectively regulates susceptibility to cell death, *Nat. Immunol.*, **2007**, *8*, 825-834. DOI: <https://doi.org/10.1038/ni1482>
39. P. B. Reddy et al., Influence of galectin-9/Tim-3 interaction on herpes simplex virus-1 latency, *J. Immunol.*, **2011**, *187*, 5745-5755. DOI: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1102105>
40. C. M. Tsai et al., Galectin-1 and galectin-8 have redundant roles in promoting plasma cell formation, *J. Immunol.*, **2011**, *187*, 1643-1652. DOI: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1100297>
41. A. Vojdani, Lectins, agglutinins, and their roles in autoimmune reactivities, *Altern Ther Health Med.*, **2015**, *21*, 42-47.
42. D. J. B. Pires, Active targeted therapy to cancer diseases mediated by lectins, Master Thesis, Universidade de Lisboa, **2017**.
43. T. Yau, X. Dan, C. C. W. Ng, T. B. Ng, Lectins with Potential for Anti-Cancer Therapy, *Molecules*, **2015**, *20*, 3791-3810.
44. S. R. Chowdury, U. Ray, B. P. Chatterjee, S. S. Roy, Targeted apoptosis in ovarian cancer cells through mitochondrial dysfunction in response to *Sambucus nigra* agglutinin, *Cell Death Dis.*, **2017**, *8*, e2762. DOI: <https://doi.org/10.1038/cddis.2017.77>

45. L. C. B. B. Coelho et. al., Lectins, Interconnecting Proteins with Biotechnological/ Pharmacological and Therapeutic Applications, *Evid Based Complement Alternat Med.*, **2017**, *2017*, 1594074. DOI: [10.1155/2017/1594074](https://doi.org/10.1155/2017/1594074)

46. H. Bakowsky, T. Richter, C. Kneuer, D. Hoekstra, U. Rothe, G. Bendas, C. Ehrhardt, U. Bakowsky, Adhesion characteristics and stability assessment of lectin-modified liposomes for site-specific drug delivery, *BBA-Biomembranes*, **2008**, *1778*, 242-249.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2007.09.033>

47. M. R. El-Aassar, E. E. Hafez, N. M. El-Deeb, M. M. G. Fouda, Microencapsulation of lectin anti-cancer agent and controlled release by alginate beads, biosafety approach, *Int J Biol Macromol.* **2014**, *69*, 89-94. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.05.031>