

**Universidade de Lisboa  
Faculdade de Farmácia**



**Envolvimentos das lectinas nas doenças  
infecciosas.  
Risco-Benefício!**

**Inês Beirão de Campos**

Monografia orientada pela Professora Doutora Ana Cristina F. C. Ribeiro,  
Professora Auxiliar.

**Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas**

**2024**



**Universidade de Lisboa  
Faculdade de Farmácia**



**Envolvimentos das lectinas nas doenças  
infecciosas.  
Risco-Benefício!**

**Inês Beirão de Campos**

**Trabalho Final de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas  
apresentado à Universidade de Lisboa através da Faculdade de Farmácia**

Monografia orientada pela Professora Doutora Ana Cristina F. C. Ribeiro,  
Professora Auxiliar.

**2024**

Declaro ter desenvolvido e elaborado o presente trabalho em consonância com o Código de Conduta e de Boas Práticas da Universidade de Lisboa. Mais concretamente, afirmo não ter incorrido em qualquer das variedades de fraude académica, que aqui declaro conhecer, e que atendi à exigida referência de frases, extratos, imagens e outras formas de trabalho intelectual, assumindo na íntegra as responsabilidades da autoria.

# Resumo

As doenças infecciosas constituem um conjunto de doenças que incluem todas as doenças causadas por um agente patogénico como as bactérias, vírus ou fungos. Com o passar dos anos, estas doenças têm vindo a representar uma crescente preocupação para a saúde pública, agravada pelo aparecimento de novos agentes patogénicos e pelo aumento da resistência a fármacos antimicrobianos. Dada esta realidade torna-se essencial a investigação das etapas associadas ao mecanismo de infeção destes microrganismos e possíveis alvos terapêuticos.

Os glicanos encontram-se frequentemente ligados a proteínas e/ou lípidos, e constituem os ligandos para proteínas específicas, designadas lectinas. As lectinas são proteínas com uma capacidade específica para se ligarem a hidratos de carbono, não tendo atividade enzimática nem origem imunológica. Desde as bactérias até aos mamíferos, encontram-se em vários organismos e apresentam uma diversidade notável de estruturas e funções. Os glicanos e lectinas desempenham papéis cruciais no funcionamento das células, órgãos e no sistema imunitário de animais e humanos. Até hoje, as lectinas de plantas foram as mais estudadas e, por isso, estão melhor caracterizadas, fornecendo dados essenciais sobre a dinâmica da interação com diferentes glicanos. Embora os estudos sobre lectinas microbianas sejam menos extensos do que os das plantas e dos animais, estes oferecem perceções valiosas sobre os mecanismos de infeção. Os avanços recentes na investigação em glicobiologia indicam que estas moléculas medem interações-chave na interface entre o agente patogénico e o hospedeiro, controlando a adesão às células hospedeiras e promovendo toxicidade. Esta dissertação examina em profundidade as interações entre glicanos e lectinas no contexto das infeções patogénicas, destacando as oportunidades terapêuticas emergentes. São analisadas as lectinas utilizadas por agentes patogénicos como o fungo *Aspergillus fumigatus* e a bactéria *Escherichia coli* uropatogénica, bem como o papel crucial das glicoproteínas nos vírus SARS-CoV-2 e HIV. A compreensão detalhada destes mecanismos permitiu a descoberta e síntese de potentes inibidores da adesão patogénica, que, apesar de ainda se encontrarem em fases experimentais, podem vir a representar uma nova geração de agentes terapêuticos promissores para o tratamento eficaz destas doenças.

**Palavras chave:** Lectinas; Glicanos; Doenças infecciosas; Agentes patogénicos

# Abstract

Infectious diseases are a group of illnesses that include all diseases caused by a pathogenic agent, such as bacteria, viruses or fungi. Over the years, these diseases have become a growing concern for public health, aggravated by the emergence of new pathogens and increased resistance to antimicrobial drugs. Given this reality, it is essential to investigate the steps associated with the infection mechanism of these microorganisms and potential therapeutic targets.

Glycans are often linked to proteins and/or lipids, which can act as ligands for specific proteins that bind to glycans, known as lectins. Lectins are non-immunogenic proteins with a specific ability to bind to carbohydrates but have no enzymatic activity. From bacteria to mammals, they are found in various organisms and have a remarkable diversity of structures and functions. Glycans and lectins play crucial roles in the functioning of cells, organs and the immune system of animals and humans. To date, plant lectins have been the most studied and are therefore the best characterised, providing essential data on the dynamics of interaction with different glycans. Although studies on microbial lectins are less extensive than those on plants and animals, they offer valuable insights into infection mechanisms. Recent advances in glycobiology research indicate that these molecules mediate key interactions at the interface between pathogen and host, controlling adhesion to host cells and promoting toxicity. This dissertation analyses in depth the interactions between glycans and lectins in the context of pathogenic infections, highlighting emerging therapeutic opportunities. Lectins used by pathogens such as the fungus *Aspergillus fumigatus* and the uropathogenic bacterium *Escherichia coli* are analysed, as well as the crucial role of glycoproteins in the SARS-CoV-2 and HIV viruses. A detailed understanding of these mechanisms has led to the discovery and synthesis of potent inhibitors of pathogen adhesion, which, although still in their early stages, may represent a new generation of promising therapeutic agents for the effective treatment of these diseases.

**Keywords:** Lectins; Glycans; Infectious diseases; Pathogens

# Abreviaturas

ACE2: enzima conversora da angiotensina 2

AFL: Lectina do *Aspergillus fumigatus*

CD: Células Dendríticas

CFU: Unidade Formadora de Colónia

CLR: Recetores lectinas tipo-C

ConA: *Concanavalina A*

CRD: Domínio de Reconhecimento de Hidratos de carbono

CVN: Cianovirina-N

DHN: Di-hidroxinaftaleno

E.coli: *Escherichia coli*

EGF: Fator de crescimento epidérmico

Fuc: Fucose

Gal: Galactose

GalNAc: N-acetilgalactosamina

Glc: Glicose

GlcA: Ácido glicorónico

GlcNAc: N-acetilglicosamina

GlcNH<sub>2</sub>: Glicosamina

GPI: Glicosilfosfatidilinositol

GRFT: “Griffithsin”

HIV: Vírus da imunodeficiência humana

IdoA: Ácido idurónico

ITU: Infecção trato urinário

LacNAc: N-acetilactosamina

LysM: Motivo da lisina

mAbs: Anticorpos monoclonais

Man: Manose

MBP: Bolsa de ligação à manose

MeLec: Lectina do tipo C sensível à melanina

NTD: Domínio N-terminal

OMS: Organização Mundial de Saúde

OVA: Ovalbumina

PAMPs: Padrões moleculares associados a agentes patogénicos

PBS: Tampão fosfato salino

PMNs: Leucócitos Polimorfonucleares

PRR: Recetores de reconhecimento de padrões

RAM: Resistência a medicamentos antimicrobianos

RBD: Domínio de ligação ao recetor

RE: Reticulo endoplasmático

SARS-CoV-2: Conoravírus 2 da Síndrome Respiratória Aguda Grave

SBL: Lectina de Soja “soybean lectin”

Sia: Ácido siálico

SIDA: Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

TSR: Repetição de tipo I da trombospondina

UP: Uroplaquinas

UPEC: E.coli uropatogénica

WGA: Aglutinina de *Wheat Germ*

Xyl: Xilose

## Índice

1	Objetivos .....	12
2	Métodos.....	13
3	Introdução .....	14
4	Lectinas, uma visão geral.....	18
4.1	História e definição .....	18
4.2	Características gerais e classificação das lectinas.....	19
4.2.1	Classificação quanto à sua estrutura .....	20
4.2.2	Classificação quanto à especificidade ao hidrato de carbono .....	22
4.2.3	Classificação quanto à sua evolução genética .....	24
4.3	Mecanismo molecular de ligação das lectinas ao hidrato de carbono .....	28
4.4	Lectinas nos diferentes organismos .....	29
4.4.1	Funções das lectinas nos diferentes organismos .....	29
4.5	Papel das lectinas nos processos patogênicos humanos .....	31
4.5.1	Papel das lectinas em doenças fúngicas.....	31
4.5.1.1	Terapêutica antifúngica envolvendo lectinas.....	33
4.5.2	Papel das lectinas em doenças bacterianas .....	34
4.5.2.1	Terapêutica antibiótica envolvendo glicanos.....	38
4.5.3	Papel das lectinas em doenças virais .....	39
4.5.3.1	Vírus SARS-CoV-2 .....	40
4.5.3.1.1	Terapêutica antiviral envolvendo lectinas .....	42
4.5.3.2	Vírus HIV.....	45
4.5.3.2.1	Terapêutica antiviral envolvendo lectinas .....	47
4.5.4	Projeções futuras.....	48
5	Conclusões .....	51
	Referências Bibliográficas .....	53

**Índice de tabelas:**

Tabela 1: Classificação de lectinas quanto à especificidade ao hidrato de carbono ....	23
Tabela 2: Classificação de lectinas de plantas quanto à sua evolução genética, em 12 famílias.....	25
Tabela 3: Classificação de lectinas animais quanto à sua evolução genética, em 14 famílias.....	27
Tabela 4: Funções das lectinas dos diferentes organismos .....	30

## Índice de figuras:

Figura 1: Glicoma celular..	20
Figura 2: Representação esquemática de Merolectinas, Hololectinas, Quimerolectinas e Superlectinas	21
Figura 3: Estrutura quaternária de diferentes lectinas de plantas com base na classificação estrutural	24
Figura 4: Estrutura de 4 famílias comuns de lectinas animais	26
Figura 5: Mecanismos de adesão bacteriana à superfície das células hospedeiras	35
Figura 6: Mecanismo de infeção do trato urinário pela <i>E.coli</i> uropatogénica	37
Figura 7: Interação lectina-glicano no processo patogénico bacteriano e possível ação antiaderente	39
Figura 8: Estrutura do SARS-Cov-2	41
Figura 9: Interação da CVN (azul) com oligosacárido com elevado teor de manose (amarelo)	42
Figura 10: Modelo molecular da ligação da CVN ao oligossacárido de alto teor em manose N234 da proteína Spike da variante <i>Omicron</i>	43
Figura 11: Representação da ligação da GRFT (azul) aos glicanos N-linked da proteína Spike (cinzento) do SARS-CoV-2	44
Figura 12: Representação esquemática da inibição da GRFT na infeção direta pelo vírus SARS-CoV-2 mediada por hACE2	45
Figura 13: Vírus HIV-1 e correspondentes glicoproteínas gp120 e gp41	46
Figura 14: Inibição da ligação viral com base na interação glicano-lectina no vírus HIV	47

# 1 Objetivos

A presente dissertação pretende discutir o envolvimento das lectinas nas doenças infecciosas. Dada a grande evolução epidemiológica das infecções patogénicas, muitas vezes associada ao surgimento de novos agentes patogénicos de risco e à resistência antimicrobiana, torna-se necessário perceber os vários mecanismos associados a estes agentes, incluindo os associados às proteínas de ligação a hidratos de carbono, as lectinas. Assim sendo, ao longo da tese serão apresentados os seguintes tópicos:

- Definição de doenças infecciosas e correspondentes dados epidemiológicos, como forma de realçar o problema que representa para a saúde pública.
- Caracterização dos diferentes tipos de lectinas para a melhor compreensão do seu papel nos vários organismos.
- Descrição dos diferentes mecanismos associados aos fungos (destacando o *Aspergillus*), bactérias (destacando a *E.coli* uropatogénica) e vírus (destacando o HIV e SARS-CoV-2), tendo em conta a interação glicosídica.
- Abordagem da especificidade das lectinas fúngicas e bacterianas e das glicoproteínas virais, assim como a sua função essencial na ocorrência de determinadas doenças e a sua aplicação no tratamento de infecções patogénicas.
- Avaliação do benefício das lectinas pela defesa que elas proporcionam e potencial efeito terapêutico, assim como o risco de serem um contribuinte essencial na infeção patogénica.

## 2 Métodos

A pesquisa foi realizada de janeiro a outubro de 2024. Toda a informação constada na dissertação foi obtida através de base de dados digitais, sendo os mais utilizados o *PubMed*, *Google scholar* e *Science direct*. Com a análise e filtragem do conteúdo dos artigos provenientes das bases de dados anteriormente enunciadas foi possível a sua contextualização e discussão. Para selecionar os artigos mais proveitosos para a dissertação foram utilizadas as seguintes palavras chave: “Lectins”; “Carbohydrate”; “Glycan”; “Lectin-carbohydrate”; “Lectin classification”; “Infectious diseases”; “Fungal diseases”; “*Aspergillus fumigatus*”; “Bacterial diseases” “*E.Coli*”; “Viral Disease”; “SARS-CoV-2”; “HIV”; “Therapeutic action”; “Antifungal”; “Antibacterial”; “Antiviral”.

### 3 Introdução

As infecções patogênicas são uma das principais causas de mortalidade e morbidade em todo o mundo, afetando milhões de pessoas anualmente. Entende-se por doença infecciosa qualquer doença causada por microrganismos, como bactérias, vírus, fungos e parasitas que proliferam nos seus hospedeiros e são capazes de produzir doenças (Andrade, 2019). A pobreza, a falta de acesso aos cuidados de saúde, a migração humana, os agentes infecciosos emergentes e a resistência aos antibióticos contribuem para o impacto crescente destas doenças (World Health Organization, 2024a).

Os medicamentos antimicrobianos são medicamentos ativos contra uma série de infecções, tais como as causadas por bactérias (antibióticos), vírus (antivirais), fungos (antifúngicos) e parasitas (incluindo antimaláricos). A resistência a medicamentos antimicrobianos (RAM) surge quando os microrganismos que causam a infecção sobrevivem à exposição a um medicamento que normalmente os mataria ou impediria o seu crescimento (O'Neill, 2016). De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), a RAM é uma das principais ameaças globais à saúde pública (World Health Organization, 2023). Prevê-se cerca de 1.91 milhões de mortes causadas pela RAM e 8.22 milhões de mortes associadas à RAM em 2050 e pesadas consequências económicas para a saúde pública e para os governos (Naghavi *et al.*, 2024).

As **infecções bacterianas** são uma das principais causas de doença em todo o mundo. A terapia antibiótica convencional, embora inicialmente eficaz, tem enfrentado sérios desafios devido à emergência de estirpes resistentes aos antibióticos. Estima-se que a RAM bacteriana tenha sido diretamente responsável por 1,27 milhões de mortes a nível mundial em 2019 e contribuído para 4,95 milhões de mortes (World Health Organization, 2023). Na Europa, os custos adicionais anuais dos cuidados de saúde e as perdas de produtividade devidos às bactérias multirresistentes ascendem a 1,5 mil milhões de euros (MedTech Europe, 2020).

O relatório de 2022 efetuado pelo Sistema Global de Vigilância da Resistência e Utilização de Antimicrobianos revelou taxas preocupantes de resistência entre bactérias prevalentes. Em 76 países, a taxa mediana de resistência da *E. coli* às cefalosporinas de terceira geração foi de 42%, e para o *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina, a taxa foi de 35%. No caso das infecções urinárias causadas pela *E. coli*, em 2020, 1 em

cada 5 casos apresentou resistência a antibióticos convencionais, como a ampicilina, cotrimoxazol e fluoroquinolonas, complicando o tratamento eficaz dessas infecções. Estes dados são resultado da prática generalizada de prescrever antibióticos para tratar infecções sem qualquer caracterização bacteriana, combinada com o aparecimento de estirpes multirresistentes (World Health Organization, 2023).

As **infecções virais** continuam a ser uma das maiores ameaças à saúde global. Um dos exemplos é a COVID-19, que segundo a OMS, ficou posicionada entre as 10 principais causas de morte em 2021 (World Health Organization, 2024a).

A síndrome respiratória aguda grave do coronavírus 2 (SARS-CoV-2) é uma síndrome causada pelo coronavírus, este foi responsável pela pandemia humana do coronavírus em 2019 (COVID-19) que, de janeiro de 2020 a setembro de 2024, infetou mais de 770 milhões de pessoas e causou mais de 7 milhões de mortes (World Health Organization, 2024b). Em Portugal, em 2021, registaram-se 12 987 óbitos devido à doença COVID-19, representando 10,4% do total de óbitos ocorridos no país (Instituto Nacional de Estatística, 2024).

Embora o desenvolvimento de vacinas tenha sido um marco crucial no controlo da pandemia, o tratamento de infecções graves ainda depende de terapias antivirais, como o remdesivir, cuja eficácia é limitada. As variantes emergentes do vírus também apresentam novos desafios, sublinhando a necessidade de abordagens terapêuticas mais eficazes e de largo espectro (Rahmah *et al.*, 2022).

O vírus da imunodeficiência humana (HIV), retrovírus e agente etiológico da síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA), estava entre as 10 principais causas de morte em 2000 a nível mundial, descendo da sétima causa em 2000 para a vigésima primeira em 2021 (World Health Organization, 2024a). Esta descida deve-se ao desenvolvimento e disponibilidade generalizada de terapias antirretrovirais altamente ativas, tornando-a numa doença crónica controlável (Swinkels *et al.*, 2024).

Os avanços terapêuticos para a SIDA fizeram com que os doentes conseguissem ter uma vida longa e controlada, contudo continua a ser um grande problema de saúde pública a nível mundial. Em 2023, estima-se que 39,9 milhões de pessoas em todo o mundo viviam com HIV e que nesse ano tenham morrido cerca de 630 000 pessoas. Continua a atingir principalmente mulheres jovens da África Oriental e do Sul

(UNAIDS, 2024). Em Portugal, em 2021, registaram-se 202 mortes por infecção pelo HIV (Instituto Nacional de Estatística, 2024).

Embora as terapias antirretrovirais atrasem o progresso da doença, o tratamento não cura a SIDA, causa efeitos adversos e requer uma ligação consistente e prolongada ao sistema de saúde (Swinkels *et al.*, 2024).

As **infecções fúngicas**, embora menos prevalentes que as bacterianas e virais, têm um impacto considerável, especialmente em populações imunocomprometidas. Com a crescente ocorrência de fatores que comprometem a imunidade, como os tratamentos imunossupressores, SIDA e transplante de órgãos, os fungos tornam-se uma ameaça significativa (Houser *et al.*, 2013).

Anualmente, mais de 6,55 milhões de pessoas são afetadas por doenças fúngicas que representam um risco imediato à vida, resultando em mais de 3,75 milhões de mortes. Destas, cerca de 2,55 milhões são diretamente atribuídas às complicações causadas por essas infecções fúngicas graves (Denning, 2024).

A OMS elaborou uma lista prioritária de agentes patogénicos fúngicos (FPPL) com base em vários critérios essenciais, como a resistência aos antifúngicos, taxas de mortalidade, disponibilidade de tratamentos baseados em evidências, acesso a diagnósticos eficazes, incidência anual de infecções e complicações associadas. A partir dessa análise, foram identificados como fungos críticos: *Cryptococcus neoformans*, *Candida auris*, *Aspergillus fumigatus* e *Candida albicans*, devido ao seu impacto significativo na saúde pública e ao aumento da resistência aos tratamentos convencionais (World Health Organization, 2022).

O uso agrícola de azóis tem contribuído para o aumento das infecções por *Aspergillus fumigatus* resistentes aos azóis, com taxas de resistência de 15–20% na Europa. Atualmente, apenas quatro classes de fármacos antifúngicos sistémicos (azóis, equinocandinas, pirimidinas e polienos) são usadas na prática clínica, e poucas novas opções estão em desenvolvimento. Embora eficazes, estes medicamentos estão associados a muitos efeitos adversos e requerem especialização no seu uso. Além disso, interações entre medicamentos são frequentes, e os tratamentos longos afetam a segurança e o prognóstico dos pacientes (World Health Organization, 2022).

Existe assim a necessidade do desenvolvimento de novas classes de agentes antimicrobianos com diferentes alvos e mecanismos de ação, além de perfis de

segurança aperfeiçoados. As estratégias de prevenção e tratamento das doenças infecciosas baseiam-se na compreensão detalhada das interações complexas entre os agentes patogénicos e o hospedeiro (humano ou animal). Sendo assim, os estudos sobre lectinas são essenciais para a averiguação da sua responsabilidade nos processos patogénicos, contribuindo para o desenvolvimento de intervenções eficazes no combate a esses agentes (Bektas & Kaptan, 2024).

## 4 Lectinas, uma visão geral

As lectinas, também chamadas de aglutininas ou hemaglutininas, são proteínas que desde a sua descoberta até aos dias de hoje, têm sido alvo de inúmeras pesquisas e ensaios. De modo a compreender as suas características e diversas funcionalidades é importante saber a origem do seu conhecimento.

### 4.1 História e definição

A descoberta das lectinas remonta ao século XIX, mais propriamente ao ano de 1888, quando o microbiologista Stillmark, durante a realização da sua investigação, verificou que o extrato das sementes de rícino apresentava um composto proteico capaz de aglutinar os eritrócitos. A este composto deu-se o nome de ricina, a primeira lectina a ser identificada (Stillmark, 1888). Dado que estas proteínas identificadas possuíam capacidade de aglutinar eritrócitos, chamaram-se hemaglutininas, termo introduzido por Elfstrand (Elfstrand, 1898). Em 1949, percebeu-se que existiam certas hemaglutininas responsáveis pela aglutinação de eritrócitos pertencentes a grupos sanguíneos particulares do sistema ABO, passando-se a denominar posteriormente de lectinas, do latim *legere*, que significa selecionar (Boyd & Reguera, 1949; Boyd & Shapleigh, 1954)

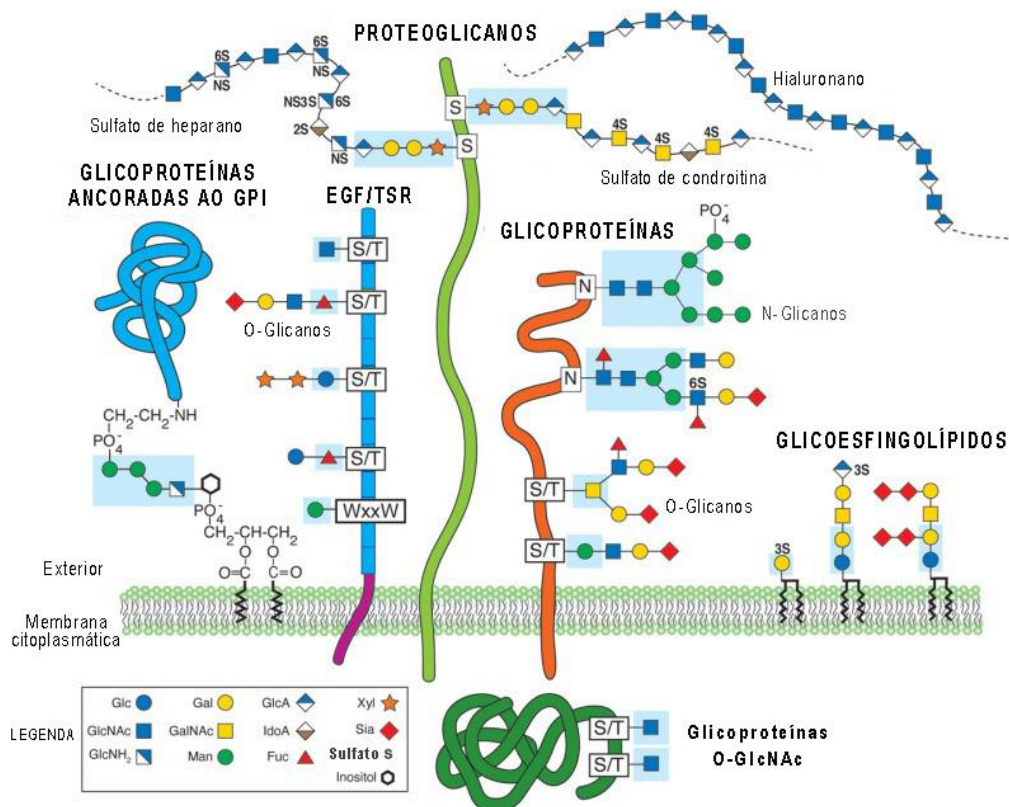
Em 1952, Watkins e Morgan ao adicionarem um açúcar específico a cada tipo de eritrócito verificaram que estes deixavam de estar aglutinados pela ação das lectinas, concluindo que a atividade destas (a sua ligação e reconhecimento) baseava-se na ligação aos hidratos de carbono da superfície celular dos eritrócitos (Watkins & Morgan, 1952). Contudo, apenas em 1980, por autoria de Goldstein, as lectinas passaram a ser definidas como "proteínas (ou glicoproteínas) de ligação a hidratos de carbono de origem não imune que aglutinam células e/ou precipitam glicoconjugados" (Goldstein *et al.*, 1980). Na definição de Goldstein ficavam excluídas algumas lectinas que não possuíam atividade aglutinante, por possuírem apenas um sítio de ligação. Deste modo, em 1995 Peumans e Van Damme publicaram a definição de lectinas como proteínas que possuem pelo menos um domínio não catalítico com a capacidade de se ligar reversivelmente a um hidrato de carbono específico (Peumans & Van Damme, 1995), sendo a mais atualizada e que aborda a característica principal destas proteínas, o seu domínio de ligação aos hidratos de carbono, incluindo assim um maior espectro de lectinas com diferentes propriedades.

## 4.2 Características gerais e classificação das lectinas

As lectinas são proteínas com capacidade de reconhecer e se ligarem a hidratos de carbono (glicanos) específicos, de forma reversível sem alterar as suas propriedades moleculares, devendo-se ao facto de apresentarem pelo menos um domínio não catalítico (Lam & Ng, 2011).

Os glicanos são biomoléculas presentes em todos os seres vivos. Desde organismos unicelulares, aos humanos, todas as células apresentam um glicoma. Isto acontece graças à glicosilação, modificação pós-tradução comum, em que os glicanos se ligam covalentemente a proteínas de superfície (glicoproteínas) e lípidos (glicolípidos), com repercussão no desenvolvimento, crescimento e sobrevivência da célula/organismo (Sharon & Lis, 2004). Ao conjunto destes glicoconjugados dá-se o nome de glicoma (Figura 1). Os glicoconjugados que contêm uma porção de hidratos de carbono complementar ao domínio de ligação da lectina são os recetores naturais destas proteínas. Glicoconjugados de natureza diferente, mas com porção de hidrato de carbono idêntica podem ser recetores da mesma lectina (Peumans & Van Damme, 1995; Van Damme, 2014).

Os glicanos podem ser classificados de acordo com a natureza da ligação ao aglicoma (proteína ou lípido). A glicoproteína é uma proteína que pode conter um ou mais glicanos ligados covalentemente a uma estrutura polipeptídica, geralmente através de ligações N- ou O-. O N-glicano (*N-linked* oligossacárido) representa-se pela ligação de uma cadeia de hidratos de carbono ao átomo de nitrogénio de um resíduo de asparagina da cadeia polipeptídica. Os N-glicanos animais partilham uma região central pentassacárida comum e podem ser geralmente divididos em três classes principais: tipo oligomanose (ou alto teor em manose), tipo complexo e tipo híbrido. O O-glicano (*O-linked* oligossacárido) representa-se pela ligação de uma cadeia de hidratos de carbono ao átomo de oxigénio de um resíduo de serina ou treonina (Varki & Kornfeld, 2022).



**Figura 1: Glicoma celular.** Classes comuns de glicanos animais.

Abreviaturas: EGF: Fator de crescimento epidérmico; Fuc: Fucose; Gal: Galactose; GalNAc: *N*-acetilgalactosamina; Glc: Glicose; GlcA: Ácido glicorónico; GlcNAc: *N*-acetilglicosamina; GlcNH<sub>2</sub>: Glicosamina; IdoA: Ácido idurónico; Man: Manose; N: Asparagina; Sia: Ácido siálico; S/T: Serina/Treonina; TSR: Repetição de tipo I da trombospondina; Xyl: Xilose. (Adaptado de Varki & Kornfeld, 2022).

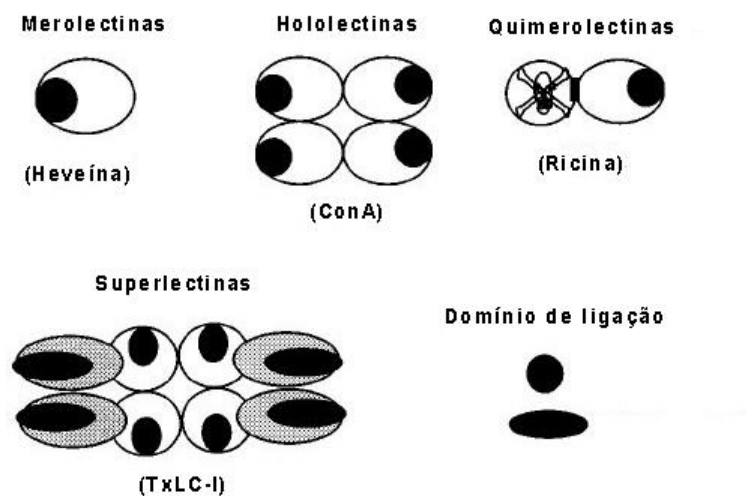
As lectinas podem ser classificadas de acordo com a sua estrutura, com base na sua afinidade a hidratos de carbono específicos e ainda agrupadas em diferentes famílias de acordo com a sua evolução genética (Lam & Ng, 2011).

#### 4.2.1 Classificação quanto à sua estrutura

Com base na estrutura geral, as lectinas de plantas podem ser classificadas em 4 tipos diferentes:

- Merolectinas: Têm um único domínio de ligação a hidratos de carbono. A sua natureza monovalente faz com que não consigam ter atividade aglutinante (Peumans & Van Damme, 1995).
- Hololectinas: São constituídas apenas por domínios de ligação a hidratos de carbono, contendo mais que um, sendo idênticos ou homólogos entre si, pelo que estas são capazes de aglutinar células ou precipitar glicoconjugados (Peumans & Van Damme, 1995).

- Quimerolectinas: Possuem um número variável de domínio de ligação a hidratos de carbono, mas para além deste, um domínio de natureza diversa e independente da ligação ao hidrato de carbono, podendo se tratar de um domínio catalítico ou outro. A sua capacidade de aglutinar varia conforme o seu número de domínios de ligação aos hidratos de carbono. Este tipo de lectinas são as mais abundantes (Peumans & Van Damme, 1995).
- Superlectinas: Possuem mais que um domínio de ligação a hidratos de carbono, contudo, ao contrário das hololectinas, estes domínios de ligação reconhecem hidratos de carbono funcional e estruturalmente diferentes. Deste modo podem também ser consideradas um grupo especial de quimerolectinas. Por exemplo, a lectina de bolbo de tulipa, TxLC-I, é uma superlectina que se liga especificamente a dois resíduos de hidratos de carbono diferentes, manose e GalNAc (Figura 2) (Van Damme *et al.*, 1998).



**Figura 2: Representação esquemática de Merolectinas, Hololectinas, Quimerolectinas e Superlectinas.** (Adaptado de Van Damme *et al.*, 1998).

#### 4.2.2 Classificação quanto à especificidade ao hidrato de carbono

As lectinas apresentam na sua estrutura domínios de reconhecimento de hidratos de carbono (CRD), cuja dinâmica estrutural, seletividade ao hidrato de carbono específico e disposição geométrica, determina as diferentes propriedades das lectinas (Liu *et al.*, 2015). A especificidade do reconhecimento do hidrato de carbono provém da complementaridade estrutural entre a sua terminação e o CRD da lectina. As ligações formadas podem ser de pontes de hidrogénio (com ou sem envolvimento de moléculas de água) e interações C-H/ $\pi$  (por exemplo na *D*-galactose). Em alguns casos a presença de parte de um hidrato de carbono aniónico requer formação de ligações iónicas (Murphy *et al.*, 2013).

Lis e Sharon classificaram as lectinas de plantas em 5 tipos, de acordo com o monossacárido ao qual estas se ligavam com mais afinidade, as de ligação à manose, galactose/*N*-acetilgalactosamina, *N*-acetilglucosamina, fucose e ácido *N*-acetilneuramínico (dos vários monossacáridos encontrados na natureza estes cinco encontram-se tipicamente na superfície das células eritrocitárias) (Lis & Sharon, 1998). Contudo com a realização de novas pesquisas verificou-se que era essencial basear a interação destas proteínas não apenas em monossacáridos e oligossacáridos, mas também em epítomos mais complexos. Deste modo, um estudo recente realizado por Bojar *et al.*, investigou a especificidade de ligação de 57 lectinas de plantas através de um algoritmo computacional automático e dados de micromatriz (“microarray”) de glicanos. Na Tabela 1 estão representados os grupos de lectinas obtidos no estudo, exemplos de lectinas correspondentes e as características dos recetores glicosilados (Bojar *et al.*, 2022).

É de notar que, a especificidade de ligação de uma lectina a um determinado epítomo é impactada por modificações químicas na estrutura glicosídica, por exemplo, *Phaseolus vulgaris-L* (PHA-L) é uma lectina de ligação a N-glicanos complexos, contudo a sua especificidade reduz quando o N-glicano sofre sialilação no  $\alpha$ -2-6. Algumas lectinas ainda podem ter zonas de ligação adicionais onde são capazes de reconhecer outros hidratos de carbono para além do seu principal ligando (Bojar *et al.*, 2022).

**Tabela 1: Classificação de lectinas quanto à especificidade ao hidrato de carbono**

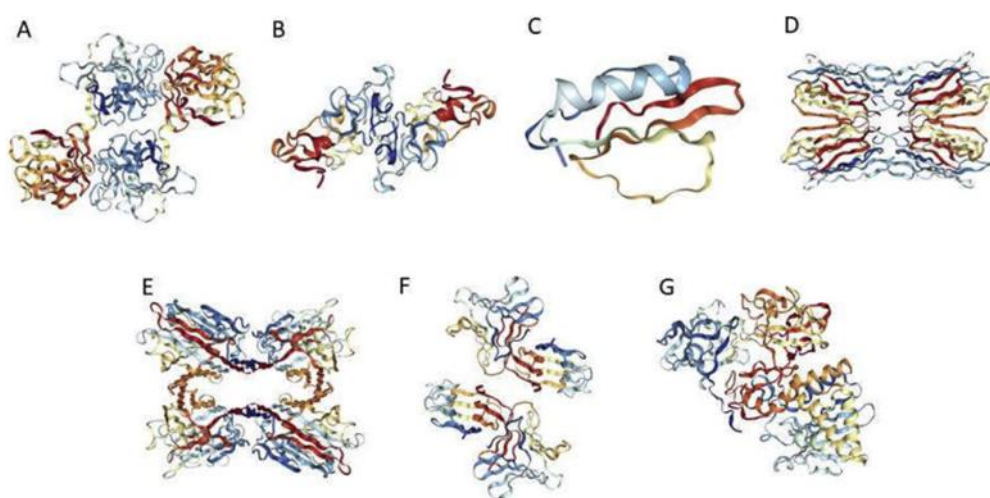
Especificidade ao hidrato de carbono	Exemplo de lectinas	Notas
Lectinas de ligação à manose	Lectina de <i>Galanthus Nivalis</i> (GNA) Lectina de <i>Narcissus Pseudonarcissus</i> (NPA) <i>Concanavalina A</i> (ConA)	Os epítomos com elevado teor de manose encontram-se entre os N-glicanos menos processados, resultantes do corte da estrutura Glc3Man9GlcNAc2 que é transferida pela oligossacariltransferase. Man7-Man-9, todos contêm resíduos terminais de $\alpha$ 1,2-manose
Lectinas de ligação a N-glicanos complexos	Lectina de <i>Phaseolus Vulgaris-L</i> (PHA-L)	Um exemplo de processamento de N-glicanos complexos, os N-glicanos com elevado teor de manose são cortados na Man5 e um $\beta$ 1,2-GlcNAc é anexado ao núcleo exposto de $\alpha$ 1,3-manose para formar estruturas híbridas
Lectinas de ligação a O-glicanos	Lectina de <i>Artocarpus Integrifolia</i> (AIA, Jacalin)	A biossíntese dos O-glicanos começa com a transferência da N-acetilgalactosamina (GalNAc) sobre o átomo de oxigénio da serina ou a treonina
<b>Estruturas de ligação de lectinas comuns aos N- e O-glicanos</b>		Os N- e O-glicanos contêm uma variedade de epítomos para além das suas estruturas centrais. Estes incluem a fucose, o ácido siálico e o sulfato, o GlcNAc terminal e a quitina, a galactose terminal e o LacNAc, e o GalNAc terminal
Lectinas de ligação à fucose	Lectina de <i>Aleuria aurantia</i> (AAL)	A fucosilação nos mamíferos é uma modificação terminal através da ligação $\alpha$ 1,6, que ocorre no GlcNAc ligado à asparagina de N-glicanos híbridos e complexos.
Lectinas de ligação ao ácido siálico e ao sulfato	Lectina de <i>Maackia amurensis-II</i> (MAL-II)	Tanto o ácido siálico como a sulfatação conferem uma carga negativa aos glicanos. Ambos conferem estruturas terminais a N-glicanos, O-glicanos e glicolípidos (a sulfatação é frequentemente encontrada em glicosaminoglicanos, como a heparina).
Lectinas de ligação a Gal e LacNAc terminais	Aglutinina de <i>Erythrina cristagalli</i> (ECL, ECA) Aglutinina de <i>Marasmius oreades</i> (MOA)	A galactose terminal é observada numa grande variedade de contextos, no epítipo imunogénico $\alpha$ -Gal e nas estruturas Gal $\beta$ do LacNAc de tipo 1 e tipo 2.
Lectinas de ligação ao GlcNAc terminal e à quitina	Aglutinina de <i>Wheat germ</i> (WGA)	Os resíduos terminais de GlcNAc são grupos de cobertura comuns e encontram-se numa grande variedade de estruturas de glicanos, incluindo a quitina, um polímero de GlcNAc $\beta$ 1,4GlcNAc.
Lectinas de ligação GalNAc terminal	Lectina de <i>Cytisus scoparius</i> (CSA)	Os resíduos GalNAc expostos são transportados por uma grande variedade de oligossacáridos, incluindo o grupo sanguíneo A [GalNAc $\alpha$ 1-3(Fuca1-2)Gal], LacdiNAc, o antígeno Forssman (GalNAc $\alpha$ 1-3GalNAc) e o antígeno Tn (GalNAc $\alpha$ Ser/Thr).

Abreviaturas: Gal: Galactose; GalNAc: N-acetilgalactosamina; GlcNAc: N-acetilglicosamina; LacNAc: N-acetilactosamina; LysM: Motivo de lisina; Man: Manose.

(Adaptado de Bojar *et al.*, 2022)

### 4.2.3 Classificação quanto à sua evolução genética

Embora a classificação baseada na especificidade de ligação a hidratos de carbono seja fundamental para a investigação voltada ao isolamento e potencial aplicação biomédica das **lectinas de plantas**, tornou-se necessário agrupá-las em famílias de acordo com a evolução do seu código genético. Essas famílias são, por sua vez, subdivididas com base em relações serológicas ou na similaridade das suas sequências, refletindo uma abordagem mais abrangente e completa. Devido ao rápido progresso na análise estrutural destas proteínas e à clonagem molecular dos seus genes, foi possível Van Damme *et al.* distinguir **7 famílias** de lectinas associadas ao mesmo parâmetro evolutivo: Família das lectinas de leguminosas; Amarantinas; Lectinas de ligação à manose das monocotiledóneas; Família de ligação à quitina; Lectinas de inativação da ribose de tipo 2; Jacalinas; Lectinas de *Cucurbitaceae phloem* (Van Damme *et al.*, 1998). Cada família baseia-se na semelhança dos padrões de sequência do CRD (relação evolutiva) e nas suas propriedades estruturais como ilustra a Figura 3 (Mishra *et al.*, 2019).



**Figura 3: Estrutura quaternária de diferentes lectinas de plantas com base na classificação estrutural.** Estruturas cristalinas da lectina da amarantina (A, primeiro membro da família das amarantinas), WGA (B, primeiro isolado da família das lectinas de ligação à quitina), lectina da abóbora (C, membro da família das lectinas do floema de *Cucurbitaceae phloem*), lectina da jacalina (D, membro da família das lectinas relacionadas com a jacalina), SBL (E, membro da família das lectinas das leguminosas), aglutinina de *Galanthus nivalis* (GNA) (F, membro da família das lectinas de ligação à manose) e ricina (G, membro da família das lectinas inativadoras da ribose de tipo 2). (Mishra *et al.*, 2019).

Com a disponibilidade de nova informação sobre a sequência genética das lectinas de plantas, atualmente estas são classificadas em **12 famílias**, representadas na Tabela 2, assim como os hidratos de carbono a que se ligam e a sua localização (De Schutter & Van Damme, 2015).

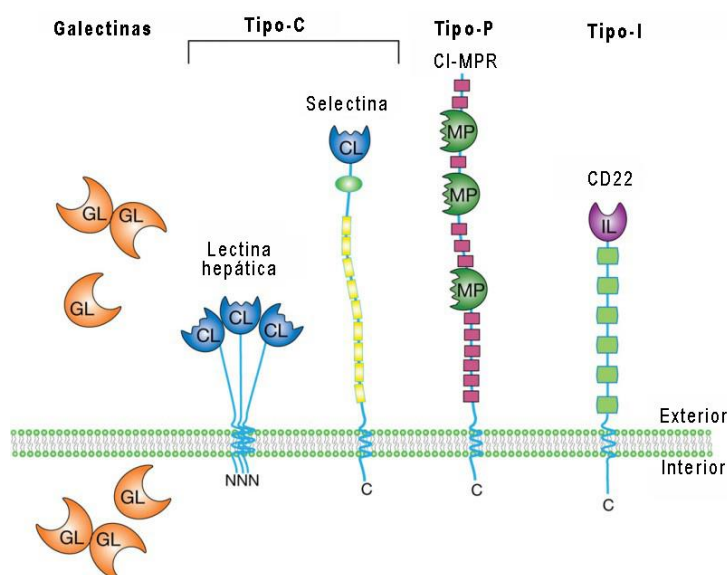
**Tabela 2: Classificação de lectinas de plantas quanto à sua evolução genética, em 12 famílias**

<b>Família de Lectinas de plantas</b>	<b>Ligando glicano</b>	<b>Localização prevista</b>
Lectina <i>Agaricus bisporus</i>	GlcNAc/GalNAc, Galactose	Núcleo, citosol
Amarantina	GalNAc	Núcleo, citosol
Aglutinina relacionada com a Quitinase	N-glicanos com alto teor de manose	Vacúolo, membrana nuclear
Cianovirina	Manose	Núcleo
Lectina <i>Euonymus europaeus</i>	N-glicanos com alto teor de manose, galactósidos	Núcleo, citosol
Lectina <i>Galanthus nivalis</i>	Manose	Vacúolo, citosol, núcleo ou membrana nuclear
Heveína	Quitina	Vacúolo
Jacalina	Subgrupo específico de manose e galactose	Núcleo, citosol, vacúolo
Leguminosas	Manose	Vacúolo, citosol, núcleo ou membrana nuclear
LysM	Quitina, peptidoglicanos	Vacúolo, citosol, núcleo ou membrana nuclear
Lectina de <i>Nicotiana tabacum</i>	Oligómeros de GlcNAc, N-glicanos complexos e com alto teor de manose	Núcleo, citosol
Ricina-B	Gal/GalNAc, Gal/GalNAc Sialidado	Núcleo, citosol, vacúolo

Abreviaturas: Gal: Galactose; GalNAc: N-acetilgalactosamina; GlcNAc: N-acetilglicosamina; LysM: Motivo de lisina.

(Adaptado de De Schutter & Van Damme, 2015).

A classificação de **lectinas animais** em diferentes grupos é menos linear que as de plantas. Dada a grande diferenciação de glicanos presente nos animais, as suas lectinas apresentam grande diversidade nos seus CRDs. De acordo com as semelhanças nos motivos (“motifs”) de sequência dos CRD e nas suas propriedades estruturais, as lectinas podem ser classificadas em **4 famílias** principais: Tipo-C (dependentes de  $\text{Ca}^{2+}$ ); Tipo S (dependente de sulfidrilo ou de ligação a  $\beta$ -galactósido); Tipo-P (específico para glicoproteínas contendo manose 6-fosfato); Tipo I (CRD semelhante ao das imunoglobulinas) (De Schutter & Van Damme, 2015; Raposo *et al.*, 2021). Na Figura 4 encontra-se representadas as 4 famílias, os CRDs correspondentes assim como os exemplos de algumas lectinas que constituem cada grupo (Taylor *et al.*, 2022).



**Figura 4: Estrutura de 4 famílias comuns de lectinas animais.** O ênfase está na estrutura e topologia do domínio extracelular. São representados os seguintes CRD: (GL) galectina; (CL) lectina de tipo C; (MP) lectina de tipo P; (IL) lectina de tipo I. (Adaptado de Taylor *et al.*, 2022).

Dada a diferença dos seus substratos e da sua localização, estas 4 famílias de lectinas animais apresentam diversidade nas suas funções. A lectina tipo S, também chamada de Galectina, interage com os glicanos na matriz extracelular, tendo um papel importante no crescimento, na adesão e na migração das células. As Galectinas, para além de desempenharem um papel importante em vários processos fisiológicos, são biomarcadores para a deteção de células cancerígenas, como nos melanomas, astrocitomas, tumores da bexiga e do ovário. As lectinas tipo-C, encontradas nos macrófagos, nas células dendríticas e nas células endoteliais, são responsáveis pelo reconhecimento dos agentes patogénicos, pela sua eliminação, pelo desencadeamento

da produção de citocinas e por outros processos imunomoduladores que preparam o organismo para os ataques de agentes infecciosos. As lectinas tipo-P, facilitam o transporte de enzimas intracelulares, como as enzimas lisossômicas, do aparelho de Golgi para outros compartimentos e estão responsáveis pelo tráfico e degradação de glicoproteínas mediada pelo retículo endoplasmático. As lectinas tipo-I ligam-se principalmente ao ácido siálico na superfície celular e são designadas por “Siglecs”, que é a lectina tipo-I mais caracterizada (Radhakrishnan *et al.*, 2022).

Apesar das 4 famílias enumeradas acima serem as mais comuns, existem pelo menos **14 famílias** que agrupam CRDs estruturalmente relacionados (Tabela 3) e ainda lectinas consideradas “órfãs” por possuírem uma estrutura única, isto é, não pertencem a famílias estruturais de lectinas conhecidas (De Schutter & Van Damme, 2015; Raposo *et al.*, 2021).

**Tabela 3: Classificação de lectinas animais quanto à sua evolução genética, em 14 famílias**

Família de lectinas animais	Ligando glicano	Localização prevista
Calnexina e Calreticulina	Glc <sub>1</sub> Man <sub>9</sub>	RE
Lectina tipo-M	Man <sub>8</sub>	RE
Lectina tipo-L	Vários	RE, Golgi
Lectina tipo-P	Man <sub>6</sub> -Fosfato	Via secretora
Lectina tipo-C	Manósidos, galactósidos, ácidos siálicos e outros	Ligado à membrana, extracelular
Lectina tipo-S (Galectinas)	β-galactósidos	Citosol, extracelular
Lectinas tipo-I (Siglecs)	Ácido siálico	Ligado à membrana
Lectina tipo-R	Vários	Ligado à membrana, Golgi
Lectina F-box	GlcNAc <sub>2</sub> de N-glicanos	Citoplasma
Lectina tipo-fibrinogéneo	GlcNAc, GalNAc	Ligado à membrana, extracelular
Qui-lectinas	Quito-oligossacáridos	Extracelular
Lectinas tipo-F	Oligossacáridos com terminação em fucose	Extracelular
Intelectinas	Galactose, galactofuranose, pentoses	Ligado à membrana, extracelular
Anexinas	Glicosaminoglicanos, heparina e sulfato de heparina	Ligado à membrana

Abreviatura: RE: Reticulo Endoplasmático.  
(Adaptado de De Schutter & Van Damme, 2015).

Importante notar que a sequência ou a conformação tridimensional do CRD não é indicativa da sua especificidade, uma vez que lectinas estruturalmente não relacionadas podem reconhecer estruturas de hidratos de carbono semelhantes (por exemplo, lectina animal tipo-C e lectina de planta da família das lectinas leguminosas apresentam afinidade para a manose). Além disso, algumas lectinas com CRDs semelhantes podem reconhecer hidratos de carbono diferentes. Estes fenómenos podem ser atribuídos à pouca profundidade do local de ligação do hidrato de carbono e ao número limitado de contactos com este, permitindo que numa estrutura de base comum sejam integradas diferentes seletividades (Drickamer, 1997).

### **4.3 Mecanismo molecular de ligação das lectinas ao hidrato de carbono**

As principais interações envolvidas na ligação das lectinas aos hidratos de carbono são as ligações por pontes de hidrogénio, com contribuição das forças de *Van der Waals* e interações hidrofóbicas, permitindo a ligação reversível aos seus ligandos. A ligação direta de hidrogénio envolve o grupo hidroxilo (OH), da cadeia lateral acídica do hidrato de carbono, como aceitador, e grupos amida (NH)<sub>n</sub> dos resíduos CRD da lectina, principalmente asparagina e glutamina. Também se pode formar uma ligação de hidrogénio menos comum, que ocorre entre o -OH do hidrato de carbono e o grupo -OH da tirosina, serina e treonina. As lectinas têm moléculas de água ligadas naturalmente ao domínio CRD, podendo formar pontes de ligação de hidrogénio entre os glicanos e as lectinas para reforçar e apoiar as ligações de hidrogénio diretas (Kaya, 2022).

A coordenação com iões metálicos pode desempenhar um papel importante nas ligações estabelecidas com os hidratos de carbono. Embora os iões metálicos não interajam diretamente com os glicanos, alteram a conformação das lectinas e estabilizam-nas para aproximar o seu CRD do epítipo do glicano, o que facilita a ligação (Mishra *et al.*, 2019). Um dos exemplos é a lectina tipo-C que depende do Ca<sup>2+</sup> para coordenar os seus resíduos de aminoácidos e ligar-se mais facilmente aos grupos hidroxilo dos glicanos (Kaya, 2022).

As lectinas não sofrem alterações conformacionais significativas após a ligação aos glicanos, exceto no que se refere aos aminoácidos do CRD. Diferenças subtis entre os motivos dos glicanos podem levar a alterações significativas no posicionamento dos aminoácidos no CRD, afetando os tipos de interações que podem ocorrer. Este aspeto da ligação é o mecanismo central que leva ao reconhecimento diferencial dos glicanos (Kaya, 2022).

#### **4.4 Lectinas nos diferentes organismos**

As lectinas estão presentes em todos os seres vivos, desde procariotas aos seres mais complexos. Dado esta evolução, estas proteínas de ligação a glicanos tiveram de se adaptar, para terem capacidade de responder a uma variedade de funções, manifestando-se na diversidade estrutural dos CRDs. Apesar destas proteínas aparecerem em todos os reinos biológicos, variam consideravelmente entre eles, sugerindo histórias evolutivas diferentes (Taylor *et al.*, 2022).

##### **4.4.1 Funções das lectinas nos diferentes organismos**

Dada a grande diversidade de seres vivos com lectinas associadas, na tabela 4 estão representados os principais grupos de organismos e as atividades essenciais das suas lectinas.

Como se observa na tabela 4, as lectinas são compostos essenciais em todos os seres vivos, conferindo infecciosidade aos agentes patogénicos, como as bactérias, vírus e fungos, e defesa aos organismos mais complexos como plantas, animais e fungos superiores (Sharon & Lis, 2004).

Dada a sua origem, as lectinas podem ainda ser divididas em endógenas e exógenas. As lectinas **endógenas** são constituintes naturais dos seres vivos, incluindo o homem. Nos seres humanos, desempenham funções críticas na ativação das vias de sinalização, na adesão célula-célula, na regulação dos níveis de proteínas no sangue e na defesa imunitária contra agentes patogénicos (Chen, 2023).

**Tabela 4: Funções das lectinas dos diferentes organismos**

<b>Lectina</b>	<b>Função</b>
<b>Microrganismos</b> (Ameba, Bactéria, Vírus)	Infeção
<b>Fungo</b> (fungos superiores, fungos, leveduras)	Crescimento e morfogénese; Defesa; Infeção/Parasitismo*
<b>Plantas</b>	
Diferentes espécies de plantas	Defesa
Leguminosas	Simbiose com bactérias fixadoras de Nitrogénio
<b>Animal</b>	
Calnexina e Calreticulina	Controlo da biossíntese de glicoproteínas
Colectina (lectina tipo-C)	Imunidade inata
Dectina-1 (lectina tipo-C)	Imunidade inata
Galectina (lectina tipo-S)	Regulação do crescimento celular e apoptose; Regulação do ciclo celular; Modulação da interação célula-célula e célula-substrato
Recetor de manose de macrófago	Imunidade inata; <i>Clearance</i> de hormonas glicoproteicas sulfatadas
Recetores Man-6-P	Identificação de enzima lisossomal
Siglecs (lectina tipo-I)	Interação célula-célula no sistema neural e imunitário

(Adaptado de Sharon & Lis, 2004), \*(Retirado de Varrot *et al.*, 2013).

As lectinas **exógenas** são proteínas derivadas de fontes externas ao organismo humano, como as lectinas de plantas e as provenientes de microrganismos (detalhadas no capítulo 4.5). As lectinas de plantas, devido à sua ampla distribuição e facilidade de isolamento, foram as primeiras proteínas a serem estudadas extensivamente, resultando numa classificação e caracterização profunda (como observado nos capítulos anteriores). No entanto, cresce o interesse pelo estudo das lectinas microbianas, com o intuito de melhorar a compreensão dos mecanismos patogénicos associados a esses agentes e identificar novos alvos terapêuticos promissores (Tsaneva & Van Damme, 2020).

## 4.5 Papel das lectinas nos processos patogénicos humanos

Durante o processo patogénico, as lectinas de microrganismos (fungos, bactérias e vírus) utilizam os glicanos da superfície celular do hospedeiro como alvos de interação. As suas proteínas de superfície (adesinas ou lectinas) medeiam a ligação a esses “receptores” de glicanos e muitos agentes patogénicos dependem destas interações para terem êxito na infeção do hospedeiro (Lewis *et al.*, 2022a).

Com a ocorrência de infeções, a imunidade inata e adaptativa entra em ação, defendendo o hospedeiro. Os padrões moleculares associados aos agentes patogénicos (PAMPs) são rapidamente reconhecidos pelos recetores de reconhecimento de padrões (PRRs), do sistema imunitário inato do hospedeiro. Os PAMPs conhecidos são os pili, os lipopolissacáridos, os flagelos, os peptidoglicanos e os glicanos. Estes são evolutivamente conservados em bactérias patogénicas, vírus e fungos. Uma vez que muitos dos PAMPs reconhecidos pelos PRRs são estruturas de hidratos de carbono, como lipopolissacáridos e peptidoglicanos, as lectinas desempenham um papel importante como PRRs. Estes PRRs de lectinas têm uma estrutura muito variável e podem apresentar-se numa forma solúvel ou associada a uma membrana, são exemplos as lectinas do tipo C, galectinas e Siglecs (De Schutter & Van Damme, 2015; Cho *et al.*, 2022).

Deste modo, as lectinas dos microrganismos são contributos importantes para a realização da sua patogenicidade, assim como as lectinas animais, como os PRR, são fundamentais para a defesa contra estes agentes. Este capítulo foca as lectinas fúngicas, bacterianas e virais, explicando os processos pelos quais estas são indispensáveis e essenciais para infetar o ser humano, como as lectinas humanas respondem a esta interação patogénica e a exploração de oportunidades terapêuticas utilizando lectinas e glicanos.

### 4.5.1 Papel das lectinas em doenças fúngicas

Mais de 600 espécies de fungos podem causar infeções nos seres humanos, sendo o género *Aspergillus spp.* o responsável por 70% das mortes associadas a fungos (Bongomin *et al.*, 2017).

As espécies de *Aspergillus* (*Aspergillus spp.*) são fungos que se encontram sobretudo no solo. Produzem um grande número de conídios, que são libertados e dispersos no ar pelo vento, levando a uma penetração profunda no trato respiratório

após inalação. O *Aspergillus fumigatus* é a espécie mais detetada nas infecções pulmonares (*A. flavus*, *A. niger*, *A. terreus*, e *A. nidulans* são menos frequentes de causarem infecções por exposição inalatória), infetando sobretudo indivíduos imunodeficientes (Goyal *et al.*, 2018).

O *A. fumigatus* apresenta uma lectina essencial para a sua infeção, a **AFL** (Lectina do *Aspergillus fumigatus*). As propriedades de ligação das lectinas determinam o hospedeiro de preferência, a AFL reconhece especificamente a **fucose** com elevada afinidade, hidrato de carbono que se encontra amplamente distribuído nas células humanas. Acredita-se que esta proteína esteja na superfície conidial do fungo, permitindo a ligação dos conídios ao epitélio pulmonar humano, que é o primeiro passo na infeção pelo *Aspergillus*. Também se admite que esta lectina tenha propriedades pró-inflamatórias desempenhando um papel essencial na colonização do fungo e no desenvolvimento da infeção no corpo humano (Houser *et al.*, 2013).

No entanto, o papel da lectina AFL recentemente identificada na patogénese do *A. fumigatus* ainda não é claro. Estudos publicados sugerem que a ligação promovida pela **AFL** pode efetivamente **atenuar a virulência** do *A. fumigatus*, melhorando a clearance muco-ciliar, a morte pelos macrófagos e/ou a inibição da germinação de conídios em hifas (Dussouy *et al.*, 2021).

As lectinas do hospedeiro, podem exibir atividade antifúngica, antibacteriana e antiviral, desencadeando uma resposta imunológica ou mesmo a morte do agente infeccioso. A família das **lectinas tipo-C** são essenciais na proteção contra infeções, incluindo as fúngicas. Recetores lectinas tipo-C (CLR), que estão envolvidos na identificação do fungo, têm como base o reconhecimento dos glicanos presentes na parede da célula fúngica. Estes CLR são presentes principalmente nas células mielóides (Hardison & Brown, 2012).

As células do *A. fumigatus* são rodeadas por uma **parede celular** à base de **polissacáridos**, que proporciona proteção física e suporte estrutural. Composta principalmente por hidratos de carbono ( $\beta$ -glucano, quitina e galactomanana) e melanina. A parede celular dos fungos é uma estrutura dinâmica, que se altera em resposta ao ambiente externo (Valiante *et al.*, 2015; Stappers *et al.*, 2018). A ligação dos CLR a estes compostos da parede celular fúngica resulta na ativação da resposta

imunitária celular, como a fagocitose, a morte de conídios e a produção de citocinas pró-inflamatórias, como o TNF- $\alpha$ , o IFN- $\alpha$ , a IL-6 e a IL-18 (Goyal *et al.*, 2018).

O reconhecimento fúngico por CLR's específicos pode depender de alterações morfológicas do *Aspergillus spp.*, uma vez que durante a sua evolução, são expostos diversos PAMPs (padrões moleculares associados a agentes patogênicos) em quantidades variáveis na sua superfície. A **Dectina-1** é o CLR mais bem caracterizado para o reconhecimento do *A. fumigatus*, uma vez que reconhece  **$\beta$ -1,3-glucano**, que é um componente importante da parede celular interna deste fungo. Está associada à produção de citocinas pró-inflamatórias TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ , e aumento da capacidade de morte pelos macrófagos durante a exposição ao *A. fumigatus* (Goyal *et al.*, 2018).

Outro exemplo de recetor da lectina do tipo C, é o recetor da lectina do tipo C sensível à melanina (MelLec), que tem um papel essencial na imunidade antifúngica através do reconhecimento do 1,8-di-hidroxi-naftaleno (DHN)-melanina dos esporos conidiais do *A. fumigatus*, bem como noutros fungos melanizados com DHN. A melanina é considerada um fator de virulência fúngica, proporcionando proteção contra espécies reativas de oxigênio e inibindo a fagocitose das células hospedeiras, a produção de citocinas e a apoptose. A MelLec encontra-se em células endoteliais, mas também em células mieloides (Stappers *et al.*, 2018).

#### 4.5.1.1 Terapêutica antifúngica envolvendo lectinas

Os triazóis são a terapêutica de eleição antifúngica, contudo tem-se observado um aumento da resistência antifúngica do *Aspergillus spp.* Este fenómeno contribui para a ausência de uma estratégia terapêutica eficaz contra o *A. fumigatus*, apelando ao desenvolvimento de novas terapias (Buil *et al.*, 2019; Shishodia *et al.*, 2019).

As vacinas para infeções fúngicas têm efeito limitado quando a população alvo é imunocomprometida, não tendo imunidade adaptativa eficiente (Nami *et al.*, 2019). Sendo assim, efetuaram-se estudos para desenvolver uma alternativa tendo por base uma imunização passiva. É o caso da utilização de anticorpos monoclonais (mAbs), como exemplo, tem-se a criação da proteínas de fusão Lectina-Fc(IgG): Dectina1-Fc(IgG2a) e Dectina1-Fc(IgG2b) que têm como objetivo a ligação ao  **$\beta$ -1,3-glucano** da parede celular fúngica e conseqüente **ação antifúngica**. Estudos *in vitro* mostraram que estes anticorpos inibiam a germinação de conídios, reduziam o comprimento dos tubos germinativos, diminuía a formação de biofilme e aumentavam as funções efetoras dos

macrófagos. Com a administração destes em ratinhos, observou-se uma sobrevivência de 20% e uma duplicação do tempo de vida dos ratinhos infetados com *A.fumigatus*, mostrando potencial terapêutico antifúngico (Rodriguez-de la Noval *et al.*, 2020).

#### 4.5.2 Papel das lectinas em doenças bacterianas

As lectinas das bactérias, adesinas, facilitam a ligação destas às células hospedeiras durante a infecção, ligando-se aos recetores glicosídicos através do domínio de reconhecimento ao hidrato de carbono (Hooper & Gordon, 2001).

Algumas lectinas bacterianas têm sido alvo de estudos mais aprofundados e como resultado, encontram-se mais bem caracterizadas. São exemplos, as fímbrias tipo 1 específicas da manose, fímbrias P específicas da galabiose e fímbrias F-17 de ligação à *N*-acetilglucosamina, que são produzidas por diferentes estirpes de *Escherichia coli* (Lewis *et al.*, 2022a).

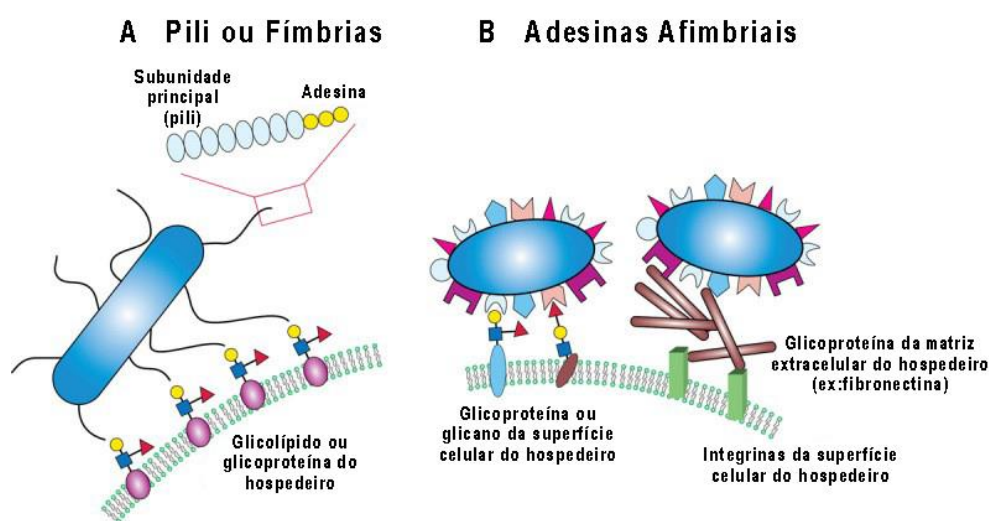
As bactérias *Escherichia coli* são bactérias aeróbias Gram-negativas, encontrando-se como agentes comensais na flora gastrointestinal dos seres humanos e outros vertebrados (Brabb *et al.*, 2012). Embora tipicamente não patogénica, a *E. coli* apresenta estirpes patogénicas (patotipos), através da aquisição de material genético virulento, sendo capaz de causar uma série de doenças, desde gastroenterites a infeções do trato urinário, da corrente sanguínea e do sistema nervoso central (Croxen & Finlay, 2010).

A interação glicosídica é de extrema importância, não só nos processos mutualistas em que as bactérias como a *E.coli* são responsáveis pela digestão/metabolismo dos glicanos provenientes da dieta no hospedeiro, resultando em benefício, mas também nos processos patogénicos, em que as estirpes virulentas desta bactéria utilizam a ligação glicosídica para as suas toxinas solúveis poliméricas serem transferidas para a célula (Lewis *et al.*, 2022a).

As adesinas das bactérias para além de permitirem a adesão às células do hospedeiro, também estão envolvidas noutros processos patogénicos, como a formação de biofilmes, resistência antimicrobiana, e no mecanismo pelo qual as bactérias podem ser internalizadas nas células. As adesinas podem se apresentar na extremidade de longos apêndices que se projetam da superfície bacteriana, denominados fímbrias ou

pili, ou encontrarem-se ligadas à membrana externa ou à parede celular bacteriana, como ilustrado na Figura 5 (Lewis *et al.*, 2022b).

As fimbrias representam um fator de virulência essencial nas bactérias Gram-negativas, particularmente as que pertencem à família *Enterobacteriaceae*, como a *E.coli*. São estruturas filamentosas constituídas por subunidades repetitivas proteicas (proporcionando extensão). Entre as fimbrias mais bem caracterizadas encontram-se as fimbrias do tipo 1 que possuem na sua extremidade a lectina *FimH*, proporcionando ligação (Sharon, 1987; Lewis *et al.*, 2022b).



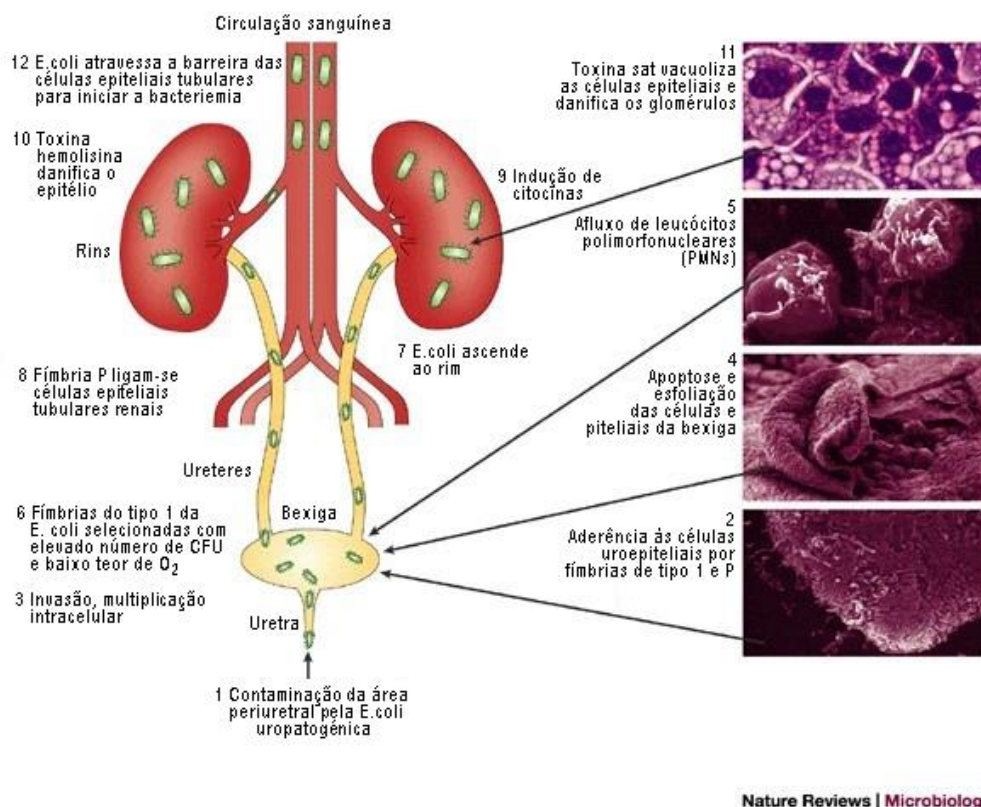
**Figura 5: Mecanismos de adesão bacteriana à superfície das células hospedeiras.** (A) Pili ou fimbrias são estruturas que se projetam a partir da superfície celular. São constituídos por uma subunidade estrutural repetitiva e uma proteína na sua extremidade que medeia o reconhecimento de um padrão glicano específico da célula hospedeira. (B) As adesinas afimbriais são proteínas integrais da parede celular bacteriana ou glicoproteínas que envolvem diretamente receptores da célula hospedeira para promover a colonização (Adaptado de Lewis *et al.*, 2022b).

A *FimH* é uma adesina que se liga especificamente à **manose**. Isto é relevante para a capacidade que as diferentes estirpes de *E.coli* têm em desenvolver infecções nos diferentes órgãos do ser humano. Como exemplo, tem-se as infecções do trato urinário (causada pela estirpe *E.coli* uropatogénica), em que as fimbrias do tipo 1 medeiam a ligação das bactérias à glicoproteína *Uroplakin Ia* na superfície das células epiteliais da bexiga. A *Uroplakin Ia* apresenta níveis elevados de resíduos de **manose** expostos na sua terminação, que são capazes de interagir especificamente com a *FimH*. As uroplaquinas (UP) são glicoproteínas especializadas do urotélio que podem ser sintetizadas em diferentes formas glicosídicas, a UPIa que contém N-glicanos de alto teor em manose, UPIb e UPIIIa constituídas por N-glicanos complexos e UPII com

ausência de glicanos. A ligação da *FimH* à UPIa ocorre com uma força moderada, mas a presença de múltiplos locais de ligação (*FimH*) na bactéria e de uma matriz múltipla de receptores UPs polimerizados torna a ligação relativamente forte. As fímbrias do tipo 1 também têm a capacidade de se ligar à glicoproteína urinária solúvel *Tamm-Horsfall*/uromodulina, com elevado teor de manose, contudo estes agregados bacterianos resultantes costumam ser eliminados do trato urinário, funcionando assim como um sistema de defesa de primeira linha contra infecção (Kątnik-Prastowska *et al.*, 2014; Lewis *et al.*, 2022a).

A fímbria tipo 1 exibe diferentes fenótipos de acordo com a **variação alélica** para o gene que codifica a lectina *FimH*. Esta variação tem como consequência a capacidade de reconhecimento de manose. Por exemplo, todas as subunidades *FimH* estudadas até à data são capazes de mediar a adesão através de resíduos de **tri-manose**, mas apenas algumas variantes são capazes de mediar níveis elevados de adesão através de resíduos de mono-manose, estruturas abundantes nas porções de oligossacáridos das **glicoproteínas uroteliais**, estando assim fortemente correlacionada com a sua capacidade de mediar a adesão da *E. coli* às células uroepiteliais. Assim, certas variantes fenotípicas das fímbrias de tipo 1 contribuem mais do que outras para a virulência da *E. coli* no trato urinário (Sokurenko *et al.*, 1998).

A infecção urinária, representada na Figura 6, costuma-se iniciar com a colonização por uma estirpe *E.coli* uropatogénica. Esta estirpe, em virtude de fatores internos que estão codificados em ilhas de patogenicidade, é capaz de infetar um hospedeiro imunocompetente, colonizando a área periuretral e ascendendo, pela uretra, até à bexiga. As fímbrias tipo 1 têm um papel importante no início do desenvolvimento de uma ITU (infecção do trato urinário) ao permitir a adesão às células hospedeiras e, no decorrer desta, ao aumentar a persistência bacteriana e a resposta inflamatória à infecção (Kaper *et al.*, 2004; Croxen & Finlay, 2010).



**Figura 6: Mecanismo de infecção do trato urinário pela *E.coli* uropatogênica.** Realçando a importância da fímbria do tipo 1 e da fímbria P no início e no desenvolvimento deste processo. Abreviaturas: PMNs:leucócitos polimorfonucleares; CFU: Unidades formadoras de colônia. (Adaptado de Kaper *et al.*, 2004).

Outra fímbria importante da constituição da *E.coli* uropatogênica é a **fímbria P**, mencionada nos passos 2 e 8 da Figura 6 (Lewis *et al.*, 2022a). Esta fímbria apresenta a **adesina PapG** na sua extremidade, que possui especificidade para a **galabiose**, que é um dissacárido composto por dois resíduos de **galactose** ligados por uma ligação  $\alpha(1\rightarrow4)$  (Gal- $\alpha$ 1-4Gal). Foi o primeiro fator adesivo de virulência a ser caracterizado na *E.coli* uropatogênica (UPEC) e são significativamente predominantes entre as estirpes de UPEC que causam pielonefrite (infecção dos rins). Isto deve-se ao facto das células da epiderme renal e do trato urinário superior conterem glicolípidos com galabiose na sua extremidade. Deste modo, a expressão da *FimH* e da PapG permite que as bactérias se liguem às células da bexiga e dos rins que expressam uroplaquinas manosiladas e glicolípidos ricos em galabiose, respetivamente (Sarshar *et al.*, 2020).

Em certos casos as bactérias expressam lectinas capazes de se ligar a glicoproteínas da matriz (fibronectina, colagénio ou laminina) ou mucina, permitindo a ligação à mucosa superficial. Deste modo a especificidade das lectinas condiciona o

tecido-alvo da bactéria (tropismo) (exemplo, pele, trato respiratório, trato gastrointestinal ou urinário), dado que diferentes tecidos dispõem de diferentes recetores de adesinas, ao qual estas se ligam (Lewis *et al.*, 2022b).

#### 4.5.2.1 Terapêutica antibiótica envolvendo glicanos

A *Escherichia coli* uropatogénica possui genes que a tornam mais virulenta e resistente a antibióticos, especialmente aos  $\beta$ -lactâmicos, contribuindo para a recorrência de infeções urinárias. O uso de antibióticos ao longo do tempo selecionou estirpes mais resistentes, dificultando o tratamento e a eliminação da infeção (Narciso *et al.*, 2010).

Devido à sua capacidade de interagir com múltiplos ligandos e promover diversas funções patogénicas, a *FimH* emerge como um alvo crucial para o desenvolvimento de terapias antiadesivas (Sarshar *et al.*, 2020).

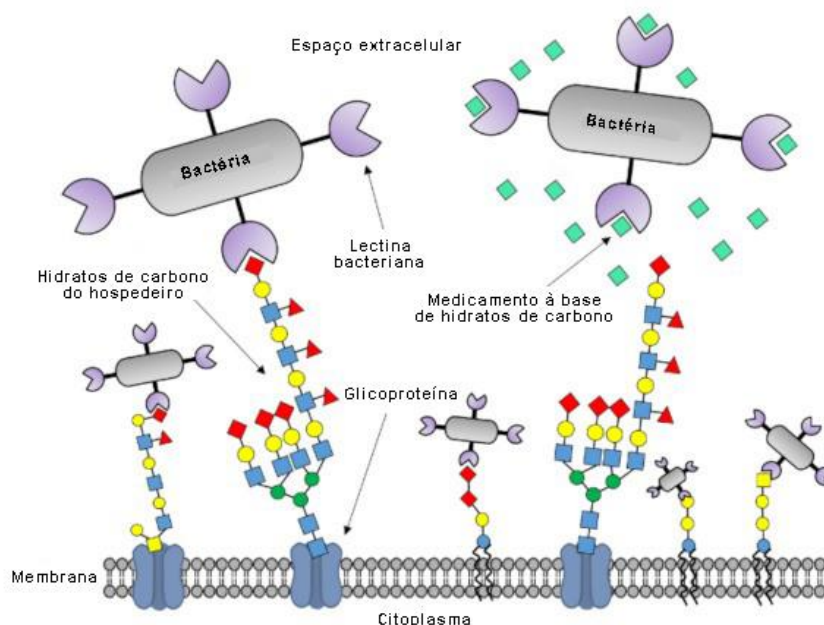
A adesina *FimH* é constituída por dois domínios, o domínio da lectina (*FimH<sub>LD</sub>*) que engloba o domínio de reconhecimento de hidratos de carbono (CRD), e o domínio da *pilin* (*FimH<sub>PD</sub>*). A interação entre estes dois domínios, *FimH<sub>LD</sub>* e *FimH<sub>PD</sub>*, determina o estado conformacional da adesina. O CRD na *FimH<sub>LD</sub>* é responsável pela ligação às moléculas manosiladas, na medida em que, a composição de aminoácidos permite a formação da bolsa de ligação à manose (MBP), carregada negativamente. Sendo assim, os aminoácidos que englobam a MBP são extremamente conservados entre as *E.coli* uropatogénicas, e qualquer mutação nesses aminoácidos resulta na anulação da função da adesina (Sarshar *et al.*, 2020).

Diversos inibidores solúveis de *FimH*, como os **D-manósidos**, e as suas variações químicas têm sido desenvolvidos para o bloqueio da *FimH*. Os glicanos monovalentes naturais, como a **D-manose**, devido à sua disponibilidade em vegetais e frutas, é utilizada como suplemento para a prevenção e tratamento de infeções do trato urinário, ou em combinação com antibióticos, tendo demonstrado a sua eficácia em diferentes estudos clínicos (Wagenlehner *et al.*, 2022). No entanto, apresenta baixa estabilidade e rápida excreção no organismo, dificultando o seu uso terapêutico (Sarshar *et al.*, 2020).

O artigo de revisão realizado por Sarshar *et al.* menciona algumas abordagens na inibição da adesina *FimH* da *E.coli* uropatogénica utilizando glicósidos modificados, chamados glicomiméticos, para mimetizar a função dos glicanos sem os seus problemas

de baixa estabilidade. Os derivados bifenílicos revelaram-se apelativos, devido às suas numerosas interações de ligação favoráveis no interior da MBP, ligando-se à sequência da tirosina (constituída pelos aminoácidos tirosina 137, isoleucina 52 e tirosina 44), que cobre a zona hidrofóbica do sítio de ligação à manose da *FimH<sub>LD</sub>*. Grupos bifenil ligados a manósidos mostraram aumento da estabilidade metabólica, biodisponibilidade e permeabilidade intestinal. Um exemplo promissor é o “3'-cloro-4'-( $\alpha$ -D-manopiranosiloxi) bifenil 4-carbonitriler” que mostrou reduzir drasticamente a carga bacteriana no trato urinário de modelos animais após administração oral, destacando o potencial terapêutico desta abordagem (Sarshar *et al.*, 2020).

Na Figura 7 é possível observar como a terapia baseada em glicomiméticos atua nas lectinas da bactéria.



**Figura 7: Interação lectina-glicano no processo patogénico bacteriano e possível ação antiaderente.** Representação do mecanismo de atuação de um fármaco à base de hidratos de carbono na lectina da bactéria (necessário saber a estrutura da lectina do agente patogénico e o ponto de ligação do recetor do hospedeiro) (Adaptado de Cho *et al.*, 2022).

### 4.5.3 Papel das lectinas em doenças virais

As lectinas virais desempenham um papel crucial na interação do vírus com as células hospedeiras durante o processo de infeção. A **lectina do vírus influenza**, hemaglutinina, foi a primeira proteína viral de ligação a glicanos identificada, tratando-se de uma lectina de ligação ao **ácido siálico**. A hemaglutinina é o principal antígeno

contra o qual são produzidos anticorpos neutralizantes. As estirpes da gripe adquirem continuamente alterações genéticas que afetam tanto a ligação aos glicanos como a antigenicidade. Estas alterações são responsáveis, em parte, por novos surtos e são consideradas durante a formulação da vacina anual contra a gripe (Lewis *et al.*, 2022a).

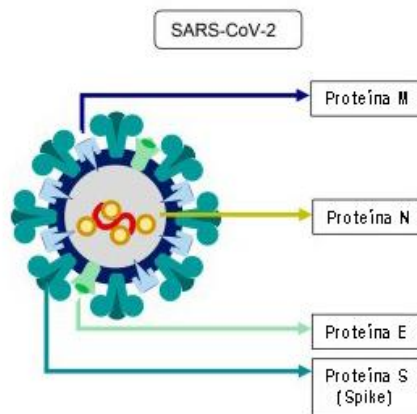
Apesar da extensa pesquisa em torno das lectinas de vírus como o influenza, outros vírus de grande relevância epidemiológica, como o HIV e o SARS-CoV-2 evoluíram para utilizar recetores proteicos específicos, possuindo glicoproteínas como agentes de ligação principal às células humanas (Nabi-Afjadi *et al.*, 2022).

#### 4.5.3.1 Vírus SARS-CoV-2

SARS-CoV-2, o coronavírus responsável pela síndrome respiratória aguda grave 2, transmissor da doença conhecida como COVID-19, é um vírus de RNA de cadeia simples, de forma esférica, condensado numa nucleocápside. A partícula viral tem uma estrutura característica de coroa devido à presença de proteínas em forma de espiga “Spike protein” (S) na sua superfície, que desempenham um papel crucial na entrada do vírus nas células hospedeiras (Lefter *et al.*, 2024).

O ciclo viral inicia-se com a ligação da **proteína Spike** do vírus, mais propriamente o domínio de ligação ao recetor (RBD), ao **recetor da enzima conversora da angiotensina 2 (ACE2)** da célula hospedeira. Esta ligação promove a entrada do genoma viral na célula com a sua posterior tradução e replicação, resultando na formação de viriões e na sua libertação, contribuindo para a replicação viral. Esta ligação para além de promover a replicação viral causa um desequilíbrio ACE/ACE2 e ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona, resultando na acumulação de angiotensina II que tem um impacto negativo na ativação imunitária, podendo causar doença pulmonar (Lefter *et al.*, 2024).

O genoma do SARS-CoV-2 codifica quatro proteínas estruturais, a glicoproteína Spike (S), a proteína da membrana (M), a proteína do envelope (E) e a proteína da nucleocápside (N), como ilustrado na Figura 8 (Reis *et al.*, 2021). Para além da proteína S, a **proteína M e E** também contribuem para a estabilidade da partícula viral e têm um papel essencial para a formação e libertação de novos viriões (Lefter *et al.*, 2024).



**Figura 8: Estrutura do SARS-Cov-2.** A proteína S, M e E são expressas na superfície viral, enquanto que a proteína N no interior, interagindo com o genoma viral. (Adaptado de Bains *et al.*, 2023).

A proteína S é constituída pela **subunidade S1**, contem o domínio N-terminal (NTD) e o domínio de ligação ao recetor (RBD), e pela **subunidade S2** (domínio membranar) importante na fusão do virião com a membrana celular do hospedeiro. A proteína S do SARS-CoV-2 é extensivamente **glicosilada**, sendo que cada protómero da proteína homotrimérica transmembranar apresenta 22 locais de N-glicosilação (11 destes pertencem ao domínio S1) e 3 locais de O-glicosilação (Reis *et al.*, 2021; Muñoz-Basagoiti *et al.*, 2023).

O recetor ACE2 é uma glicoproteína de membrana que também é N-glicosilada. A interação da proteína S glicosilada com a ACE2 faz-se através de interações glicano-proteína (glicano da parte do ACE2) e glicano-glicano (Reis *et al.*, 2021). A proteína S é encontrada como um trímero com duas conformações metaestáveis em que o RBD pode se encontrar no estado “up” ou “down”. Após a ligação ao recetor da ACE2, os domínios S1 e S2 da proteína S são clivados por proteases de superfície como a TMPRSS2 ou a catepsina L. A clivagem dos domínios da proteína S provoca alterações estruturais irreversíveis e prepara para a fusão viral (Ahan *et al.*, 2022).

Com o decorrer dos anos, tem se observado o desenvolvimento e distribuição de múltiplas vacinas para o SARS-CoV-2, baseadas em ácidos nucleicos, proteínas e péptidos virais recombinantes, para reduzir o risco de morte associada a estes vírus. Contudo, com o surgimento de novas variantes altamente transmissíveis, a circulação viral e a incidência da doença continuam a ser uma grande preocupação a nível de saúde pública (Oordt-Speets *et al.*, 2023).

No mercado europeu encontra-se disponível, para além das vacinas, fármacos para o tratamento da COVID-19, tal como, anticorpos monoclonais. Contudo, estes têm mostrado uma eficácia reduzida no tratamento contra variantes de risco do SARS-Cov-2 (ex: *Omicron*). Através da evolução adaptativa, estas variantes adquirem **mutações** no domínio de ligação ao recetor (RBD) da proteína Spike (S), que resulta potencialmente no bloqueio do epítopo específico do anticorpo (Nabel *et al.*, 2022).

As lectinas mostram-se como uma boa aposta no tratamento antiviral, principalmente devido à sua natureza não imunológica, potencial de reconhecimento e ligação reversível a moléculas de glicoconjugados complexos (Lotfi *et al.*, 2017). Até ao momento, as lectinas “Griffithsin” (GRFT) e Cianovirina-N (CVN) são consideradas das mais promissoras para o tratamento anti-viral contra uma ampla gama de vírus, entre eles o SARS-CoV-2 e o HIV (Van Damme & Rougé, 2023).

#### 4.5.3.1.1 Terapêutica antiviral envolvendo lectinas

A lectina CVN, isolada da cianobactéria *Nostoc ellipsosporum*, é um polipéptido de 101 aminoácidos, reconhece resíduos de Manose (Man $\alpha$ 1-2Man/Man $\alpha$ 1-2Man $\alpha$ 1-2Man) e apresenta-se sobre a forma de dímero em que cada monómero possui 2 CRDs (Boyd *et al.*, 1997).

Estudos *in vitro* mostram que a CVN tem capacidade de se ligar ao domínio S1 da proteína Spike do vírus SARS-CoV-2, ligando-se a oligossacáridos que possuem resíduos de manose na sua terminação (Muñoz-Basagoiti *et al.*, 2023). A Figura 9 ilustra a interação da CVN com oligosacárido com elevado teor de manose.

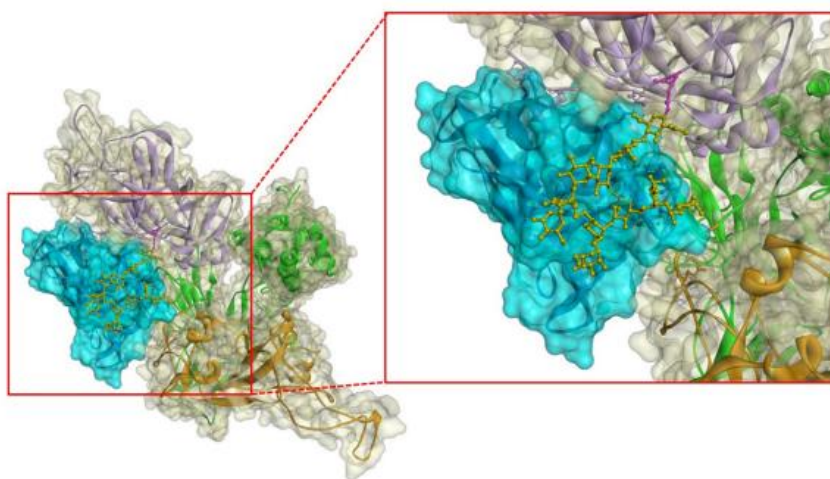


**Figura 9:** Interação da CVN (azul) com oligosacárido com elevado teor de manose (amarelo) (Muñoz-Basagoiti *et al.*, 2023).

No estudo *in vitro* efetuado por Muñoz-Basagoiti *et al.* onde submeteram diferentes estirpes de SARS-CoV-2 ao pré-tratamento com CVN, concluíram que a *Omicron* foi a mais suscetível, apesar das substituições significativas de aminoácidos

na proteína Spike. Mostrando que estas **mutações** não impediam a ligação da lectina, sugerindo-se que os locais de **glicosilação** da proteína Spike eram **conservados**, o que pode implicar uma vantagem na utilização de lectinas contra infecções do SARS-CoV-2 (Muñoz-Basagoiti *et al.*, 2023).

A CVN possui múltiplos locais de ligação na Spike. Estudos de ELISA mostraram que a CVN não se ligava ao RBD da spike, mas sim a oligomanósidos (oligossacáridos com manose terminal) *N-linked* do domínio *N-terminal*, sendo o N234 um dos ligandos, interação representada na Figura 10. Este oligomanósido tem influência na passagem do estado “down” para “up” do RBD, contribuindo para a sua estabilidade e posterior fusão do virião na célula hospedeira. O estudo sugere assim que a ligação da CVN permite a ligação viral do RBD do vírus ao recetor ACE2 da célula humana, mas impede a entrada do SARS-CoV-2 na célula (Sztain *et al.*, 2021; Muñoz-Basagoiti *et al.*, 2023).



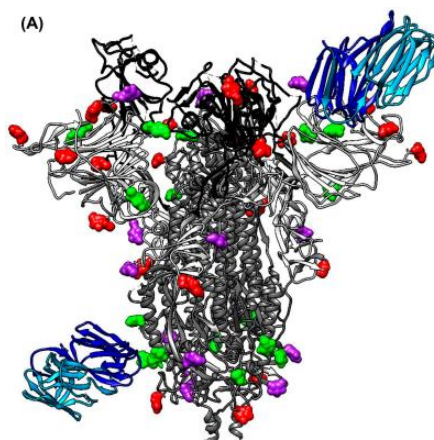
**Figura 10: Modelo molecular da ligação da CVN ao oligossacárido de alto teor em manose N234 da proteína Spike da variante *Omicron*.** Representação da CVN (azul), domínio S1 da proteína Spike (superfície amarela clara); Oligossacárido de manose (N234) é apresentado na forma de esferas e barras (amarelo); O N234, representado a cor-de-rosa, é o resíduo que liga o oligossacárido de manose à estrutura S1; A estrutura do NTD (domínio *N-terminal*) está representada a roxo e a estrutura do RBD a laranja (Muñoz-Basagoiti *et al.*, 2023).

Estudos afirmam que apesar das mutações e variantes antigénicas, os locais de glicosilação em N165, N234 e N343 eram **100% conservados**, e ainda que pseudovírus com dois locais de glicosilação eliminados no RBD perdiam a sua infecciosidade, revelando a importância da **glicosilação** no RBD para a **infecciosidade viral** (Li *et al.*, 2020). Adicionalmente, mostraram que glicanos que não pertencem ao RBD como os de N165 e N234 são, de facto, importantes para a **plasticidade conformacional** do

domínio de ligação ao recetor (RBD) da proteína Spike do SARS-CoV-2 e, conseqüentemente, para a sua interação com o recetor ACE2 (Muñoz-Basagoiti *et al.*, 2023).

Estudos *in vivo* para avaliar a eficácia da CVN foram efetuados (pré-tratamento com CVN em hamsters), verificando que apesar desta mostrar atividade antiviral contra o vírus SARS-CoV-2, induzia certo grau de toxicidade dependendo da via de administração, sendo a via inalatória mais tóxica que a subcutânea (Muñoz-Basagoiti *et al.*, 2023).

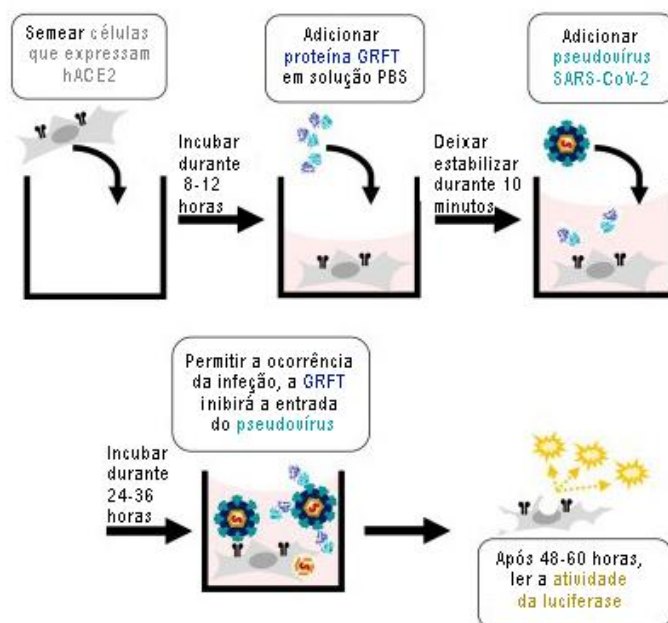
A lectina “**Griffithsin**” (GRFT) proveniente da alga vermelha *Griffithsia sp.* é considerada a lectina mais promissora para o tratamento do SARS-CoV-2 com base em estudos **pré-clínicos**. A GRFT, de 121 aminoácidos, apresenta-se sob a forma de dímero de domínios alternados com três sítios de ligação a hidratos de carbono em cada monómero. Tem como alvo, tal como a CVN, oligossacáridos ricos em **manose**. A Figura 11 ilustra as possíveis ligações da GRFT na proteína Spike do SARS-CoV-2 (Bains *et al.*, 2023).



**Figura 11: Representação da ligação da GRFT (azul) aos glicanos N-linked da proteína Spike (cinzento) do SARS-CoV-2.** Os diferentes tipos de glicanos estão representados com cores distintas (os glicanos predominantemente de alto teor de manose são verdes, os glicanos predominantemente complexos são vermelhos e os glicanos híbridos/glicanos sem consenso entre alto teor de manose e complexo estão representados a roxo). (Bains *et al.*, 2023)

Tal como na CVN, não se sabe ao certo o mecanismo envolvido na inibição da ligação da proteína spike ao recetor ACE2 e posterior replicação viral. Considera-se que a interação da GRFT se baseie na ligação aos oligossacáridos ricos em manose do RBD da proteína Spike (S1), impedindo a interação com o recetor ACE2 nas células hospedeiras. Como a GRFT possui mais CRDs que a CVN, terá capacidade de se ligar

a mais oligomanósidos, obstruindo a ligação do RBD na célula hospedeira (Figura 12). Por outro lado, foi demonstrado que GRFT inibe a infecção ao interferir com outras proteínas estruturais virais, como a proteína M do SARS-CoV-2, melhorando a eficácia do bloqueio da fusão e entrada viral (Ahan *et al.*, 2022; Bains *et al.*, 2023).



**Figura 12: Representação esquemática da inibição da GRFT na infecção direta pelo vírus SARS-CoV-2 mediada por hACE2** (Adaptado de Bains *et al.*, 2023).

A GRFT encontra-se atualmente na **fase I de ensaios clínicos**, sendo testada na forma de spray nasal, mostrando atividade antiviral na **profilaxia** tópica contra o vírus SARS-CoV-2 e segurança em humanos (Nabeta *et al.*, 2023).

O conhecimento e a investigação da atividade antiviral destas lectinas provém de extensivos estudos em que estas eram aplicadas como microbicidas para o **HIV**, o que facilitou a **adaptação** da sua utilização para o **SARS-Cov-2** (Cai *et al.*, 2020).

#### 4.5.3.2 Vírus HIV

O vírus da imunodeficiência humana (HIV) pertence à família dos vírus *Retroviridae*, com o genoma viral de RNA transcrito de forma inversa em DNA antes de ser integrado no DNA do hospedeiro, resultando numa infecção ao longo da vida (Swinkels; *et al.*, 2024). É um vírus de envelope cuja superfície é coberta pelas proteínas **gp120** e **gp41**. A vagina, o reto e a uretra masculina são os alvos iniciais da

infecção pelo vírus nas membranas da mucosa, através das quais o HIV pode entrar na corrente sanguínea e infectar o hospedeiro (Shattock & Rosenberg, 2012).

O principal recetor celular do hospedeiro para o HIV é o antígeno **CD4+**, as células T e os macrófagos que expressam CD4+ são os principais alvos. A glicoproteína do envelope na superfície da partícula viral, gp120, liga-se ao recetor CD4+. Os co-recetores de quimiocina 5 (CCR5) e 4 (CXCR4) na superfície da célula hospedeira desencadeiam uma alteração conformacional na proteína do envelope, que resulta na fusão das membranas celulares do vírus e do hospedeiro. A cápside viral é libertada na célula hospedeira quando ocorre a fusão das membranas (Jan *et al.*, 2018; Swinkels *et al.*, 2024). Na Figura 13 está representada a estrutura do HIV.

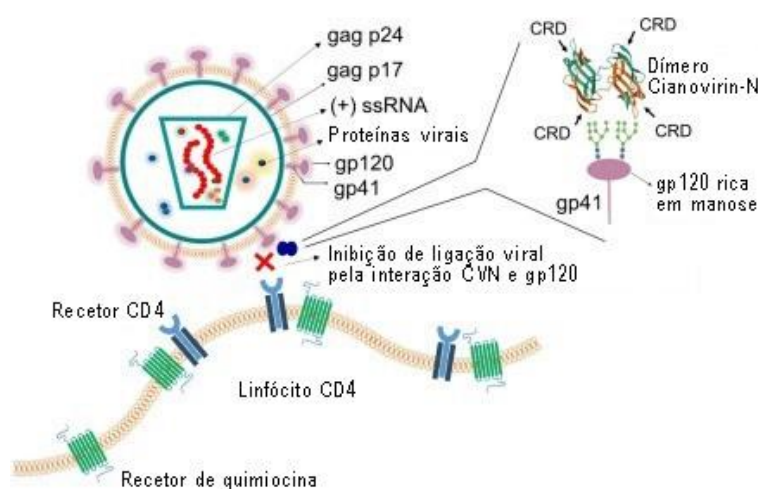


**Figura 13: Vírus HIV-1 e correspondentes glicoproteínas gp120 e gp41.** O HIV, que pertence ao género *Lentivirus*, incorpora numerosos componentes nas suas partículas virais, uma vez que estas têm de transportar a maquinaria necessária para transcrever reversamente o genoma do RNA lentiviral e incorporá-lo no genoma do DNA do hospedeiro. (Adaptado de Bains *et al.*, 2023).

As células Dendríticas (CD) e os macrófagos são células imunitárias inatas que se ligam aos glicanos (manose) do HIV usando **lectinas do tipo C**, como o recetor da manose e a langerina. Estas células são importantes na apresentação de antígenos ao sistema imunitário adaptativo. As CD que residem nos tecidos submucosos da vagina e do reto são alvos precoces do HIV, apresentando o antígeno às células T CD4. Este processo é designado por trans-infecção e facilita o estabelecimento precoce da infecção pelo HIV (Lewis *et al.*, 2022b).

#### 4.5.3.2.1 Terapêutica antiviral envolvendo lectinas

A CVN e a GRFT inibem a atividade viral do HIV ao ligarem-se à proteína gp120, rica em manose, do vírus, interferindo com a ligação desta e dos recetores da célula alvo, impedindo a fusão do vírus na membrana da célula CD4 (Bektas & Kaptan, 2024). Contudo, estudos indicam que estas lectinas não conseguem inibir de forma significativa a ligação gp120-CD4, ligando-se substancialmente a regiões essenciais para as mudanças conformacionais necessárias para a fusão viral, impossibilitando assim a mesma (Mariner *et al.*, 1998; O’Keefe *et al.*, 2010).



**Figura 14: Inibição da ligação viral com base na interação glicano-lectina no vírus HIV.** Os domínios CRD da CVN interagem com resíduos de manose das glicoproteínas gp120 do HIV, impedindo a fusão do HIV com a membrana da célula CD4. (Adaptado de Bektas & Kaptan, 2024)

Num estudo efetuado por Jan *et al.*, utilizou-se diferentes estirpes do vírus HIV, diferindo na sua composição glicosídica do envelope, concluindo que as diferentes estirpes apresentavam diferenças na sensibilidade às lectinas que se ligavam aos glicanos do envelope. Ao utilizar 8 lectinas diferentes, observaram que as lectinas de elevada ligação à manose GRFT e CVN, que reconhecem resíduos terminais  $\alpha$ 1-2Man, eram as mais potentes contra os diferentes vírus testados (Jan *et al.*, 2018).

Ensaio clínico em seres humanos revelaram que a administração de GRFT em forma de gel (0.1% GRFT em carragenina (CG) gel) por via vaginal não conduzia a qualquer resposta pró-inflamatória ou tóxica. Sendo um tratamento profilático vantajoso, não induzindo a estirpes virais resistentes, como acontece com a profilaxia de medicamentos adaptados antirretrovirais (Teleshova *et al.*, 2022).

A CVN ainda se encontra na fase de estudos pré-clínicos, mostrando resultados positivos quando formulada em gel para a proteção de macacos contra o vírus HIV (Xiong *et al.*, 2010; Lotfi *et al.*, 2017).

A glicosilação demonstrou ser importante na moldagem e na função das glicoproteínas virais e, no caso do SARS-CoV-2 e HIV, a desglicosilação da proteína spike e gp120, diminui a sua ligação ao recetor ACE2 e CD4 respetivamente, tornando o vírus menos infeccioso. Em alternativa, a desglicosilação pode revelar epítomos proteicos que podem ser reconhecidos pelo sistema imunitário adaptativo, permitindo que o sistema imunitário combata a infeção destes vírus de forma mais eficaz (Keeffe *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2020).

Dado que a proteína S1 do SARS-CoV-2 e o envelope do HIV são fortemente glicosilados em N-glicanos de alto teor em manose, estas lectinas mostram-se como potenciais candidatos para estratégias de pré-tratamento, como forma de atenuar a virulência dos mesmos. Estes vírus, ao sofrerem mutações contínuas, proporcionam variantes antigénicas resistentes aos mAbs e aos anticorpos gerados por vacinas, enquanto os locais de glicosilação mantêm-se conservados. Como as lectinas apresentam um mecanismo de ação distinto dos atuais agentes antivirais aprovados, oferecem um método de profilaxia antiviral que pode ser sinérgico com outras abordagens (Nabi-Afjadi *et al.*, 2022).

#### **4.5.4 Projeções futuras**

Para efeito de produção das lectinas antimicrobianas em larga escala, observou-se que a expressão recombinante destas em bactérias, como a *E. coli*, ou em sistemas de expressão em plantas, proporcionam rendimentos suficientes para apoiar ensaios clínicos, e uma produção rentável para a utilização das lectinas como agentes antivirais (Ahan *et al.*, 2022; Muñoz-Basagoiti *et al.*, 2023).

Apesar da grande vantagem exposta na utilização de lectinas como agentes terapêuticos, é importante notar que são biomoléculas e que a avaliação toxicológica é um critério importante que direciona o seu desenvolvimento enquanto opção terapêutica. Por exemplo, existem provas de que a GRFT se liga a células humanas, incluindo células mononucleares do sangue periférico e células epiteliais humanas, no entanto a sua ligação não causou qualquer efeito mitogénico, imunogénico ou tóxico

nas células. A CVN, por outro lado, tem apresentado efeito toxicológico em alguns ensaios *in vivo*, evidenciando o risco que as lectinas podem apresentar nas células animais. A submissão das lectinas com potencial terapêutico em estudos com animais e posterior avaliação dos seus biomarcadores, é indispensável para a prevenção de toxicidade no humano (Ahan *et al.*, 2022).

No contexto da COVID-19, as lectinas endógenas demonstraram ser **biomarcadores** fundamentais para avaliar a intensidade da pneumonia causada pelo SARS-CoV-2. Um dos exemplos são as proteínas hidrofílicas surfactantes, SP-A e SP-D, que pertencem à família das lectinas tipo-C e são produzidas pelo epitélio alveolar tipo II e células de clara. Estas lectinas, que fazem parte do sistema imunitário inato, são particularmente importantes na resposta imunológica pulmonar. Estas podem ajudar a identificar pacientes em maior risco de desenvolver quadros mais graves, fornecendo informações sobre o nível de inflamação e a extensão do dano alveolar. Poderão ser das lectinas específicas do pulmão mais sensíveis à tomografia computacional (CT). As suas concentrações aumentam com o grau de inflamação severa nos pulmões, mostrando-se úteis para orientar os médicos na necessidade de intervenções terapêuticas mais intensivas (Takenaka *et al.*, 2023).

As **vacinas** que geralmente utilizam subunidades de antígenos ou antígenos inativados, beneficiam da adição de **adjuvantes** para promover uma resposta imunológica eficaz, uma vez que esses antígenos isolados não conseguem desencadear uma imunidade adaptativa reforçada. Diferentes lectinas de plantas têm demonstrado potencial como moduladores imunológicos, pois estimulam a produção de citocinas e outros mediadores, como espécies reativas de oxigénio e nitrogénio, fortalecendo assim a resposta imunológica contra microrganismos. Padiyappa *et al.*, mostrou que a lectina de alho, *Allium sativum agglutinins* (ASAs), que se liga à manose, como a ASA1, apresentava propriedades imunológicas notáveis. Ao administrar esta lectina juntamente com o antígeno ovalbumina (OVA) (proteína específica do ovo), em modelos de ratinhos, concluiu que a resposta de anticorpos anti-OVA aumentava em comparação com o uso isolado do antígeno, demonstrando a potencialidade da lectina ASA1 para ser utilizada como agente de formulação com antígeno fraco. Apesar das lectinas de plantas demonstrarem a sua potencial ação adjuvante em vacinas, em modelos animais, a sua utilização é limitada devido aos custos dispendiosos de fabrico e purificação (Kumar *et al.*, 2022; Padiyappa *et al.*, 2022).

Os anticorpos antiglicanos (AGA) têm frequentemente uma afinidade mais forte e uma maior especificidade para os oligossacáridos do que as lectinas, mas são difíceis de desenvolver devido à baixa imunogenicidade dos hidratos de carbono e à produção complexa de materiais antigénicos. As lectinas têm geralmente uma afinidade mais fraca para os monossacáridos, mas a sua estrutura oligomérica pode atingir uma afinidade e uma seletividade elevadas através da ligação a múltiplos locais dos glicanos, mostrando-se especialmente úteis para o tratamento e prevenção de infeções em doentes imunocomprometidos incapazes de produzir anticorpos neutralizantes adequados (Tommasone *et al.*, 2019; Carneiro *et al.*, 2021).

Os produtos biofarmacêuticos têm algumas vantagens em comparação com os medicamentos tradicionais, tais como uma maior especificidade, menores efeitos secundários e um desenvolvimento clínico mais rápido, contudo, a administração de proteínas terapêuticas é um desafio devido à sua suscetibilidade a pH extremos, à degradação enzimática e à fraca absorção por via oral (Carneiro *et al.*, 2021).

## 5 Conclusões

A compreensão dos mecanismos associados às lectinas e glicanos constituintes dos agentes patogénicos, torna-se essencial para entender o envolvimento destes na doença, assim como identificar novos alvos terapêuticos. É demonstrada a versatilidade das lectinas, uma vez que estas apresentam diversas aplicações como agentes antimicrobianos, ferramentas biomédicas e adjuvantes.

Os agentes patogénicos, cada vez mais se tornam uma ameaça para a população, dado o aumento da sua resistência a fármacos convencionais e o aparecimento de estirpes resistentes. Por conseguinte, produtos biofarmacêuticos, como as lectinas e os glicanos, para além de fornecerem dados importantes sobre o mecanismo destes agentes infecciosos, apresentam-se como agentes antimicrobianos sugestivos e promissores para a profilaxia e aplicações terapêuticas de infeções patogénicas.

No âmbito das terapias antimicrobianas, as lectinas fornecem um mecanismo de ação distinto das terapias convencionais, podendo atuar em conjunto originando um sinergismo. No caso dos fungos, a adição de lectinas aos anticorpos pode aumentar a sua eficácia ao direcionar as respostas imunitárias para o alvo correto. Nas bactérias, estudos têm demonstrado que o bloqueio de lectinas patogénicas com glicanos específicos, como no caso da FimH da *E. coli*, pode impedir a adesão bacteriana e, conseqüentemente, reduzir a infeção. Em relação aos vírus, as lectinas que se ligam à manose mostram-se como os agentes antivirais mais indicados, dado que os resíduos de manose são comuns nos glicoconjugados envolvidos na entrada viral, como a gp120 do HIV e a proteína Spike do SARS-CoV-2, oferecendo uma nova perspectiva terapêutica.

No entanto, apesar dos avanços, os ensaios clínicos com lectinas ainda se encontram em fases experimentais. Serão necessários mais estudos para determinar a sua eficácia e segurança enquanto agentes antimicrobianos. Dada a sua possível ação toxicológica nas células animais, os ensaios *in vivo* mostram-se de extrema importância para a avaliação da sua segurança através de biomarcadores do organismo. Deste modo, a análise de possíveis efeitos adversos e a compreensão de como as lectinas podem ser melhor integradas nas terapias existentes, sem causar resistência ou efeitos secundários indesejados, é essencial para o desenvolvimento destas enquanto agentes terapêuticos seguros para o homem.

As lectinas apresentam assim um duplo papel nas doenças infecciosas, por um lado, contribuem para a virulência de certos agentes patogênicos e por outro, representam um caminho promissor para o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas. Tratando-se de uma molécula biológica é essencial a sua avaliação quanto aos riscos e benefícios que demonstra, sendo crucial a verificação da toxicidade, imunogenicidade e biodisponibilidade enquanto agente terapêutico.

## Referências Bibliográficas

- Ahan, R. E., Hanifehnezhad, A., Kehribar, E. Ş., Oguzoglu, T. C., Földes, K., Özçelik, C. E., Filazi, N., Öztop, S., Palaz, F., Önder, S., Bozkurt, E. U., Ergünay, K., Özkul, A., & Şeker, U. Ö. Ş. (2022). A Highly Potent SARS-CoV-2 Blocking Lectin Protein. *ACS Infectious Diseases*, 8(7), 1253–1264. <https://doi.org/10.1021/acsinfecdis.2c00006>
- Andrade, L. O. (2019). Plasma membrane repair involvement in parasitic and other pathogen infections. *Current Topics in Membranes*, 217–238. <https://doi.org/10.1016/bs.ctm.2019.08.002>
- Bains, A., Fischer, K., Guan, W., & LiWang, P. J. (2023). The Antiviral Activity of the Lectin Griffithsin against SARS-CoV-2 Is Enhanced by the Presence of Structural Proteins. *Viruses*, 15(12), 2452. <https://doi.org/10.3390/v15122452>
- Bektas, S., & Kaptan, E. (2024). Microbial lectins as a potential therapeutics for the prevention of certain human diseases. *Life Sciences*, 346, 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2024.122643>
- Bojar, D., Meche, L., Meng, G., Eng, W., Smith, D. F., Cummings, R. D., & Mahal, L. K. (2022). A Useful Guide to Lectin Binding: Machine-Learning Directed Annotation of 57 Unique Lectin Specificities. *ACS Chemical Biology*, 17(11), 2993–3012. <https://doi.org/10.1021/acschembio.1c00689>
- Bongomin, F., Gago, S., Oladele, R., & Denning, D. (2017). Global and Multi-National Prevalence of Fungal Diseases—Estimate Precision. *Journal of Fungi*, 3(4), 57. <https://doi.org/10.3390/jof3040057>
- Boyd, M. R., Gustafson, K. R., McMahon, J. B., Shoemaker, R. H., O'keefe, B. R., Mori, T., Gulakowski, R. J., Wu, L., Rivera, M. I., Laurencot, C. M., Currens, M. J., Cardellina Ii, J. H., Buckheit, R. W., Nara, P. L., Pannell, L. K., Sowder Ii, R. C., & Henderson, L. E. (1997). *Discovery of Cyanovirin-N, a Novel Human Immunodeficiency Virus-Inactivating Protein That Binds Viral Surface Envelope Glycoprotein gp120: Potential Applications to Microbicide Development* (Vol. 41, Número 7). <https://journals.asm.org/journal/aac>
- Boyd, W.C., & Reguera, R. (1949). Hemagglutinating substances for human cells in various plants. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 62(3), 333–339.

- Boyd, W. C., & Shapleigh, E. (1954). Specific precipitating activity of plant agglutinins (Lectins). *Science*, *119*(3091), 419. <https://doi.org/10.1126/science.119.3091.419>
- Brabb, T., Newsome, D., Burich, A., & Hanes, M. (2012). Capítulo 23- Infectious Diseases. Em *American College of Laboratory Animal Medicine, The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster, and Other Rodents* (pp. 637–683). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-380920-9.00023-7>
- Buil, J. B., Hare, R. K., Zwaan, B. J., Arendrup, M. C., Melchers, W. J. G., & Verweij, P. E. (2019). The fading boundaries between patient and environmental routes of triazole resistance selection in *Aspergillus fumigatus*. *Plos Pathogens*, *15*(8), e1007858. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007858>
- Cai, Y., Xu, W., Gu, C., Cai, X., Qu, D., Lu, L., Xie, Y., & Jiang, S. (2020). Griffithsin with A Broad-Spectrum Antiviral Activity by Binding Glycans in Viral Glycoprotein Exhibits Strong Synergistic Effect in Combination with A Pan-Coronavirus Fusion Inhibitor Targeting SARS-CoV-2 Spike S2 Subunit. *Virologica Sinica*, *35*(6), 857–860. <https://doi.org/10.1007/s12250-020-00305-3>
- Carneiro, D. C., Fernandez, L. G., Monteiro-Cunha, J. P., Benevides, R. G., & Lima, S. T. C. (2021). A patent review of the antimicrobial applications of lectins: Perspectives on therapy of infectious diseases. *Journal of Applied Microbiology*, *132*(2), 841–854. <https://doi.org/10.1111/jam.15263>
- Chen, S. (2023). Everything We Know About Lectin Structure, Classification, and Function. *Vector Laboratories*. [internet]. <https://vectorlabs.com/blog/everything-we-know-about-lectin-structure-classification-and-function>
- Cho, S.-H., Park, J., & Kim, C.-H. (2022). Systemic Lectin-Glycan Interaction of Pathogenic Enteric Bacteria in the Gastrointestinal Tract. *International Journal of Molecular Sciences*, *23*(3), 1451. <https://doi.org/10.3390/ijms23031451>
- Croxen, M. A., & Finlay, B. B. (2010). Molecular mechanisms of *Escherichia coli* pathogenicity. *Nature Reviews Microbiology*, *8*(1), 26–38. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2265>
- De Schutter, K., & Van Damme, E. (2015). Protein-Carbohydrate Interactions as Part of Plant Defense and Animal Immunity. *Molecules*, *20*(5), 9029–9053. <https://doi.org/10.3390/molecules20059029>

- Denning, D. W. (2024). Global incidence and mortality of severe fungal disease. *The Lancet Infectious Diseases*, 24(7), e428–e438. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(23\)00692-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(23)00692-8)
- Drickamer, K. (1997). Making a fitting choice: common aspects of sugar-binding sites in plant and animal lectins. *Structure*, 5(4), 465–468. [https://doi.org/10.1016/S0969-2126\(97\)00202-5](https://doi.org/10.1016/S0969-2126(97)00202-5)
- Dussouy, C., Lalys, P.-A., Cabanettes, A., Lehot, V., Deniaud, D., Gillon, E., Balloy, V., Varrot, A., & Gouin, S. G. (2021). Hexavalent thiofucosides to probe the role of the *Aspergillus fumigatus* lectin FleA in fungal pathogenicity. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 19(14), 3234–3240. <https://doi.org/10.1039/D1OB00152C>
- Elfstrand, M. (1898). Über blutkörperchenagglutinierende Eiweisse. In: Görberdorfer Veröffentlichungen a. Band I. pp. 1–159. Kobert, R., Ed., Enke, Stuttgart, Germany.
- Goldstein, I. J., Hughes, R. C., Monsigny, M., Osawa, T., & Sharon, N. (1980). What should be called a lectin? *Nature*, 285(5760), 66–66. <https://doi.org/10.1038/285066b0>
- Goyal, S., Castrillón-Betancur, J. C., Klaile, E., & Slevogt, H. (2018). The Interaction of Human Pathogenic Fungi With C-Type Lectin Receptors. *Frontiers in Immunology*, Volume 9. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01261>
- Hardison, S. E., & Brown, G. D. (2012). C-type lectin receptors orchestrate antifungal immunity. *Nature Immunology*, 13(9), 817–822. <https://doi.org/10.1038/ni.2369>
- Hooper, L. V., & Gordon, J. I. (2001). Glycans as legislators of host-microbial interactions: spanning the spectrum from symbiosis to pathogenicity. *Glycobiology*, 11(2), 1R-10R. <https://doi.org/10.1093/glycob/11.2.1R>
- Houser, J., Komarek, J., Kostlanova, N., Cioci, G., Varrot, A., Kerr, S. C., Lahmann, M., Balloy, V., Fahy, J. V., Chignard, M., Imberty, A., & Wimmerova, M. (2013). A Soluble Fucose-Specific Lectin from *Aspergillus fumigatus* Conidia - Structure, Specificity and Possible Role in Fungal Pathogenicity. *Plos one*, 8(12), e83077. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0083077>

- Instituto Nacional de Estatística. (2024). *Estatísticas da Saúde: 2022*.  
[www.ine.pt/xurl/pub/439489924](http://www.ine.pt/xurl/pub/439489924)
- Jan, M., Upadhyay, C., Alcami Pertejo, J., Hioe, C. E., & Arora, S. K. (2018). Heterogeneity in glycan composition on the surface of HIV-1 envelope determines virus sensitivity to lectins. *Plos one*, *13*(3), e0194498.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194498>
- Kaper, J. B., Nataro, J. P., & Mobley, H. L. T. (2004). Pathogenic Escherichia coli. *Nature Reviews Microbiology*, *2*(2), 123–140. <https://doi.org/10.1038/nrmicro818>
- Kątnik-Prastowska, I., Lis, J., & Matejuk, A. (2014). Glycosylation of uroplakins. Implications for bladder physiopathology. *Glycoconjugate Journal*, *31*(9), 623–636. <https://doi.org/10.1007/s10719-014-9564-4>
- Kaya, H. E. (2022). The importance of lectin and glycan binding specificity. *Vector Laboratories*. [internet] <https://vectorlabs.com/blog/the-importance-of-lectin-and-glycan-binding-specificity>
- Keeffe, J. R., Gnanapragasam, P. N. P., Gillespie, S. K., Yong, J., Bjorkman, P. J., & Mayo, S. L. (2011). Designed oligomers of cyanovirin-N show enhanced HIV neutralization. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *108*(34), 14079–14084. <https://doi.org/10.1073/pnas.1108777108>
- Kumar, A., Sharma, A., Tirpude, N. V., Padwad, Y., Hallan, V., & Kumar, S. (2022). Plant-derived immuno-adjuvants in vaccines formulation: a promising avenue for improving vaccines efficacy against SARS-CoV-2 virus. *Pharmacological Reports*, *74*(6), 1238–1254. <https://doi.org/10.1007/s43440-022-00418-4>
- Lam, S. K., & Ng, T. B. (2011). Lectins: production and practical applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *89*(1), 45–55. <https://doi.org/10.1007/s00253-010-2892-9>
- Lefter, R., Balyan, P., Balmus, I.-M., Ech-Chahad, A., Ali, A., Ciobica, A., Petroaie, A. D., Halitchi, G., Novac, B., Ionescu, C., & Kamal, F. Z. (2024). Polysaccharides and Lectins: A Natural Complementary Approach against the SARS-CoV-2 Pandemic. *Microbiology Research*, *15*(2), 525–549.  
<https://doi.org/10.3390/microbiolres15020035>

- Lewis A.L., Kohler J.J., Aebi M. (2022a). Microbial Lectins: Hemagglutinins, Adhesins, and Toxins. In: Varki A., Cummings R.D., Esko J.D., *et al.*, editors. *Essentials of Glycobiology* [Internet]. 4th edition. Cold Spring Harbor (NY): Cold Spring Harbor Laboratory Press; Chapter 37. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK579924/> doi:10.1101/glycobiology.4e.37
- Lewis A.L., Szymanski C.M., Schnaar R.L., & Aebi, M. (2022b). Bacterial and Viral Infections. In: Varki A., Cummings R.D., Esko J.D., *et al.*, editors. *Essentials of Glycobiology* [Internet]. 4th edition. Cold Spring Harbor (NY): Cold Spring Harbor Laboratory Press; Chapter 42. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK579946/> doi:10.1101/glycobiology.4e.42
- Li, Q., Wu, J., Nie, J., Zhang, L., Hao, H., Liu, S., Zhao, C., Zhang, Q., Liu, H., Nie, L., Qin, H., Wang, M., Lu, Q., Li, X., Sun, Q., Liu, J., Zhang, L., Li, X., Huang, W., & Wang, Y. (2020). The Impact of Mutations in SARS-CoV-2 Spike on Viral Infectivity and Antigenicity. *Cell*, 182(5), 1284-1294.e9. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.07.012>
- Lis, H., & Sharon, N. (1998). Lectins: Carbohydrate-Specific Proteins That Mediate Cellular Recognition. *Chemical Reviews*, 98(2), 637–674. <https://doi.org/10.1021/cr940413g>
- Liu, Y., Liu, J., Pang, X., Liu, T., Ning, Z., & Cheng, G. (2015). The Roles of Direct Recognition by Animal Lectins in Antiviral Immunity and Viral Pathogenesis. *Molecules*, 20(2), 2272–2295. <https://doi.org/10.3390/molecules20022272>
- Lotfi, H., Sheervalilou, R., & Zarghami, N. (2017). An update of the recombinant protein expression systems of Cyanovirin-N and challenges of preclinical development. *BioImpacts*, 8(2), 139–151. <https://doi.org/10.15171/bi.2018.16>
- Mariner, J. M., McMahon, J. B., O’Keefe, B. R., Nagashima, K., & Boyd, M. R. (1998). The HIV-Inactivating protein, Cyanovirin-N, does not block GP120-Mediated Virus-to-Cell binding. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 248(3), 841–845. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1998.9060>
- MedTech Europe. (2020). The role of medical technologies in the fight against antimicrobial resistance and healthcare associated infections. In MedTech Europe.

<https://www.medtecheurope.org/resource-library/the-role-of-medical-technologies-in-the-fight-against-antimicrobial-resistance-and-healthcare-associated-infections/>

- Mishra, A., Behura, A., Mawatwal, S., Kumar, A., Naik, L., Mohanty, S. S., Manna, D., Dokania, P., Mishra, A., Patra, S. K., & Dhiman, R. (2019). Structure-function and application of plant lectins in disease biology and immunity. *Food and Chemical Toxicology*, *134*, 110827. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.110827>
- Muñoz-Basagoiti, J., Monteiro, F. L. L., Krumpke, L. R. H., Armario-Najera, V., Shenoy, S. R., Perez-Zsolt, D., Westgarth, H. J., Villorbina, G., Bomfim, L. M., Raich-Regué, D., Nogueras, L., Henrich, C. J., Gallemí, M., Moreira, F. R. R., Torres, P., Wilson, J., D'arc, M., Marfil, S., Herlinger, A. L., ... O'Keefe, B. R. (2023). Cyanovirin-N binds to select SARS-CoV-2 spike oligosaccharides outside of the receptor binding domain and blocks infection by SARS-CoV-2. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *120*(10). <https://doi.org/10.1073/pnas.2214561120>
- Murphy, P., André, S., & Gabius, H.-J. (2013). The Third Dimension of Reading the Sugar Code by Lectins: Design of Glycoclusters with Cyclic Scaffolds as Tools with the Aim to Define Correlations between Spatial Presentation and Activity. *Molecules*, *18*(4), 4026–4053. <https://doi.org/10.3390/molecules18044026>
- Nabel, K. G., Clark, S. A., Shankar, S., Pan, J., Clark, L. E., Yang, P., Coscia, A., McKay, L. G. A., Varnum, H. H., Brusic, V., Tolan, N. V., Zhou, G., Desjardins, M., Turbett, S. E., Kanjilal, S., Sherman, A. C., Dighe, A., LaRocque, R. C., Ryan, E. T., ... Abraham, J. (2022). Structural basis for continued antibody evasion by the SARS-CoV-2 receptor binding domain. *Science*, *375*(6578). <https://doi.org/10.1126/science.abl6251>
- Nabeta, H. W., Zahin, M., Lasnik, A., Cash, E. D., Wu, X., Rai, S., Kitterman, K., Wang, L., Patel, S., Rohan, L., Hillier, S., Matoba, N., Potts, K. L., Dryden, G., & Palmer, K. E. (2023). *Phase 1 clinical trials of a Q-Griffithsin nasal spray for SARS-CoV-2 prophylaxis*. <https://www.croiconference.org/abstract/phase-1-clinical-trials-of-a-q-griffithsin-nasal-spray-for-sars-cov-2-prophylaxis/>
- Nabi-Afjadi, M., Heydari, M., Zalpoor, H., Arman, I., Sadoughi, A., Sahami, P., & Aghazadeh, S. (2022). Lectins and lectibodies: potential promising antiviral

- agents. Em *Cellular and Molecular Biology Letters* (Vol. 27, Número 1). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s11658-022-00338-4>
- Naghavi, M., Vollset, S. E., Ikuta, K. S., Swetschinski, L. R., Gray, A. P., Wool, E. E., Aguilar, G. R., Mestrovic, T., Smith, G., Han, C., Hsu, R. L., Chalek, J., Araki, D. T., Chung, E., Raggi, C., Hayoon, A. G., Weaver, N. D., Lindstedt, P. A., Smith, A. E., Murray, C. J. L. (2024). Global burden of bacterial antimicrobial resistance 1990–2021: a systematic analysis with forecasts to 2050. *The Lancet*. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(24\)01867-1](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(24)01867-1)
- Nami, S., Mohammadi, R., Vakili, M., Khezripour, K., Mirzaei, H., & Morovati, H. (2019). Fungal vaccines, mechanism of actions and immunology: A comprehensive review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *109*, 333–344. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.10.075>
- Narciso, A., Lito, L., Melo Cristino, J., & Duarte, A. (2010). *Escherichia coli* Uropatogénica: Resistência aos Antibióticos Versus Factores de Virulência. Em *Acta Urol* (Vol. 27), 11-20. [www.apurologia.pt](http://www.apurologia.pt)
- Sharon, N. (1987). Bacterial lectins, cell-cell recognition and infectious disease. *FEBS Letters*, *217*(2), 145–157. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(87\)80654-3](https://doi.org/10.1016/0014-5793(87)80654-3)
- O’Keefe, B. R., Giomarelli, B., Barnard, D. L., Shenoy, S. R., Chan, P. K. S., McMahon, J. B., Palmer, K. E., Barnett, B. W., Meyerholz, D. K., Wohlford-Lenane, C. L., & McCray, P. B. (2010). Broad-Spectrum In Vitro Activity and In Vivo Efficacy of the Antiviral Protein Griffithsin against Emerging Viruses of the Family Coronaviridae. *Journal of Virology*, *84*(5), 2511–2521. <https://doi.org/10.1128/JVI.02322-09>
- O’Neill, J. (2016). *Tackling Drug-resistant Infections Globally: Final report and recommendations: The review on antimicrobial resistance*. Government of the United Kingdom. <https://apo.org.au/node/63983>
- Oordt-Speets, A., Spinardi, J., Mendoza, C., Yang, J., Morales, G., McLaughlin, J. M., & Kyaw, M. H. (2023). Effectiveness of COVID-19 Vaccination on Transmission: A Systematic Review. *COVID*, *3*(10), 1516–1527. <https://doi.org/10.3390/covid3100103>

- Padiyappa, S. D., Avalappa, H., Somegowda, M., Sridhara, S., Venkatesh, Y. P., Prabhakar, B. T., Pramod, S. N., Almujaaydil, M. S., Shokralla, S., Abdelbacki, A. M. M., Elansary, H. O., El-Sabrou, A. M., & Mahmoud, E. A. (2022). Immunoadjuvant and Humoral Immune Responses of Garlic (*Allium sativum* L.) Lectins upon Systemic and Mucosal Administration in BALB/c Mice. *Molecules*, *27*(4), 1375. <https://doi.org/10.3390/molecules27041375>
- Peumans, W. J., & Van Damme, EJM. (1995). Lectins as Plant Defense Proteins. *Plant Physiology*, *109*(2), 347–352. <https://doi.org/10.1104/pp.109.2.347>
- Radhakrishnan, A., Chellapandian, H., Ramasamy, P., & Jeyachandran, S. (2022). Back2Basics: animal lectins: an insight into a highly versatile recognition protein. *Journal of Proteins and Proteomics*. *14*(1):43-59. <https://doi.org/10.1007/s42485-022-00102-4>
- Rahmah, L., Abarikwu, S. O., Arero, A. G., Essouma, M., Jibril, A. T., Fal, A., Flisiak, R., Makuku, R., Marquez, L., Mohamed, K., Ndow, L., Zarębska-Michaluk, D., Rezaei, N., & Rzymiski, P. (2022). Oral antiviral treatments for COVID-19: opportunities and challenges. *Pharmacological Reports*, *74*(6), 1255–1278. <https://doi.org/10.1007/s43440-022-00388-7>
- Raposo, C. D., Canelas, A. B., & Barros, M. T. (2021). Human Lectins, Their Carbohydrate Affinities and Where to Find Them. *Biomolecules*, *11*(2), 188. <https://doi.org/10.3390/biom11020188>
- Reis, C. A., Tauber, R., & Blanchard, V. (2021). Glycosylation is a key in SARS-CoV-2 infection. *Journal of Molecular Medicine*, *99*(8), 1023–1031. <https://doi.org/10.1007/s00109-021-02092-0>
- Rodriguez-de la Noval, C., Ruiz Mendoza, S., de Souza Gonçalves, D., da Silva Ferreira, M., Honorato, L., Peralta, J. M., Nimrichter, L., & Guimarães, A. J. (2020). Protective Efficacy of Lectin-Fc(IgG) Fusion Proteins In Vitro and in a Pulmonary Aspergillosis In Vivo Model. *Journal of Fungi*, *6*(4), 250. <https://doi.org/10.3390/jof6040250>
- Sarshar, M., Behzadi, P., Ambrosi, C., Zagaglia, C., Palamara, A. T., & Scribano, D. (2020). FimH and Anti-Adhesive Therapeutics: A Disarming Strategy Against Uropathogens. *Antibiotics*, *9*(7), 397. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9070397>

- Sharon, N., & Lis, H. (2004). History of lectins: from hemagglutinins to biological recognition molecules. *Glycobiology*, *14*(11), 53R-62R. <https://doi.org/10.1093/glycob/cwh122>
- Shattock, R. J., & Rosenberg, Z. (2012). Microbicides: Topical Prevention against HIV. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, *2*(2), a007385–a007385. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a007385>
- Shishodia, S. K., Tiwari, S., & Shankar, J. (2019). Resistance mechanism and proteins in *Aspergillus* species against antifungal agents. *Mycology*, *10*(3), 151–165. <https://doi.org/10.1080/21501203.2019.1574927>
- Sokurenko, E. V., Chesnokova, V., Dykhuizen, D. E., Ofek, I., Wu, X.-R., Krogfelt, K. A., Struve, C., Schembri, M. A., & Hasty, D. L. (1998). Pathogenic adaptation of *Escherichia coli* by natural variation of the FimH adhesin. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *95*(15), 8922–8926. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.15.8922>
- Stappers, M. H. T., Clark, A. E., Aimanianda, V., Bidula, S., Reid, D. M., Asamaphan, P., Hardison, S. E., Dambuza, I. M., Valsecchi, I., Kerscher, B., Plato, A., Wallace, C. A., Yucel, R., Hebecker, B., da Glória Teixeira Sousa, M., Cunha, C., Liu, Y., Feizi, T., Brakhage, A. A., ... Brown, G. D. (2018). Recognition of DHN-melanin by a C-type lectin receptor is required for immunity to *Aspergillus*. *Nature*, *555*(7696), 382–386. <https://doi.org/10.1038/nature25974>
- Stillmark, H. (1888). *Über Ricin ein giftiges Ferment aus den Samen von Ricinus communis L. und einige anderen Euphorbiaceen. MD Thesis*. University of Dorpat, Dorpat.
- Swinkels, H. M., Vaillant, A. a. J., Nguyen, A. D., & Gulick, P. G. (2024, Julho 27). *HIV and AIDS*. In StatPearls - NCBI Bookshelf. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK534860/>
- Sztain, T., Ahn, S.-H., Bogetti, A. T., Casalino, L., Goldsmith, J. A., Seitz, E., McCool, R. S., Kearns, F. L., Acosta-Reyes, F., Maji, S., Mashayekhi, G., McCammon, J. A., Ourmazd, A., Frank, J., McLellan, J. S., Chong, L. T., & Amaro, R. E. (2021). A glycan gate controls opening of the SARS-CoV-2 spike protein. *Nature Chemistry*, *13*(10), 963–968. <https://doi.org/10.1038/s41557-021-00758-3>

- Takenaka, H., Saito, A., Kuronuma, K., Moniwa, K., Nishikiori, H., Takahashi, S., & Chiba, H. (2023). The soluble Lectin families as novel biomarkers for COVID-19 pneumonia. *In Vivo*, 37(4), 1721–1728. <https://doi.org/10.21873/invivo.13259>
- Taylor, M., Drickamer, K., Imberty, A., Van Kooyk, Y., Schnaar, R., Etzler, M., & Varki, A. (2022). Discovery and Classification of Glycan-Binding Proteins. In: Varki A, Cummings RD, Esko JD, et al., editors. *Essentials of Glycobiology* [Internet]. 4th edition. Cold Spring Harbor (NY): Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2022. Chapter 28. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK579947/> doi:10.1101/glycobiology.4e.28
- Teleshova, N., Keller, M. J., Fernández Romero, J. A., Friedland, B. A., Creasy, G. W., Plagianos, M. G., Ray, L., Barnable, P., Kizima, L., Rodriguez, A., Cornejal, N., Melo, C., Cruz Rodriguez, G., Mukhopadhyay, S., Calenda, G., Sinkar, S. U., Bonnaire, T., Wesenberg, A., Zhang, S., ... Zydowsky, T. M. (2022). Results of a phase 1, randomized, placebo-controlled first-in-human trial of griffithsin formulated in a carrageenan vaginal gel. *Plos one*, 17(1), e0261775. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0261775>
- Tommasone, S., Allabush, F., Tagger, Y. K., Norman, J., Köpf, M., Tucker, J. H. R., & Mendes, P. M. (2019). The challenges of glycan recognition with natural and artificial receptors. *Chemical Society Reviews*, 48(22), 5488–5505. <https://doi.org/10.1039/c8cs00768c>
- Tsaneva, M., & Van Damme, E. J. M. (2020). 130 years of Plant Lectin Research. *Glycoconjugate Journal*, 37, 533–551. <https://doi.org/10.1007/s10719-020-09942-y>/Published
- UNAIDS. (2024, Agosto 2). *Global HIV & AIDS statistics*. UNAIDS [internet]. <https://www.unaids.org/en/resources/fact-sheet>
- Valiante, V., Macheleidt, J., Föge, M., & Brakhage, A. A. (2015). The *Aspergillus fumigatus* cell wall integrity signaling pathway: drug target, compensatory pathways, and virulence. *Frontiers in Microbiology*, Volume 06. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00325>
- Van Damme, E. J. M. (2014). *History of Plant Lectin Research* (pp. 3–13). [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1292-6\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1292-6_1)

- Van Damme, E. J. M., Peumans, W. J., Barre, A., & Rougé, P. (1998). Plant Lectins: A Composite of Several Distinct Families of Structurally and Evolutionary Related Proteins with Diverse Biological Roles. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 17(6), 575–692. <https://doi.org/10.1080/07352689891304276>
- Van Damme, E. J. M., & Rougé, P. (2023). Editorial: Lectins from plants, algae, fungi, bacteria and animal therapeutic tools for SARS-CoV-2 and other pathogenic enveloped viruses, in a “one-health” perspective. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, Volume 13. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1139691>
- Varki A, Kornfeld S. (2022) Historical Background and Overview. In: Varki A, Cummings RD, Esko JD, et al., editors. *Essentials of Glycobiology* [Internet]. 4th edition. Cold Spring Harbor (NY): Cold Spring Harbor Laboratory Press. Chapter 1. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK579927/> doi:10.1101/glycobiology.4e.1
- Varrot, A., Basheer, S. M., & Imberty, A. (2013). Fungal lectins: structure, function and potential applications. *Current Opinion in Structural Biology*, 23(5), 678–685. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2013.07.007>
- Wagenlehner, F., Lorenz, H., Ewald, O., & Gerke, P. (2022). Why d-Mannose May Be as Efficient as Antibiotics in the Treatment of Acute Uncomplicated Lower Urinary Tract Infections—Preliminary Considerations and Conclusions from a Non-Interventional Study. *Antibiotics*, 11(3), 314. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11030314>
- Watkins, W. M., & Morgan, W. T. J. (1952). Neutralization of the Anti-H Agglutinin in Eel Serum by Simple Sugars. *Nature*, 169(4307), 825–826. <https://doi.org/10.1038/169825a0>
- World Health Organization. (2022). WHO fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action. World Health Organization (No. 978-92-4-006024–1). <https://www.who.int/publications/i/item/9789240060241>
- World Health Organization. (2023, Novembro 21). *Antimicrobial resistance*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>
- World Health Organization. (2024a, Agosto 7). *The top 10 causes of death*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>

World Health Organization. (2024b, Setembro 29). *Number of COVID-19 deaths reported to WHO*. <https://data.who.int/dashboards/covid19/deaths>

Xiong, S., Fan, J., & Kitazato, K. (2010). The antiviral protein cyanovirin-N: the current state of its production and applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 86(3), 805–812. <https://doi.org/10.1007/s00253-010-2470-1>