

**Universidade de Lisboa  
Faculdade de Farmácia**



**Lectinas**  
**Uma nova atitude no diagnóstico e tratamento do  
cancro**

**Vitor José Alípio dos Santos Castelão**

**Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas**

**Lisboa, 2017**



**Universidade de Lisboa  
Faculdade de Farmácia**



**Lectinas**  
**Uma nova atitude no diagnóstico e tratamento do  
cancro**

**Vitor José Alipio dos Santos Castelão**

**Monografia de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas  
apresentada à Universidade de Lisboa através da Faculdade de Farmácia**

**Orientadora: Professora Doutora Ana Cristina Ribeiro (FFUL)**

**Lisboa, 2017**



## Índice:

1	História.....	11
1.1	Prelúdio.....	11
1.2	Período Clássico (1888-1918).....	11
1.2.1	Plantas.....	11
1.2.2	Fungos.....	12
1.2.3	Bactérias.....	12
1.2.4	Animais Invertebrados.....	12
1.2.5	Animais Vertebrados.....	12
1.3	Período Intermédio (1919-1934).....	13
1.3.1	Plantas.....	13
1.3.2	Bactérias e Vírus.....	13
1.4	Reconhecimento da especificidade e interações com lectinas (1935-1964).....	13
1.4.1	Animais Vertebrados.....	13
1.4.2	Animais Invertebrados.....	13
1.4.3	Plantas.....	14
1.4.4	Bactérias, Fungos e Vírus.....	14
1.5	Período Moderno (1965 - ).....	15
2	Definição.....	17
3	Distribuição e Ocorrência.....	18
3.1	Plantas.....	17
3.2	Animais.....	17
3.3	Vírus.....	18
3.4	Bactérias.....	18
3.5	Protozoários.....	18
4	Definição.....	19
4.1	Classificação quanto à estrutura.....	18
4.2	Classificação quanto à especificidade ao hidrato de carbono.....	19
4.2.1	Grupo I – (Glucose e Manose).....	19
4.2.2	Grupo II – (Galactose e <i>N</i> -acetilgalactosamina).....	19
4.2.3	Grupo III – ( <i>N</i> -acetilglucosamina).....	19
4.2.4	Grupo IV – (L-Fucose).....	19
4.2.5	Grupo V – (Ácido Siálico).....	19
5	Bioatividade.....	20
5.2.1	Simbiose.....	20
5.2.2	Antifúngica.....	21
5.2.3	Inseticida.....	21
5.3	Antiviral.....	22
5.4	Antibacteriano.....	22
6	Base molecular do Mecanismo de ligação ao Hidrato de Carbono.....	23
6.1	Especificidade ao Hidrato de Carbono.....	26
6.2	Alterações na glicómica da célula tumoral.....	26
7	Lectinas, nova abordagem para o Diagnóstico Tumoral.....	29
7.1	Lectinas vs. Diagnóstico do cancro.....	29
7.2	Técnicas de diagnóstico mediadas por lectinas.....	31
7.2.1	Diagnóstico do Cancro da Próstata e Hiperplasia Benigna.....	32
7.2.2	Diagnóstico do Cancro da Tireoide.....	34
7.2.3	Algumas lectinas e respetivas afinidades.....	36
7.2.4	Lectinas e Microarrays.....	37
7.2.5	Lectinas, Microarrays e Cancro do Pâncreas.....	37

7.2.6	Lectinas, Microarrays e Outros Cancros.....	38
7.3	Biossensores.....	39
7.3.1	Ensaio de Ressonância de Plasma de Superfície, (SPR).....	39
7.3.2	Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIS).....	40
8	Lectinas endógenas na compreensão do Cancro.....	43
8.1	Galectinas.....	44
8.1.1	Lectinas do tipo-C.....	45
8.2	Galectinas vs Cancro .....	46
8.2.1	Cancro da Próstata .....	46
8.2.2	Cancro da Mama.....	46
8.2.3	Adesão tumoral .....	46
9	Lectinas, nova abordagem para o Tratamento .....	47
9.1	Apoptose .....	47
9.2	Autofagia.....	48
9.3	Concanavalina A.....	51
9.4	Ricina (RCA).....	52
9.5	Mistletoe Lectin (ML) ou Lectinas de Visco ( <i>Viscum Album</i> ).....	52
9.6	<i>Polygonatum cyrtonema</i> (PCL) .....	53
9.7	Anexinas .....	54
10	Métodos .....	59
11	Conclusões.....	60
	Referências Bibliográficas.....	61

# Agradecimentos

Porque todas as histórias têm um fim, esta monografia não é exceção.

Quero deixar uma nota de agradecimento à minha família, aquela que está e aquela que não está e que me viu começar esta jornada, infelizmente não poderão estar cá todos neste momento para verem o fim desta etapa, mas espero que, onde quer que estejam se sintam orgulhosos de mim neste momento.

Um agradecimento especial ao meu pai e mãe por terem estado ao meu lado tanto nos bons como nos maus momentos, os desafios só são ultrapassados quando quem está próximo, mesmo estando longe confia e suporta. Obrigado pela preocupação, pelas horas perdidas ao telefone, pelos sonhos adiados que deram lugar aos meus. Obrigado por não desistirem, quando eu estive quase a desistir de mim mesmo. Se agora posso continuar a dizer que sou capaz de tudo é graças a vocês.

Uma homenagem especial, para os que não estão,  
Os valores que tenho foram ensinados por vós e num dia sem querer, eu aprendi!  
Obrigado por me sentir orgulhoso dos meus valores e de vocês!

Um abraço e agradecimento a todos os amigos que fiz desde a minha Terra Natal, passando por Tomar; à minha saudosa Coimbra;

“Quem te não viu anda cego  
Quem te não amar não vive”

Até Lisboa, passando pelas terras Helvéticas.

Vocês são uma parte de mim neste momento e mesmo que trilhemos caminhos diferentes, nunca vos esquecerei!

Um beijo especial à minha amiga, confidente, parceira no crime e no amor. Inês,  
Obrigado por seres a namorada que és, se hoje te faço esta dedicatórias e todas as outras, tu és a responsável!

Por fim, um agradecimento também à Professora e Mentora da minha tese Professora Ana Cristina Ribeiro, pela atenção e cuidado que demonstrou comigo desde que nos conhecemos no quarto ano deste curso. É sem dúvida uma das melhores professoras que já tive tanto a nível profissional como humano.

## Abreviaturas

AAL – *Aleuria aurantia* lectina  
ACA – *Amaranthus caudatus* aglutinina  
AFP –  $\alpha$ -Fetoprotein  
AIA – *Artocarpus integrifolia* aglutinina  
AHA – *Arachis hypogea* aglutinina  
AML – *Amaranthus mantegazzianus* lectin (Ricina)  
AOL – *Aspergillus oryzae* lectina  
AMML – *Astragalus mongholicus*.  
Apaf-1 – Fator-1 Associado à Apoptose ou Apoptosis-Associated Factor-1  
ASNA – Sambucus Nigra Agglutinin/Elderberry Lectin  
AuNP – Nano Partícula de Ouro  
BPH – Hiperplasia Benigna da Próstata  
BPL – *Bauhinia purpurea* lectina  
CA 125 – Cancer Antigen 125  
CEA – Antígeno de Carcinoma Embrionário  
cito.c e cito C – Citocromo C  
ClaveLL – *Cladonia verticillari*  
Con-A – Concanavalin A  
DRC – Domínio de Reconhecimento do Hidrato de Carbono  
ELLA – Ensaio de Enzima ligada a Lectina  
ERK – Extracellular Signal-Regulated kinase  
FIP200 – Proteína de Interação da Família das Cinases de adesão focal de 200 kDa  
FDA – Food and Drug Administration  
FTC – Cancro Folicular da Tireoide  
GDP – Guanosina difosfato  
GSLs – Glicosíngolipídios  
GMA – *Glycine max* aglutinina  
GNA – *Galanthus nivalis* aglutinina  
GSA – *Griffonia simplicifolia* aglutinina  
HCC – Hepatocarcinoma Celular  
HddSBL – *Haliotis discus discus* sialic acid binding lectin  
HE4 – Human Epididymis protein 4  
ITO – Óxido de Índio e Estanho  
LCA – *Lens culinaris* aglutinina  
LTA – *Lotus tetragonolobus* aglutinina  
MAA-II ou MAL – *Maackia amurensis* agglutinin/*Maackia amurensis* Lectin-II  
MAPK – Mitogen-activated protein kinase  
MCP – Pectina Cítrica Modificada  
MLL – *Mulberry leaf* lectina  
MMP – Potencial mitocondrial da membrana  
MUC1 – Mucina Epitelial Polimórfica 1  
MUC16 – Mucina Epitelial Polimórfica 16  
MLs – Mistletoe Lectin ou Lectinas de Visco (*Viscum Album*)  
mTORC1 ou mTOR – Complexo de Rapamicina 1  
NK – Natural Killer  
PC – Cancro da Próstata  
PCL – *Polygonatum cyrtonema* lectina  
PHA – *Phytohemagglutinin* lectina

PI-3K – Fosfoinositídeo 3-quinase  
POL – *Polygonatum adorum* lectina  
PSA – Soro com antígenos prostáticos-específicos  
PTC – Cancro Papilar da Tireoide  
PTL – *Pinellia ternata* lectina  
RCA/RCA I – *Ricinus communis* Aglutinina /Ricina  
RIPs II – proteínas inibidoras de ribossomas do tipo II  
SGAG – glicoamiglicanos sulfatados  
Siglec – (*Sialic acid-binding immunoglobulin-type lectins*)  
siRNA – Pequenos Fragmentos de RNA  
SLe<sup>a</sup> – Sialyl Lewis  
SNA – *c* Agglutinin  
SPCE – Screen-Printed Carbon Electrodes  
TJA-I – *Trichosanthes japonica* aglutinina-I  
TML – *Tritrichomonas mobilensis*  
TTF-1 – Transcrição Específico da Tireoide  
UDP-Gal – Uridine diphosphate galactose  
UEA I – *Ulex europaeus* aglutinina I  
VVL – *Vicia villosa* lectina  
WFA – *Wisteria floribunda* aglutinina  
WGA – Wheat germ agglutinin, *Triticum vulgare*

### **Índice de Tabelas:**

Tabela 1. – Avanços na lectinologia desde a era moderna até à atualidade .....	16
Tabela 2. – Diferentes espécies de leguminosa Phaseolus e quantidade de lectinas ...	18
Tabela 3. – Bioatividade de plantas exibidas em diferentes órgão .....	21
Tabela 4. – Atividade Inseticida das lectinas .....	22
Tabela 5. – Lista de lectinas leguminosas, sua sequência e especificidade .....	25
Tabela 6. – Tipos de Cancro e aberração glicômica .....	28
Tabela 7. – Cancros e Lectinas usadas no diagnóstico tumoral .....	30
Tabela 8. – Técnicas de Diagnóstico mediadas por Lectinas .....	31
Tabela 9. – Tipos de biomarcadores e glicomas alvo .....	39
Tabela 10. – Lista de lectinas estudadas .....	40
Tabela 11. – Galectinas, Função Biológica e patologia relacionada .....	44
Tabela 12. – Lista de lectinas estudadas .....	56
Tabela 13. – Lista de lectinas e respetivos mecanismo de apoptose e autofagia .....	57

### **Índice de Figuras:**

Figura 1. – Esquema das merolectinas, hololectinas e quimerolectinas .....	19
Figura 2. – Exemplificação do sitio de ligação aos AA e de catiões bivalentes .....	24
Figura 3. – Esquema das classes mais comuns de glicoconjugados no glicoma .....	27
Figura 4. – Esquema das reações de glicosilação .....	29
Figura 5. – Ensaio de aglutinação .....	34
Figura 6. – Ensaios citoquímicos e histoquímicos usando lectinas biotinadas .....	35
Figura 7. – Marcação do ácido siálico na glândula tireóidea normal e neoplásica .....	36
Figura 8. – Marcação do ácido siálico na neoplasia da glândula tireóidea .....	37
Figura 9. – Diferentes tipos de microarrays de lectinas .....	38
Figura 10. – Ensaio de Ressonância de Plasma de Superfície (SPR) .....	40
Figura 11. – Ilustração da Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIS) .....	41
Figura 12. – Ilustração da Plataforma Microfluídica de Avaliação .....	42
Figura 13. – Resultados da observação ótica da Avaliação Microfluídica .....	43
Figura 14. – Taxa de variação dos dois métodos (óptico e impedância) .....	43
Figura 15. – Representação de lectinas do tipo C, P, I e Galectinas .....	46
Figura 16. – Representação da Via Granzima - Perforina .....	47
Figura 17. – Representação da indução da via sinalização extrínseca .....	48
Figura 18. – Representação da via intrínseca mitocondrial .....	49
Figura 19. – Ilustração das etapas da Autofagia .....	50
Figura 20. – Reguladores da autofagia em condições normais e de stress .....	50
Figura 21. – Mecanismo de autofagia no cancro .....	51
Figura 22. – Via de sinalização apoptótica, autofágica e de sobrevivência .....	52
Figura 23. – Via de sinalização apoptótica promovida pela ML-II .....	54
Figura 24. – Via de Regulação da Autofagia .....	55

## Resumo

O cancro é a principal causa de mortalidade em todo o mundo representando 13% dos óbitos. Os últimos dados fornecidos pela OMS remontam a 2012 e dão conta de 14 milhões de novos casos, sendo 60% deles mortais. Em Portugal uma em cada quatro pessoas morre de cancro.

É neste capítulo que o estudo das lectinas, da lectinómica e glicómica é muito importante uma vez que é nesta área que estão a surgir novas técnicas capazes de diagnosticar mais precocemente patologias tumorais, algo que não acontecia até então, deixando técnicas anteriores de identificação e quantificação obsoletas. As lectinas fazem parte de novos métodos de tratamento inovadores em relação aos demais, pois são menos tóxicos para o doente, uma vez que induzem morte apenas das células tumorais, diminuindo assim morbidade e portanto aumentando a confiança e adesão à terapêutica por parte do doente.

Este trabalho faz uma extensa abordagem ao que de mais recente se tem feito e publicado nesta área, não descurando um pouco da história das lectinas para se entender a evolução até aos dias de hoje; introduz também fundamentos e noções servindo de ferramenta para uma primeira abordagem nesta área, e por último serve de suporte, muito importante, para perceber dentro desta vasta área, o que é a lectinómica, qual ou quais são as fronteiras mais promissoras a serem exploradas.

Muito investimento em investigação tem sido feito ao longo das últimas décadas para tentar reverter esta situação preencher as lacunas existentes na área da lectinómica de modo a explorar as múltiplas possibilidades de aplicação das lectinas na terapêutica de diferentes patologias do foro tumoral, assim como na optimização de novas metodologias de diagnóstico, na deteção precoce e sensível, inclusive, de novos biomarcadores tumorais ajudando a diagnosticar mais precocemente potenciais doentes oncológicos em fases muito iniciais da doença.

Por estas razões continua-se a investir nas áreas mais promissoras da ciência na esperança de descobrir novas abordagens para diagnosticar e tratar o cancro e a lectinómica é uma área com um futuro muito prometedora.

**Palavras-chave:** Lectinas; Diagnóstico; Tratamento; Cancro; Revisão

## Abstract

Cancer is the leading cause of mortality worldwide representing 13% the all amount of deaths. The latest data from 2012 reports 14 million new cases, 60% of which are deadly. In Portugal, one in four people dies with cancer.

It is in this chapter that the study of lectin, lectinomics and glycomics has been the most importance, because it is, in this area, that new techniques are emerging and they can; diagnose individuals with cancer in earlier stages than before; leaving previous identification and quantification techniques obsolete, also provides innovative methods of treatment, because they are specific to the tumor cells and therefore less toxic to the patient; this reduces morbidity and increases the confidence and acceptance to the therapy by the patient.

This work makes an extensive approach to what has been done and published in this area, starting with the history of lectins in order to understand what are the challenges nowadays; then introduces important notions about lectins in order to do a first approach in this area, lastly, this work serves as a very important support to realize within this vast area of lectinomics, which are the most promising frontiers to be explored.

The major investment in research over the last few decades has been made in order to reverse actual cancer scenario and thanks to it, we have improved not only the morbidity of patients and cured thousands of people with new and sophisticated techniques, but also improved early cancer diagnosis in patients in very early stages of this disease.

For those reasons, the research is always focused in the most promising areas of science, hoping to discover new approaches to diagnose and to treat cancer, and lectinomics is definitely one of those exciting areas of the future!

**Keywords:** Lectins; Lectins Diagnosis; Lectins Treatment; Cancer; Lectins Review; Lectins carbohydrate affinity

# 1 História

Os primeiros estudos sobre lectina e seus efeitos fisiológicos surgem anteriormente à própria definição destas glicoproteínas (1).

## 1.1 Prelúdio

O Prelúdio do início oficial da história das lectinas, surge com os estudos relacionados com a toxicidade das sementes de Ervilha-do-Rosário (*Abrus precatorius*) por Warden and Waddel em 1884 (2), onde aparece pela primeira vez descrita a natureza desta proteína tóxica como “fitoalbumosa”. Contudo são os estudos de Hermann Stillmark, publicado em 1888 na sua tese de doutoramento, “Ueber Ricin, ein giftiges Ferment aus den Samen von Ricinus comm. L. und einigen anderen Euphorbiaceen” (3), que marcam indiscutivelmente o início do estudo das propriedades destas proteínas muito especiais. Nesta tese, surgem descritas as propriedades hemaglutinantes da proteína ricina nos extratos parcialmente purificados de sementes de Ricino (*Ricinus communis L.*), também chamada de mamona, mamoneira ou carrapateira. Stillmark observou que a adição de ricina a eritrócitos de diferentes animais conduzia a diferentes resultados e também concluiu que outra “toxina”, a crotina, tem uma actividade hemaglutinante diferente da ricina nas mesmas espécies animais.

## 1.2 Período Clássico (1888-1918)

### 1.2.1 Plantas

Os desenvolvimentos científicos entre 1888 e 1918 definem-se como o período clássico da investigação em lectinas, estes projetos científicos debruçam-se apenas no estudo das lectinas enquanto aglutinantes eritrocitários e são comumente chamadas de “hemaglutininas”. Neste período pretendia-se estudar extratos de plantas, tecidos ou fluidos animais com estas propriedades. Um grande investigador, conhecido como o pai da imunologia, Paul Ehrlich conseguiu demonstrar que havia a criação de proteínas (anticorpos) específicas no soro de animais administrados com abrina (encontrada na *Abrus precatorius*) e a ricina, reconhecendo que estas proteínas são melhores modelos de antígenos para os estudos em imunologia do que os anteriores modelos que usavam toxinas de bactérias, como a difteria (4,5).

Outra grande figura deste período é Karl Landsteiner, Nobel de Fisiologia ou Medicina, pela classificação dos grupos sanguíneos, sistema AB0, tendo descoberto o fator RH.

Após esta importante descoberta, Landsteiner começou a estudar as propriedades destas proteínas de plantas em sementes de (*Phaseolus vulgaris*), ervilhas (*Pisum sativum*), lentilhas (*Lens culinaris*) e Vicia (*Vicia sativa*), concluindo que são solúveis em água, não se dissociavam, insolúveis em álcool, termolábeis e sendo uma proteína, reage positivamente ao teste xantoproteico e de biuretos.

A Concanavalina (*Concavalina ensiformes*) é atualmente a lectina mais estudada tendo sido descoberta e batizada por Jones e Johns em 1916, obtida a partir de Feijão-de-porco (*P. vulgaris*). Após precipitação e diálise obtêm-se duas fases, que posteriormente são separadas usando uma solução saturada de sulfato de amónia a 60%.

### **1.2.2 Fungos**

Não só nas plantas a investigação em lectinas foi sendo desenvolvida, Eduard Kober demonstrou em 1893 a existência de hemaglutininas em *Amanita muscaria* (5).

### **1.2.3 Bactérias**

Os trabalhos de Kraus e de Ludwig em 1902, foram os primeiros a demonstrar que as bactérias tinham propriedades hemaglutinantes. Eles usaram culturas de *Staphylococcus aureus* e duas estirpes de *Vibrio* e conseguiram aglutinar sangue de coelho (6).

### **1.2.4 Animais Invertebrados**

Os primeiros registos de estudos com lectinas nesta classe foram promovidos por Noguchi em 1903, descrevendo as propriedades eritrocitárias aglutinantes da hemolinfa de dois tipos de crustáceos, a limulidae (*Limulus polyphemus*) e a lavagante (*Homarus americanus*) (7).

### **1.2.5 Animais Vertebrados**

Neste período, poucos estudos foram feitos usando animais superiores para além dos estudos com venenos de cobra feitos por Mitchell e Reichert em 1886, Mitchell e Steward em 1897 e mais tarde Noguchi em 1902 (8). Nesta época estes autores reconheceram que o estudo da composição destes venenos era muito complexa e difícil.

Já nesta primeira era da história das lectinas se percebeu que o estudo em diversas plantas seria aquele que se revelaria mais importante, uma vez que os processos de obtenção e isolamento destes compostos eram mais simples.

Nesta época a investigação focava-se na compreensão das diversas propriedades desta proteína e na demonstração da semelhança destas propriedades com a dos anticorpos, nomeadamente as propriedades aglutinantes, precipitantes e as diversas interações com diferentes células e inibições promovidas por diversas substâncias (9).

### **1.3 Período Intermédio (1919-1934)**

Este período é marcado pelo desvanecimento do interesse inicial nesta área, uma vez que tanto os estudos feitos até então, relacionados com sangue e lectinas, não produziram grandes resultados, e o uso das propriedades das lectinas para aplicações práticas tanto em medicina como em outras áreas fracassaram, o que duraria 25 anos.

#### **1.3.1 Plantas**

A concanavalina continuou a ser mais estudada e foram obtidas duas frações cristalizadas uma solúvel em cloreto de sódio 10% e outra solúvel em soluções salinas concentradas, Concanavalina B e A respetivamente, (10). Karrer e colaboradores em 1924 purificaram a ricina e crotina e apresentaram a primeira análise dos aminoácidos presentes nestas lectinas (11).

#### **1.3.2 Bactérias e Vírus**

Foram registados poucos artigos científicos sobre este tópico, o mais relevante, por Weinberg e Kepinow em 1921, que demonstrou que uma hemaglutinina poderia aglutinar tanto eritrócitos como leucócitos (9).

### **1.4 Reconhecimento da especificidade e interações com lectinas (1935-1964)**

Esta Era marca o início da compreensão de uma das propriedades fundamentais das lectinas, a sua ligação a glicanos específicos de forma reversível, bem como as potencialidades das lectinas para indução da proliferação e também morte celulares.

#### **1.4.1 Animais Vertebrados**

Estes primeiros estudos surgiram por Sugishita em 1935 (12), tendo demonstrado que a Enguia-japonesa *Anguilla japonica*, continha um tipo de aglutinina específico para eritrócitos do tipo AB0, mas continha outra lectina que apenas se liga a células do tipo O. Só 30 anos mais tarde se conseguiu provar que esta proteína não era uma imunoglobulina (por Bezkorovainy e colaboradores 1971) (13). Outro estudo muito interessante sobre especificidades foi feito por Eichbaum em 1946. Eichbaum analisou 9 espécies de cobras da África do Sul e concluiu que as suas aglutininas exibiam toxicidade diferente para diferentes espécies animais usadas na sua alimentação.

#### **1.4.2 Animais Invertebrados**

A principal descoberta nesta área deveu-se a Johnson em 1964 que conseguiu inibir a atividade da lectina anti-A<sub>1</sub>-específica do Molusco Da Manteiga (*Saxidomus giganteus*) na presença de *N*-Acetilgalactosamina. Este artigo marca o início de uma extensa investigação até aos dias de hoje, para perceber a especificidade de cada lectina estudada nos vários reinos.

### 1.4.3 Plantas

William Boyd, neste período fez um impressionante trabalho relacionado o estudo da ligação de várias lectinas a diferentes grupos sanguíneos. No seu trabalho “Fundamentals of Immunology” em 1947, (14), William estudou que as sementes de lima (*Phaseolus lunatus syn. limensis*) aglutinavam os eritrócitos de alguns indivíduos, mas que noutros a ligação era mais fraca ou inexistente, ele relacionou estas diferenças com o tipo de sangue do indivíduo, tendo aberto caminho para que outros investigadores analisassem as propriedades aglutinantes de outras lectinas no sangue. Como exemplo, Renkonen (15). Estudou as propriedades de 99 espécies da família da *Fabaceae*, concluindo que 6 delas demonstravam afinidade para diferentes tipos de sangue: tipo A (*Vicia craca*) e eritrócitos tipo 0 (*Cytisus sessilifolius*, *Cytisus praecox*, *Cytisus ratisbonensis*, *Laburnum alpinum* e *Lotus tetragonolobus syn. Tetragonolobus purpureus*).

É neste período que começam a haver as primeiras descobertas associadas à compreensão e tratamento do cancro associadas a lectinas. Em 1960, Peter Nowell observou que a “fitoaglutinina” da *Phaseolus vulgaris* (PHA) poderiam despoletar um estado ativo de multiplicação e crescimento celular em linfócitos, contrariando a ideia de então, de que a proliferação em linfócitos não era possível.

Pouco depois, 1963, marcou uma data importante na história das lectinas, pois foi publicado o primeiro texto sobre lectinas e cancro, da autoria de Joseph C. Aub, que descobriu que extratos de *Triticum vulgare* (WGA) contendo lípases poderiam inibir o crescimento tumoral, pois causavam aglutinação das células cancerígenas (16).

### 1.4.4 Bactérias, Fungos e Vírus

Durante este período, a investigação nesta área tomou um novo e definitivo folgo para que muitas espécies fossem catalogadas como sendo hemaglutinantes e/ou leucoaglutinantes devido à atividade das lectinas nelas existentes.

Pelos estudos existentes neste período, o focus da investigação passou a ser a relação que as lectinas tinham com diferentes glicanos, uma vez que a atividade aglutinante das lectinas era inibida na presença de hidratos de carbono simples, como demonstrado por Watkins e Morgan em 1952, (17). No seu estudo, a lectina da enguia (*Anguilla anguilla*) aglutina sangue do tipo O, mas é inibida na presença de uma L-Fucose e não por outro tipo de açúcar, isto demonstra a especificidade desta lectina.

Este estudo serviu para iniciar outras investigações com vista a catalogar as lectinas sobre o ponto de vista de afinidade para respetivos hidratos de carbono.

## 1.5 Período Moderno (1965 - )

Este período marca o início da aplicação prática dos estudos com lectinas até à data. Devido ao avanço nas técnicas de detecção, foi possível desenvolver melhores testes para avaliação da afinidade de ligação das lectinas aos hidratos de carbono. A tabela. 1 demonstra os avanços que aconteceram até à atualidade:

**Tabela. 1 Avanços na lectinologia desde a era moderna até à atualidade**

Data	Avanços na Lectinologia	Referência
1965	Introdução da cromatografia por afinidade para isolamento de lectinas por Goldstein e Agrawal	(18)
1972	Determinação da sequência aminoácídica e da estrutura tridimensional da concanavalina A	(19)
1972–1977	Deteção de biomarcadores (Lectina do tipo-P) para enzimas lisossomais (afinidade para Man-6-fosfato) associadas à doença mucopolidose do tipo II.	(20)
1978	Primeira conferência dedicada às lectinas e glicoconjugados	
1979	Deteção de ligandos endógenos para lectinas de plantas (H. Rüdiger)	(21)
1981–1988	Definição de lectina como proteína ligadora de hidratos de carbono sem qualquer atividade de anticorpo, transportador de ou processador hidratos de carbono	(22)
1984	Isolamento de lectinas provenientes de tumores	(23)
1989	Demonstração das lectinas como moléculas reconhecedoras de moléculas	(24)
1993	Kim e colaboradores demonstraram que a WGA e GSA induzem apoptose em células cancerígenas	(25)
1995	É feita a análise estruturas do complexo lectina-ligando em solução usando RMN	(26)
2001–2005	Desenvolvimento dos primeiros estudos com lectinas e glicanos usando microarrays.	(27)
2007	Chang e colaboradores demonstraram que a concanavalina A induz autofagia e morte celular em células cancerígenas	(28)
2009	Liu e colaboradores descobriram que a PCL induz simultaneamente apoptose e autofagia em células cancerígenas	(29)
2009	Primeira tentativa de produção de lectinas (EcrFTL) recombinantes a partir de E. coli	(30)
2010	Li e colaboradores demonstram que a redução da expressão de miRNAs contribui para o efeito anti-cancerígeno das lectinas Mistletoe tipo-I	(31)

(Adaptado de Fu e colaboradores (32) e Gabius e colaboradores (33)).

A quantidade de informação que se conseguiu coletar na última década sobre lectinas e as suas propriedades, só foi conseguidas através de muitos avanços científicos, alguns deles apresentados na tabela. 1.

Toda esta informação abriu recentemente a possibilidade de se trabalhar em lectinómica através das bases de dados entretanto criadas, abrindo a investigação para a área da “Big Data”. Esta área pretende descobrir possíveis interações entre novas lectinas, descobertas ou criadas por engenharia recombinante, com muito tipos de glicanos existentes, porque as combinações possíveis são quase incontáveis e seria muito dispendioso trabalhar em todas elas, esta área computacional permite aplicar algoritmos nas bases de dados criados para assim focar o estudo mais prático, apenas nas combinações que têm mais probabilidade de conduzir resultados positivos, neste caso para o tratamento do cancro. O primeiro trabalho do género data de 2012 por Wang e colaboradores (34).

## 2 Definição

O nome lectina foi proposto por William Boyd, 1954 (1), deriva do participio passado *lectus* do Latim *legere* que significa escolher, selecionar; referindo-se a substâncias existentes em plantas parecidas aos anticorpos (reconhecedoras e ligantes a sítios específicos), mas que não são formadas a partir de um estímulo provocado por um antígeno.

Mais tarde, descobriu-se que as lectinas são proteínas ligadoras a açúcares e que existem em diversas fontes, podem ser solúveis ou membranares, Ashwell, 1977 (35).

A definição aceite para lectinas provenientes de plantas provem de Peumans e Van Damme, 1995 (36), “Todas as proteínas de plantas que possuem pelo menos um domínio não catalítico que se liga reversivelmente a um mono ou oligossacárido”.

Esta condição levou à criação da definição atualmente aceite para lectinas proposta por Goldstein em 1986: “Proteínas que reconhecem e que se ligam reversivelmente a um domínio de um mono ou oligossacárido ligado ou livre” (37). Não têm atividade enzimática, não fazendo parte do sistema imunológico, podem ser encontradas em vírus, bactérias, fungos, plantas e animais (26).

Esta definição inclui uma grande variedade de proteínas e de domínios proteicos muito heterogéneos e que pertencem a famílias distintas, têm a capacidade de se ligar a glicocódigos específicos em estruturas com muitos hidratos de carbono.

### 3 Distribuição e Ocorrência

As lectinas existem em diferentes fontes na natureza, em todos os reinos nos seres vivos, incluindo os vírus. Um dos primeiros estudos sobre o tema está presente no livro “Receptor Specific Proteins. Plant and Animal Lectins” de Edwin Gold em 1975 (38). A distribuição varia a nível celular e dos tecidos, dependendo de muitos fatores como a idade, patologias associadas, desta forma é correto dizer que nem todas os géneros ou espécies contêm lectinas e aqueles que as produzem, têm uma distribuição únicas.

#### 3.1 Plantas

As plantas são os organismos mais ricos em lectinas e estruturas diferentes podem conter concentrações muito variadas em lectinas. Geralmente o conteúdo em lectinas de plantas não leguminosas é menor do que em plantas leguminosas, por exemplo, da semente da não-leguminosa de *Hibiscus mutabilis* extraí-se 3.3 mg de lectina por cada 100 g (39), a tabela 2 mostra o conteúdo em lectinas da leguminosa *Phaseolus* nas suas diferentes espécies para se perceberem as diferenças:

**Tabela. 2** Diferentes espécies de leguminosa *Phaseolus* e quantidade de lectinas

<i>Phaseolus</i>	Quantidade (mg/100 g semente)	Ref.
Feijão Anasazi	13	(40)
Feijão Rim-Vermelho	107	(41)
Feijão Escumite	163	(42)
Feijão purpura outono	35	(43)
Feijão Francês 12	4.8	(44)
Feijão Francês 35	1100	

(Adaptado de Lam e colaboradores (45)).

#### 3.2 Animais

Temos lectinas distribuídas em diferentes animais, sendo nos invertebrados onde se encontram as maiores fontes de lectinas, no entanto as quantidades de lectinas obtidas são muito escassas o que torna a sua purificação muito difícil, deste modo lectinas desta fonte são difíceis de trabalhar.

### 3.3 Vírus

Podemos encontrar lectinas no vírus corona, herpes simplex, em variados tipos de Mixovirose e também no retrovírus HIV (46).

### 3.4 Bactérias

As bactérias expressam normalmente mais do que um tipo de lectinas. Como gram negativas temos a *E. coli*, *K. pneumoniae* e a *Salmonellae spp.*. Como exemplo de bactérias gram positivas temos, a *Actinomyces naeslundii* e *viscosus*, bem como bactérias da família Rhizobia (*Rhizobium lupinii* e *Agrobacterium tumefaciens*) (46).

### 3.5 Protozoários

Até em formas eucarióticas tão simples como os protozoários temos exemplos de fontes de lectinas como a *Entamoeba histolytica*, produtora de lectinas específicas a *N*-acetilneuramínicas e o *Plasmodium falciparum* produtoras de lectinas específicas a sulfato de heparano. Outros exemplos são as *Trichomonas foetus* e *mobilensis* (46).

## 4 Classificação

As lectinas são prevalentes em animais e plantas. Também estão presentes em vírus e bactérias, onde ganham o nome de hemaglutininas ou adesinas. (47). As lectinas estão presentes em quase todas as espécies de plantas mas são mais abundantes nas leguminosas (47). Em 1972, Sharon e Lis classificaram todas as lectinas conhecidas até à data, dando início à era moderna da lectinologia (47,48).

### 4.1 Classificação quanto à estrutura

As lectinas de plantas podem ser divididas em vários grupos de acordo com a sua estrutura molecular, como ilustrado na figura 1:

- **Merolectinas**: lectinas que possuem apenas um DRC. São proteínas pequenas que pela sua natureza monovalente são incapazes de precipitar glicoconjugados ou aglutinar células.
- **Hololectinas**: lectinas que possuem dois ou mais DRCs com estrutura homóloga (por exemplo a ConA).
- **Quimerolectinas**: São proteínas de fusão que possuem um DRC em tandem com um domínio com atividade catalítica que age de forma independente do DRC. Dependendo do número de DRCs, as quimerolectinas agem como uma merolectina ou hololectina.
- **Superlectinas**: Lectinas que possuem pelo menos dois DRCs diferentes (como a TXCL-1) (49).

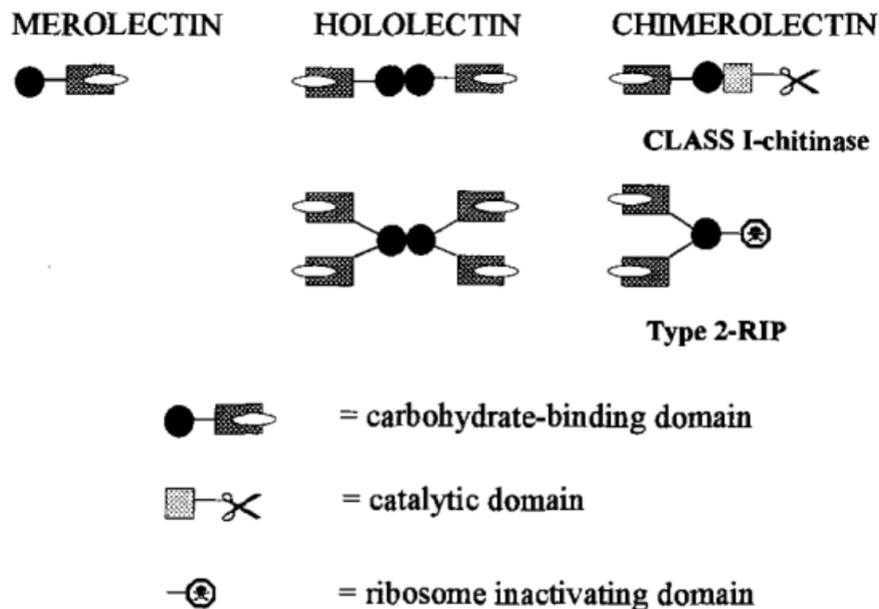


Figura 1. – Esquema das merolectinas, hololectinas e quimerolectinas.

(Adaptado de Van Damme, 1998 (49)).

## 4.2 Classificação quanto à especificidade ao hidrato de carbono

A classificação mais útil sobre o ponto de vista prático do estudo das lectinas é aquela que apresenta uma grande especificidade para uma variedade elevada de estruturas de hidratos de carbono, uma vez que os glicanos têm uma importância fundamental no estabelecimento de ligações com esta proteína (50).

### 4.2.1 Grupo I – (Glucose e Manose)

São o segundo grupo maioritário. Neste tipo de lectinas, as interações com os monossacáridos envolvem ligações de hidrogénio com resíduos muito bem conservados (51).

### 4.2.2 Grupo II – (Galactose e *N*-acetilgalactosamina)

Grupo a que pertence a maioria das lectinas (51).

### 4.2.3 Grupo III – (*N*-acetilglucosamina)

São poucas as lectinas que pertencem a este grupo. A BPA (*Bauhinia purpúrea* aglutinina), lectina da *Bauhinia purpúrea* (51).

### 4.2.4 Grupo IV – (L-Fucose)

Constituem um grupo muito reduzido e muito importante, uma vez que muitas das aberrações glicómicas resultam de processos de Fucosilação (51).

### 4.2.5 Grupo V – (Ácido Siálico)

São em número muito reduzido as lectinas com especificidade para o ácido siálico (25), o que as torna muito importantes na identificação de processos de sialilação nas células tumorais. Temos como exemplo uma lectina de uma leguminosa, *Maackia fauriei*, designada por MFA (*M. fauriei* aglutinina) (51).

## 5 Bioatividade

As Lectinas sendo proteínas ou glicoproteínas, que possuem pelo menos um domínio não catalítico, são capazes de se ligar reversivelmente a monossacarídeos ou oligossacarídeos específicos, sem alterar as propriedades destas. As glicoproteínas desempenham importantes funções, e devido à sua habilidade em discriminar estruturas de hidratos de carbono, representam um mecanismo crucial de defesa da planta contra potenciais predadores como o homem. Deste modo, as lectinas promovem vários mecanismos como a aglutinação, mitogênese, estimulação, toxicidade celular, atividade antifúngica, antibacteriana, antiviral, anti-HIV e anticancerígena (52) mas, a atividade das lectinas não se resume só às interações defensivas, também está documentada uma ação de simbiose com outros organismos importantes.

**As plantas** contêm diversos tipos de lectinas cujo, o tipo, concentração e atividade varia em função da parte da planta que estudamos, a tabela 3 mostra de um modo geral, onde se encontram as lectinas responsáveis pelas bioatividades descritas:

**Tabela. 3 Bioatividade de plantas exibidas em diferentes órgãos**

Tecido	Bioatividade	Referência
Semente	Anticoagulante, Antiagregante plaquetário, Mitogénico, Antibacteriana, Antifúngica e Antitumoral	(53), (54), (55), (56), (57), (58)
Casca	Antifúngica e Inseticida	(59), (60)
Pedúnculo	Atividade Termicida	(61)
Tronco	Indutora de Apoptose e Antiviral	(62)
Folhas	Antiviral, Antibacteriana e Antifúngica	(63), (64)
Fruto	Antiviral e Mitogénica	(65)
Raiz	Antifúngica, e Termicida	(66)
Tubérculos	Inseticida, e Antitumoral	(67)
Bolbos	Atividade proteolítica	(68)
Rizomas	Atividade Antiproliferativa, Imunoestimuladora, Antiviral, Antitumoral, Antifúngica e Indutora de Apoptose	(69), (70), (71), (72)

(Adaptado de Santos e colaboradores (73)).

### 5.2.1 Simbiose

Para a sobrevivência da planta em ambientes extremos, as lectinas da planta podem usar a sua capacidade ligadora a glicanos para estabelecer uma relação de mútuo benefício com o rhizobium (bactéria que vive no solo e fixadora de azoto), deste modo a planta consegue assim captar o azoto atmosférico, compensando terrenos empobrecidos no mesmo, mantendo este simbiote vivo nas suas raízes criando uns nódulos característicos para o efeito.

### 5.2.2 Antifúngica

Esta propriedade é importante para incluir nas plantas resistência contra a agressividade de potenciais agentes fúngicos. Esta propriedade existe em apenas algumas lectinas. As lectinas antifúngicas não se conseguem ligar aos glicoconjugados da membrana da célula do fungo, nem tão pouco chegar ao citoplasma desta, deste modo são os efeitos indiretos da ligação da lectinas aos hidratos de carbono que vão produzir o efeito antifúngico. Por exemplo, a ligação da lectina *Urtica dioica* a fungos sem a enzima quitinase, causa interrupção no crescimento do fungo pela paragem da síntese da parede celular e pela deposição excessiva de quitina (74).

Esta é uma propriedade que apenas algumas lectinas têm, e não sendo comum, já existem processos transgênicos, para incluir esta capacidade antifúngica noutras plantas com maior interesse económico para o Homem, por exemplo a inserção de um gene precursor para a isolectina I na planta do tabaco, causando o aumento das defesas contra *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum lindemuthianum* e *Trichoderma viride* (75).

### 5.2.3 Inseticida

As lectinas atuam como inseticidas aumentando a mortalidade ou o desenvolvimento do inseto, como demonstrado na tabela 4.

**Tabela. 4** Atividade Inseticida das lectinas

Lectinas	Inseto Alvo	Bioatividade	Tipo de Açúcar	Referência
<i>Bolbos Allium sativum</i> (alho)	<i>Acyrtosiphon pisum</i>	Aumento da Mortalidade	Manose	(76)
<i>Arisaema intermedium e wallichianum</i> (Araceae)	<i>Bactrocera cucurbitae</i>	Prolongamento do período de desenvolvimento	Não Encontrado	(77)
<i>Gracilaria cornea</i> (alga vermelha)	<i>Boophilus microplus</i>	Redução da massa do inseto fêmea e dos ovos	Porcina e Fetuina(61)	(78)
<i>Gracilaria ornate</i> (alga vermelha)	<i>Callosobruchus maculatus</i>	Atrasos no desenvolvimento	Porcina e Fetuina	(79)
Casca <i>Myracrodruon urundeuva</i> (aroeira preta)	<i>Aedes aegypti</i>	Aumento da Mortalidade	N-Acetil-d-Glucosamina	(80)
Fruto <i>Xerocomus chrysenteron</i>	<i>Myzus persicae</i>	Aumento da Mortalidade	Porcina e Fetuina	(81)

(Adaptado de Lam e colaboradores (45)).

### **5.3 Antiviral**

Os estudos com lectinas nesta área remontam à década de 80, devido à emergência do vírus HIV, descobrindo-se uma variedade de lectinas diferentes com mecanismos muito próprios.

Os estudos mais recentes demonstraram que a lectina do feijão púrpura de outono (43) e a lectina do cogumelo *Russula delica* (82), conseguiam inibir a transcriptase reversa em indivíduos com HIV-1, deste modo o papel das lectinas como agentes antivirais é de elevada importância.

### **5.4 Antibacteriano**

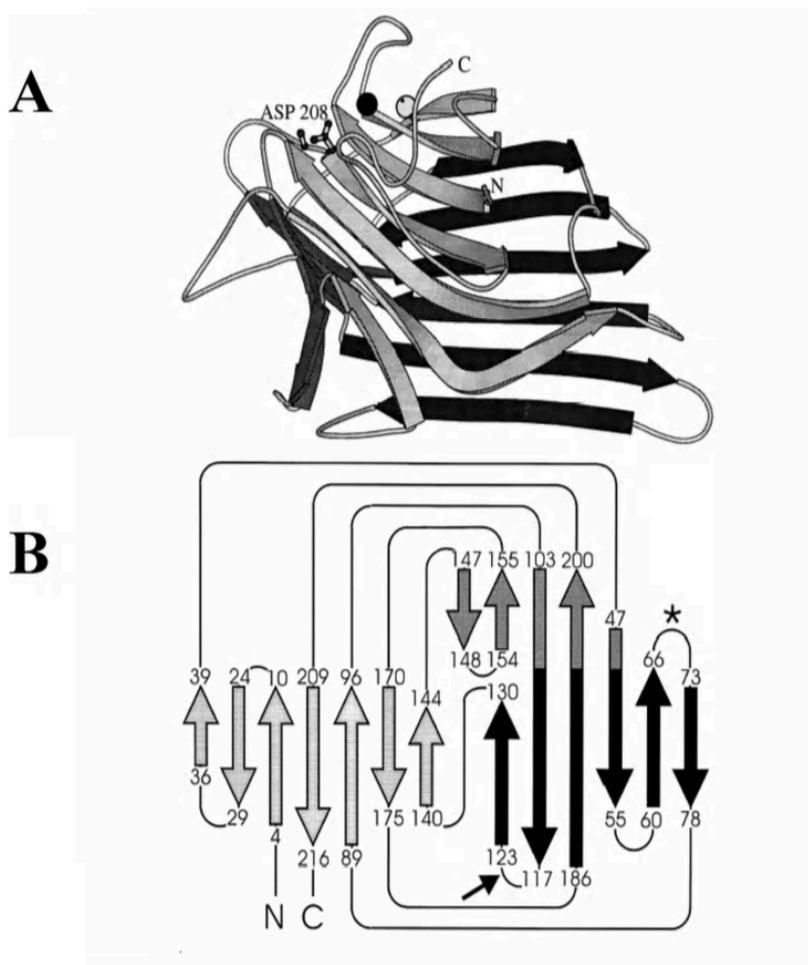
As propriedades antibacterianas estendem-se a organismos gram-positivos e gram-negativos. Por exemplo, a lectina da espécie marinha *Holothuria scabra* (83), das sementes de *Araucaria angustifolia* e lectinas do tipo-c da galinha e ovos de ganço (84) têm propriedades anti-gram-negativa. As lectinas de *Cladonia verticillaris* (ClaveLL) mostraram atividade antibacteriana para gram positivas como *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis* e também bioatividade gram negativa para *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* (85).

As restantes bioatividades são de grande importância para o diagnóstico e tratamento de tumores e por isso serão mencionados mais tarde, no desenvolvimento deste trabalho.

## **6 Base molecular do Mecanismo de ligação ao Hidrato de Carbono**

As bioatividades exibidas pelas lectinas só podem ser explicadas pelo seu mecanismo de ligação, sendo o princípio molecular base, a especificidade de ligação a recetores glicosilados. Este mecanismo de ligação explica a especificidade que existe em todas as lectinas, pois todas elas contêm uma região no sítio de ligação ao recetor glicosilado denominada “loop” ou domínios de reconhecimento de hidratos de carbono (DRC). Este loop exhibe uma conservação aminoacídica consensual e não consensual, contendo um número bem definido de moléculas de água, bem como um estereoisomerismo muito próprio. Portanto, é correto dizer que diferentes “loops” conduzem a diferentes especificidades ao hidrato de carbono (51).

A atividade biológica das lectinas, que se manifesta pela sua ligação aos hidratos de carbono, está dependente de catiões, como o  $\text{Ca}^{2+}$  e iões metálicos de transição, que, estão extremamente conservados em todas as estruturas de lectinas. Um exemplo bem estudado é o da figura 2 que demonstra a concanavalina A e a ligação do  $\text{Ca}^{2+}$  e iões metálicos de transição, mediante resíduos de aspartato (51).



**Figura 2. – Exemplificação do sítio de ligação aos aminoácidos de aspartato e de catiões manganês e cálcio. (a) Diagrama de fitas do monómero de concanavalina A. O resíduo de aspartato, está representado por e bastonete enquanto o manganês e cálcio estão representados por esferas cinzenta e preta. (b) Diagrama topológico do enovelamento do monómero da lectina de leguminosa. O código de identificação das folhas e idêntico ao descrito em (a).**

A tabela 5 contempla algumas lectinas purificadas a partir de extratos proteicos de plantas, discriminando a sua especificidade ao hidrato de carbono.

**Tabela. 5** Lista de lectinas leguminosas, sua sequência e especificidade.

Lectina	Fonte	Ordem	Especificidade	Referência
WBA I	<i>Psophocarpus tetragonolobus</i> (winged bean)	<i>Phaseoleae</i>	GalNAc	Sharma <i>et al.</i> (1996) (86)
ECorL	<i>Erythrina corallodendron</i> (coral tree)	<i>Phaseoleae</i>	GalNAc	Arango <i>et al.</i> (1990) (87)
DBL	<i>Dolichos biflorus</i> (horse gram)	<i>Phaseoleae</i>	GalNAc	Schnell & Etzler (1987) (88)
DB58	<i>Dolichos biflorus</i> (horse gram)	<i>Phaseoleae</i>	GalNAc	Schnell & Etzler (1988) (89)
CS II	<i>Cytisus scoparius</i> (Scotch broom)	<i>Genisteae</i>	GalNAc	Konami <i>et al.</i> (1992) (90)
PHA E <sup>a</sup>	<i>Phaseolus vulgaris</i> (kidney bean)	<i>Phaseoleae</i>	Complex	Hoffman & Donaldson (1985) (91)
PHA L <sup>a</sup>	<i>Phaseolus vulgaris</i> (kidney bean)	<i>Phaseoleae</i>	Complex	Hoffman & Donaldson (1985) (91)
PHA M <sup>a</sup>	<i>Phaseolus vulgaris</i> (kidney bean)	<i>Phaseoleae</i>	Complex	Voelker <i>et al.</i> (1986) (92)
SBA <sup>a</sup>	<i>Glycine max</i> (soybean)	<i>Phaseoleae</i>	GalNAc	Vodkin <i>et al.</i> (1983) (93)
PNA <sup>a</sup>	<i>Arachis hypogea</i> (peanut)	<i>Hedysareae</i>	Gal	Young <i>et al.</i> (1991) (94)
LTA	<i>Lotus tetragonolobus</i> (winged pea)	<i>Lotae</i>	L-Fuc	Konami <i>et al.</i> (1990) (95)

UEA I	<i>Ulex europaeus</i> (furze)	<i>Genisteae</i>	L-Fuc	Konami <i>et al.</i> (1990) (95)
UEA II	<i>Ulex europaeus</i> (furze)	<i>Genisteae</i>	GlcNAc	Konami <i>et al.</i> (1991a) (96)
LAA	<i>Laburnum alpinum</i> (Scotch laburnum)	<i>Genisteae</i>	GlcNAc	Konami <i>et al.</i> (1991a) (96)
OVL	<i>Onobrychis viciifolia</i> (common sainfoin)	<i>Hedysareae</i>	Man/Glc	Konami <i>et al.</i> (1991b) (97)
MTA <sup>a</sup>	<i>Medicago truncatula</i> (barrel medic)	<i>Trifoleae</i>	Man/Glc	Kouchalakovs <i>et al.</i> (1984) (98)
LSL <sup>a</sup>	<i>Lathyrus sphaericus</i> (spring vetchling)	<i>Vicieae</i>	Man/Glc	Richardson <i>et al.</i> (1987) (99)
ConA <sup>a</sup>	<i>Canavalia ensiformis</i> (jack bean)	<i>Diocleae</i>	Man/Glc	Carrington <i>et al.</i> (1985) (100)
DiocL	<i>Dioclea grandiora</i> (mucana)	<i>Diocleae</i>	Man/Glc	Richardson <i>et al.</i> (1984) (101)
LOL I <sup>a</sup>	<i>Lathyrus ochrus</i> (yellow-flowered pea)	<i>Vicieae</i>	Man/Glc	Yarwood <i>et al.</i> (1985) (102)
LenL <sup>a</sup>	<i>Lens culinaris</i> (lentil)	<i>Vicieae</i>	Man/Glc	Foriers <i>et al.</i> (1981) (103)
PSL <sup>a</sup>	<i>Pisum sativum</i> (garden pea)	<i>Vicieae</i>	Man/Glc	Higgins <i>et al.</i> (1983) (104)
Favin <sup>a</sup>	<i>Vicia faba</i> (broad bean)	<i>Vicieae</i>	Man/Glc	Hemperley <i>et al.</i> (1979) (105) Hopp <i>et al.</i> (1982) (106)
DlabL	<i>Dolichos lab lab</i> (field bean)	<i>Phaseoleae</i>	Man/Glc	Gowda <i>et al.</i> (1994) (107)
GS Iv	<i>Griffonia simplicifolia</i>	<i>Caesalpinaceae</i>	GalNAc	Unpublished
BPL	<i>Bauhinia purpurea</i> (camel's foot tree)	<i>Caesalpinaceae</i>	GalNAc	Kusui <i>et al.</i> (1991) (108)

<sup>a</sup> – Lectinas pertencentes à família das leguminosas

(Adaptado de Sharma e Surolia (109)).

## 6.1 Especificidade ao Hidrato de Carbono

As lectinas exibem uma propriedade comum, a capacidade de se ligarem a hidratos de carbono específicos. É correto dizer que a sua especificidade faz das lectinas, proteínas capazes de detetarem estruturas complexas de hidratos de carbono. Estas estruturas complexas são também denominadas de glicocódigos porque são formadas pela combinação de diferentes hidratos de carbono resultando moléculas como glicoproteínas ou glicolípidos (no caso da membrana celular). Cada célula, pertencente a diferentes órgãos exibe um glicoma celular específico, como se fosse uma impressão digital

Lectinas com especificidade para estrutura tão complexas e únicas como glicoproteínas e glicolípidos conseguem deste modo ter a capacidade para detetar e decodificar glicocódigos em células ou estruturas muito específicas, conferindo às lectinas uma bioatividade muito extensa.

## 6.2 Alterações na glicómica da célula tumoral

O glicocálix é definido como a matriz extracelular da membrana celular formada por glicolípidos, glicoproteínas e glicoaminoglicanos, formando uma região da célula denominada glicoma celular. Tipicamente este revestimento contém, N- e O- glicanos, aminoácidos asparagina e de serina ou trionina, respectivamente, ligados a glicoproteínas, proteoglicanos e glicosfingolipidos (GSLs), como demonstrado na figura 3 (110).

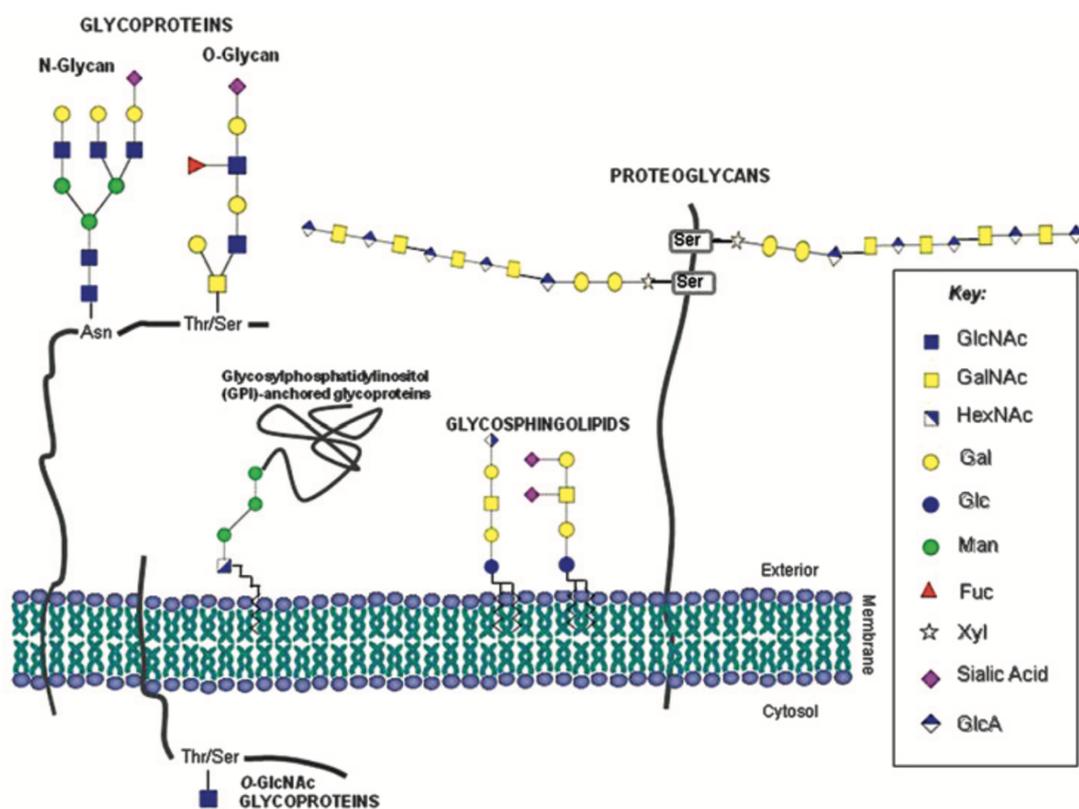


Figura 3. – Representação esquemática das classes mais comuns de glicoconjugados expressos no glicoma (111).

Quando existe aberração glicómica, existem alterações que são específicas de determinados processos patológicos e, de determinado órgão e, que podem ser reconhecidos e interpretados pelas lectinas. O recurso a diferentes técnicas interpretativas: espectrometria de massa, proteómica, glicómica, permite determinar a especificidade de ligação hidrato de carbono. A Tabela 6, exemplifica, no processo tumoral, as aberrações glicómicas específicas de tecidos tumorais de diferentes órgãos (116, 117).

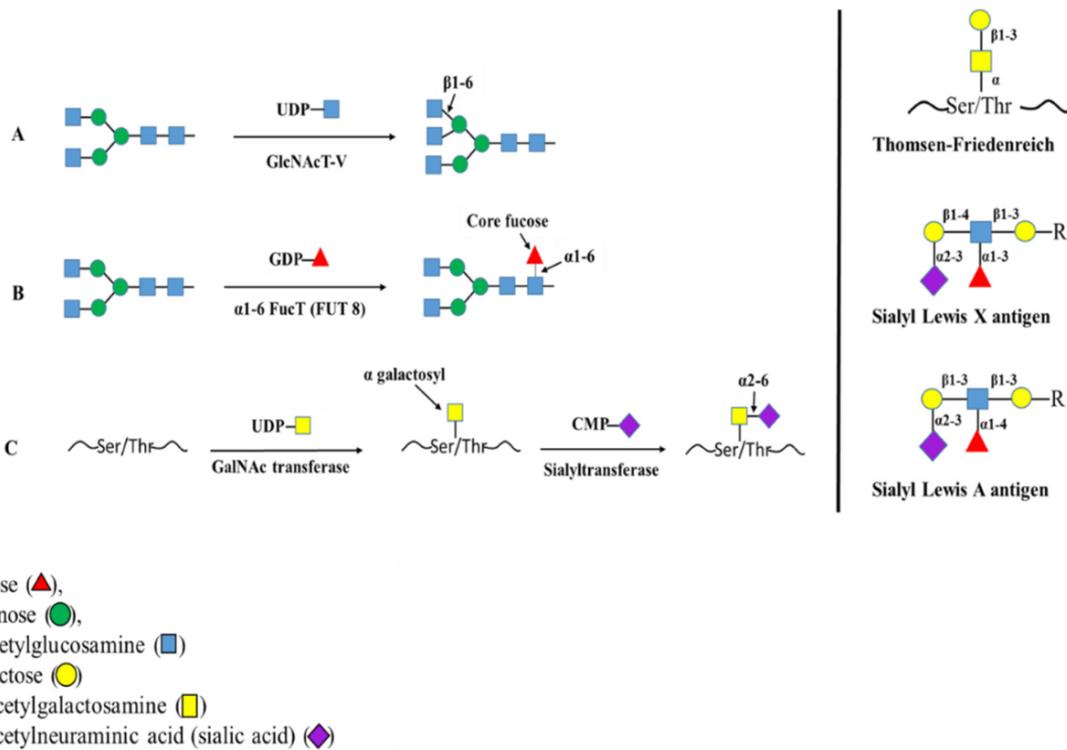
As principais alterações glicómicas prendem-se com a perda ou sobre expressão de determinadas estruturas de glicanos, formação de estruturas incompletas, truncadas ou formação de novas estruturas (113).

**Tabela. 6 Tipos de Cancro e aberração glicómica**

<b>Cancro</b>	<b>Glicanos específicos</b>	<b>Referência</b>
Cólon	UDP-Gal Ácido Siálico $\alpha$ 2-6 Antigénio X/A Siálico de Lewis Antigénio Thomsen-Friedenreich	(114),(115)
Gástrico	$\alpha$ 1-6-Fucose	(116)
Pulmão	$\alpha$ -L-Fucose Fucosiltransferase 8	(117),(118)
Mama	Ácido Siálico $\alpha$ 2-3 $\alpha$ -L-Fucose	(119),(120)
Carcinoma da Tiroide	$\alpha$ -L-Fucose	(121)
Leucemia	$\alpha$ -L-Fucose	(122)
Carcinoma Ovário	$\alpha$ -L-Fucose	(123)
Adenocarcinoma Colorretal	$\alpha$ -L-Fucose	(124)
Tumor Cerebral	$\alpha$ -L-Fucose	(125)
Hépto Carcinoma	GDP-L-fucose Fucosiltransferase $\alpha$ 1-6	(126),(127)

(Adaptado de Fohona e Colaboradores (128)).

O reconhecimento do glicocódigo por parte das lectinas permite o reconhecimento de glicanos presentes em estruturas de adesão, migração e invasão cancerígenas. A figura 4, mostra os glicanos específicos da aberração glicômica, fucose, ácido siálico e aumento de ramificações  $\beta$  1-6, assim como a sobre expressão das enzimas Glucose *N*-Acetil Transferase (GlcNAcT-V),  $\alpha$ 1-6 Fucose transferase, Sialil Transferase, que permitem a produção dos respectivos glicanos.



**Figura 4. – Representação esquemática das reações de glicosilação mais importantes em células tumorais e das respectivas enzimas (111).**

## 7 Lectinas, nova abordagem para o Diagnóstico Tumoral

A nova abordagem promovida pelas lectinas tem como premissas: O fato da célula tumoral apresentar uma glicosilação membranar diferente da célula normal, resultando numa transformação maligna da célula, diferenciação tumoral e por fim metastização, e existir uma especificidade de ligação reversível a específicos glicocódigos. Deste modo, novos e promissores métodos de diagnóstico estão a ser agora apresentados, sendo promissores para a identificação precoce e correta da doença tumoral.

Em primeiro lugar é importante reconhecer o “fingerprint” ou o glicocódigo característico de determinado tipo de cancro, para depois, proceder a estudos com diversas lectinas, de modo a identificar qual a lectina com mais afinidade no reconhecimento desta patologia.

### 7.1 Lectinas vs. Diagnóstico do cancro

A especificidade das lectinas para glicoproteínas implica a sua aplicação na deteção e quantificação precoce da maior parte dos biomarcadores tumorais, uma vez que molecularmente a maioria são glicoproteínas. A tabela 7 contempla diversos tipos de cancro, assim como as respetivas lectinas, envolvidas na deteção por afinidade dos glicanos característicos de cada processo tumoral.

**Tabela. 7 Cancros e Lectinas usadas no diagnóstico tumoral**

Cancro	Lectinas	Glicanos ligantes	Referências
Carcinoma Hepatocelular	LCA	$\alpha$ 1-6-Fucose	(129)(130)
Cancro Testicular	LCA	$\alpha$ 1-6-Fucose	(131)
Cancro do Ovário	ACA, AIA, AHA, VVL, GSA, UEA	Antigénio Thomsen-Friedenreich	(132), (133), (134), (135), (136), (137), (138) e (139)
	GMA	GalNAc $\alpha$ 1-Ser/Thr	
	PTL, WGA, LCA, UEA	$\alpha$ 1-6-Fucose	
Cancro do Pâncreas	SNA	$\alpha$ 2-6- Ácido Siálico	(132), (140)
	AAL	$\alpha$ 1-3/ $\alpha$ 1-4 e $\alpha$ 1-6 fucosilações	
	PTL	$\alpha$ 1-6-Fucose	

Cancro da Mama	GNA	Manose	(132), (141), (142), (143), (144), (145), (146) e (147)
	<b>RCA</b>	<b>Galactose</b>	
	PHA	GlcNAc	
	AOL, PTL	<b><math>\alpha</math>1-6-Fucose</b>	
	TJA-1	<b><math>\alpha</math>2-6- Ácido Siálico</b>	
	BPL	Gal $\beta$ 1-3GalNAc	
Cancro da Tiróide	<b>RCA</b>	<b>Galactose</b>	(148)
	SNA	$\alpha$ 2-6- Ácido Siálico	
	AAL	$\alpha$ 1-3, $\alpha$ 1-4, $\alpha$ 1-6 e <b>Fucose</b>	
	WFA	GalNAc	
Cancro da Próstata	<b>SNA</b>	<b><math>\alpha</math>2-6- Ácido Siálico</b>	(134), (149), (150), (151), (152)
	MAA-II	$\alpha$ 2-3- Ácido Siálico	
	LTA	$\alpha$ -L-Fucose	
	PHA	Gal $\beta$ 1, 4GlcNAc $\beta$ 1, 2Man	
	Con A	$\alpha$ -Man > $\alpha$ -Glc > GlcNAc	
Cancro do Colorrectal	PHA	$\beta$ 1-6 branched GlcNAc	(153), (154), (155)
	AAL	$\alpha$ 1-3, $\alpha$ 1-4, $\alpha$ 1-6 e fucose	
	Con A	$\alpha$ -Man > $\alpha$ -Glc > GlcNAc	
	<b>SNA</b>	<b><math>\alpha</math>2-6- Ácido Siálico</b>	
	MAA-II	$\alpha$ 2-3- Ácido Siálico	

**Negrito** – Glicanos específicos de determinados cancros, da tabela 6, usados para diagnóstico de cancros usando lectinas.

(Adaptado de Fohona e Colaboradores (128)).

## 7.2 Técnicas de diagnóstico mediadas por lectinas

Este reconhecimento aos hidratos de carbono é feito recorrendo a diversos estudos usando duas características importantes, a especificidade das lectinas e a reversibilidade da ligação. Na tabela 8 destacam-se alguns exemplos da aplicação de lectinas no diagnóstico do cancro.

**Tabela. 3 Técnicas de Diagnóstico mediadas por Lectinas**

<b>Técnica</b>	<b>Fundamento</b>	<b>Referências</b>
Aglutinação Celular	Reconhecimento de hidratos de carbono ou glicoconjugados em zonas específicas da membrana celular.	(152),(24),(156)
Ensaio citoquímicos e histoquímicos	Reconhecimento de hidratos de carbono da superfície celular ou glicoconjugados por lectinas marcadas ou por imuno-reconhecimento de lectinas.	(130), (128), (157), (158)
Ensaio de Enzima ligada a Lectina (ELLA) – Fig. 9 (e)	Lectinas marcadas ligam-se a glicoconjugados imobilizados	(159), (160), (161)
Antibody-Lectin Sandwich Array (ALSA) – Fig. 9 (b)	Usado para determinar o perfil glicómico usando lectinas e anticorpos de ligação ao glicano.	(128), (162), (163)
Microarrays de Lectinas – Fig. 9 (b)	Diferentes lectinas imobilizadas com diferentes especificidades a hidratos de carbono, reconhecem diferentes ligandos glicosilados	(141), (161), (164), (165), (166)
Cromatografia de afinidade a Lectinas (LAC)	Importante na purificação de glicoproteínas num soro - Cromatografia de afinidade utilizando lectinas imobilizadas.	(167) - Hancock e colaboradores desenvolveram uma coluna multilectinas (Con-A, WGA e Jacalina) para capturar, por afinidade a maioria das glicoproteínas presentes no soro humano.(168)
Lectin blotting	Método qualitativo para a deteção de porções de hidrato de carbono por método tipo Western-Blot.	(169), (170)

Imunoelectroforese por afinidade cruzada	Baseado em diferenças nos padrões de migração de proteínas glicosiladas em um gel de agarose que contém uma lectina incorporada. É necessária uma segunda dimensão para a detecção da proteína com anticorpo específico incorporado no gel e é necessária uma coloração final das proteínas.	(159)
Citometria de fluxo	As lectinas marcadas com um fluoróforo são usadas para detetar glicoconjugados na superfície celular.	(171), (172)
Ressonância de plasma de superfície (SPR – “surface plasmon resonance”)	As lectinas imobilizadas numa superfície de vidro (biossensor ótico) são ligadas ao hidrato de carbono em solução e são determinadas as alterações no índice de refração resultante	(173), (174)
Biossensores de Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIS)	Um biossensor usado para estudar a interação lectina-glicano medindo-se a impedância do meio.	(175), (176)

– Adaptado de Laura e Colaboradores (177)

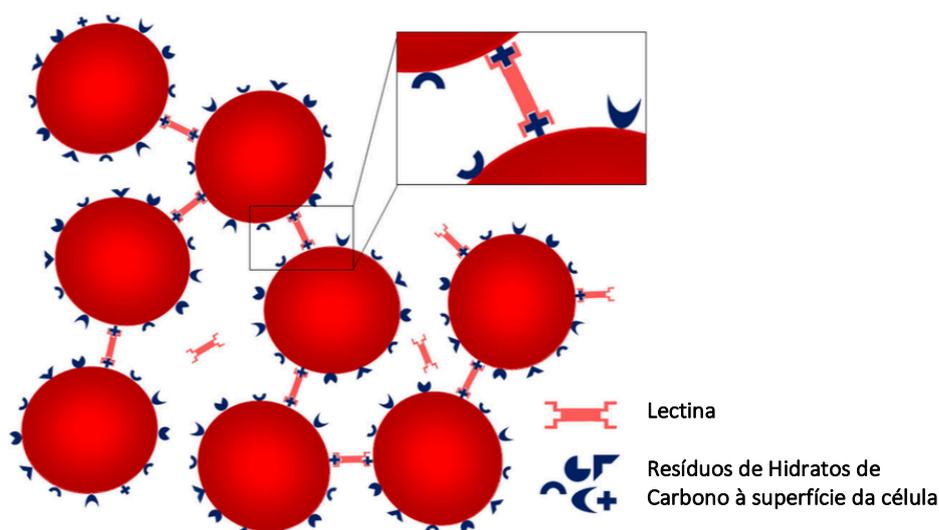
### 7.2.1 Diagnóstico do Cancro da Próstata e Hiperplasia Benigna

Destacando alguns dos exemplos destas aplicações em diagnóstico do cancro.

A metodologia da **aglutinação celular**, aplica-se ao cancro da próstata (fig.5). O cancro da próstata é a quinta maior causa de morte no mundo. Atualmente os testes para identificação deste tipo de tumor são feitos identificando antigénios prostáticos-específicos (PSA) no soro, que se encontram elevados apenas em casos de cancro da próstata e hiperplasia benigna, detetados nas concentrações de 4.0 ng/mL. No entanto este teste, quando positivo, identifica a potencial presença de um tumor ou hiperplasia, mas não consegue distinguir entre os dois, isto conduz a transtornos muito grandes para o doente e a estratégias de aferição muito mais evasivas.

Basu e colaboradores, (152), concluíram que as lectinas têm a capacidade de distinguir entre um cancro prostático e uma hiperplasia benigna. Neste estudo, fizeram-se reagir diversas purificações destes soros de antígenios de indivíduos com hiperplasia benigna da próstata (BPH) e cancro da próstata (PC) em diferentes concentrações, com Con-A, e realizaram-se ensaios de aglutinação celular, (avaliação da precipitação existente – ligação PSA- Con-A, sendo a precipitação estimada por turbidimetria e analisada a opalescência a 480 nm). A ligação PSA- Con-A determina que houve glicosilação, e a maior parte do soro destes indivíduos sofreu aglutinação, no entanto, em indivíduos com cancro a fração não glicosilada é maior  $38.4 \pm 6.5$ , do que indivíduos com BPH  $14.2 \pm 4.3\%$ , isto significa que a PSA nestas duas patologias sofre modificações.

Estudos mais recentes concluíram que **indivíduos saudáveis** continham uma PSA com centros fucosilados em bi-antena, complexo do tipo N-glicano sialilado e com antenas Glc-N-Aciladas. Em **doentes com cancro na próstata** a configuração é um pouco diferente com um maior número de sucessivas sialilações  $\alpha 2- \alpha 3$  e um menor número de fucosilações. Este estudo permitiu definir uma “impressão digital” do cancro prostático. No passo seguinte deste estudo, fizeram-se reagir diversas purificações destes soros de antígenios de indivíduos com diferentes concentrações de diferentes lectinas. Este estudo concluiu que a *Maackia amurensis leukoagglutinin (MAA)* é específica para as ligações  $\alpha 2-3$  Acido Siálico (178) porque, como referido na tabela 6 e tabela 7, esta lectina tem mais afinidade para recetores do tipo  $\alpha 2-3$  Acido Siálico, já no estudo anterior, não é tão específica para a PSA, porque usou Con-A e não é tão específica pois pertence ao grupo I da especificidade ao hidrato de carbono tendo afinidade para a glucose e manose, como a PSA contem recetores fucosilado em indivíduos saudáveis e sialilados em pacientes com cancro, esta fração aparece aumentada em doentes com cancro prostático e concluiu-se que estas lectinas têm elevada capacidade de reconhecimento precoce de cancro prostático, bem como eliminar os falsos positivos decorrentes de uma hiperplasia benigna que aconteciam anteriormente.



**Figura 5. – Ensaio de Aglutinação para deteção de atividade de lectinas.**

(Adaptado de Santos e Colaboradores (73)).

### 7.2.2 Diagnóstico do Cancro da Tireoide.

O cancro da tireoide é um bom exemplo onde os estudos **citoquímicos** e **histoquímicos**, usando marcadores específicos para lectinas, podem ser aplicados no seu diagnóstico. Este é um tipo de cancro mais comum nas mulheres do que nos homens.

A avaliação histológica deste tipo de cancros é difícil, porque existem vários tipos de cancro da tireoide consoante o tipo de tecido onde se desenvolve, os mais comuns são o cancro papilar da tireoide (PTC) e o cancro folicular da tireoide (FTC), mas também existem; oncocíticos, medulares, anaplásicos, adenomas foliculares e bócio folicular e parenquimatoso benigno, uma vez mais, distinguir entre um tumor benigno ou maligno é extremamente difícil.

A anormal glicosilação e sialilação da célula está associada a neoplasia neste tipo de cancros, principalmente na sua sialilação ao nível dos glicanos terminais. Babál e Colaboradores (2006), (158), testaram amostras de todos os tipos de cancros da tireoide (7 tipos) e foram usados 3 tipos de lectinas, a *Trichomonas mobilensis* (TML) (reconhecedor de ácidos siálicos sem um sitio de ligação específico), *Sambucus nigra agglutinin* (SNA) (liga-se preferencialmente a  $\alpha$ -2,6 ácido siálicos) e *Maackia amurensis leukoagglutinin* (MAL) (liga-se preferencialmente a  $\alpha$ -2,3 ácido siálicos). A figura 6 ilustra o método usado. Depois das amostras serem lavadas com tampão fisiológico e soluções para retirar interferentes e eliminar a atividade do peróxido de hidrogénio, as lectinas referidas são previamente biotiniladas (adicionado uma molécula de biotina), são incubadas juntamente com um complexo Estreptavidina - Peroxidase.

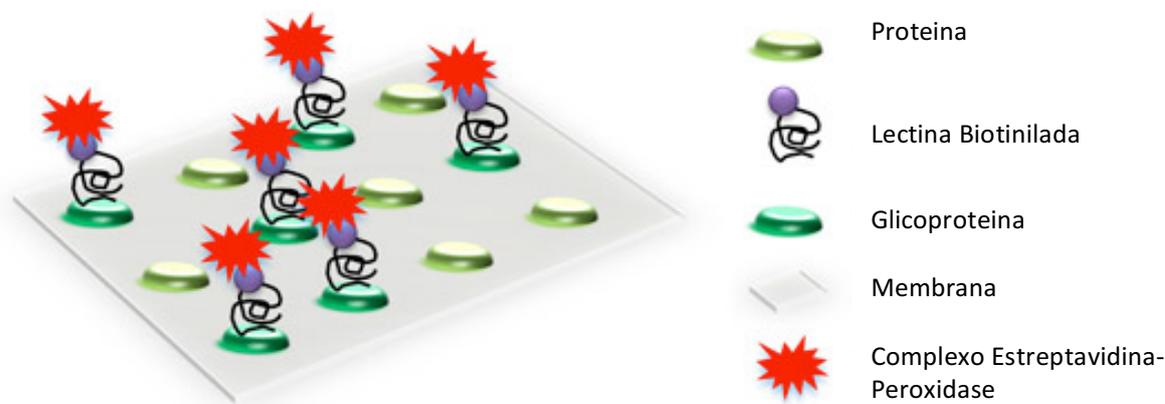
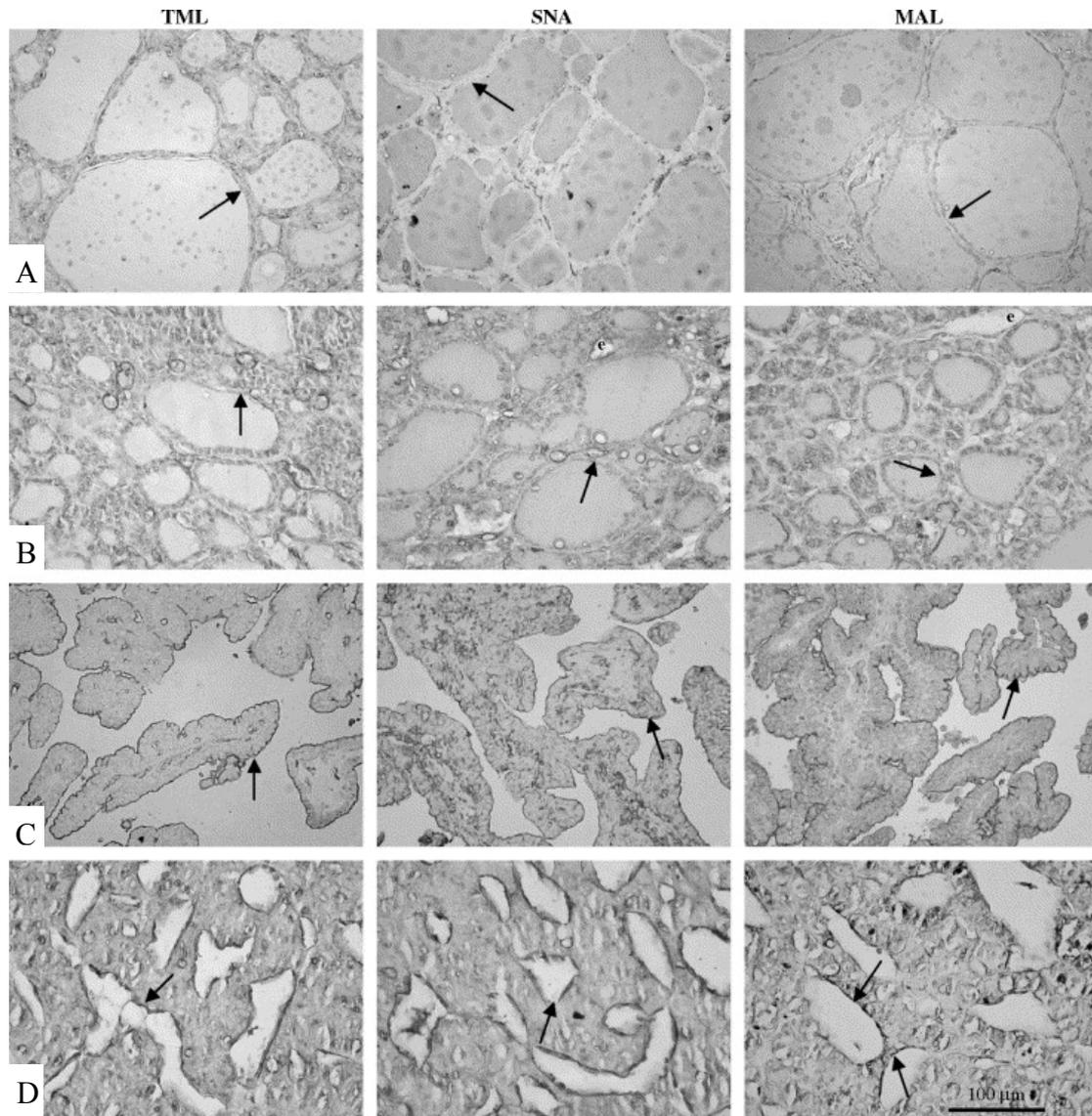


Figura 6. – Ensaio citoquímico e histoquímico para marcação de tecidos usando lectinas marcadas com biotina (179).

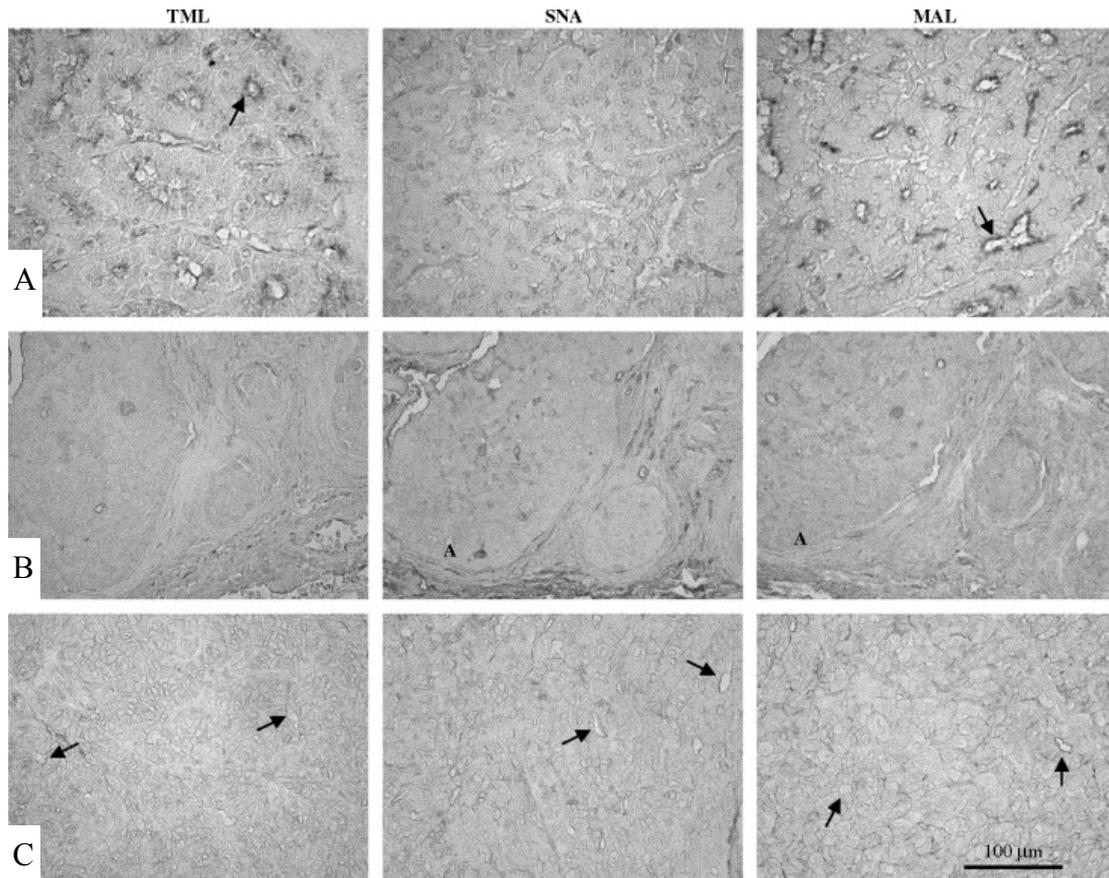
Quantifica-se posteriormente a atividade da peroxidase, por revelação com com a Diaminobenzidina e contrastada usando Hematoxilina.

A Figura 7 e 8 exhibe, para diferentes tecidos da tireoide, os resultados obtidos.



**Figura 7. – Marcação do ácido siálico na glândula tireoideia normal e neoplásica.** O tecido da glândula tiroideia normal (a) e adenoma folicular (b) mostrou sinais fracos e inconsistente do ácido siálico na membrana (seta), o epitélio neoplásico do carcinoma papilar (c), apresenta-se fortemente marcado pela MAL (seta), no carcinoma folicular (d), foi observados alguns sinais positivos. O endotélio vascular apresenta-se marcado pela letra (e) Ampliação original de 100 ×. Barra de escala = 100 µm (158).

(Adaptado de Babál e colaboradores, 2006)



**Figura 8.** – Marcação do ácido siálico na neoplasia da glândula tireóidea. O carcinoma oncocítico (a) mostrou alguns sinais positivos para ligação de TML e MAL (seta). As células neoplásicas no carcinoma medular (b) apresentaram resultados inconsistentes na membrana com as três lectinas. No carcinoma anaplásico (c), os resultados também foram inconsistentes. O endotélio vascular apresenta-se marcado pela letra (e) Ampliação original de 100 ×. Barra de escala = 100 μm (158).

(Adaptado de Babál e colaboradores, 2006)

Estes resultados permitem concluir que este método é de extrema utilidade para identificar dois dos tipos de cancro na tireoide, o **carcinoma folicular** e **papilar** e permite também perceber que a sialilação que ocorre é **do tipo  $\alpha$ -2,3**, uma vez que a ligação mais consistente acontece com a **lectina MAL**.

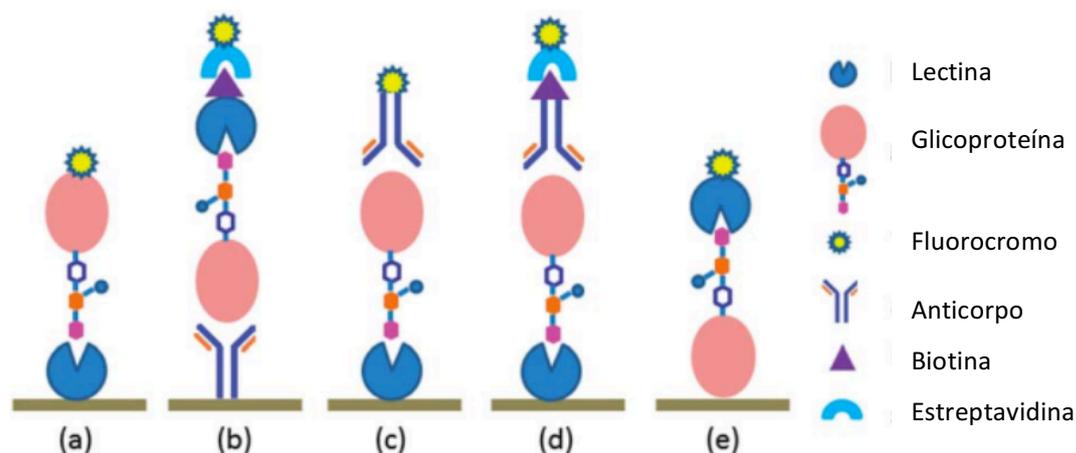
### 7.2.3 Algumas lectinas e respetivas afinidades

Lectinas de plantas como a Con-A e a UEA-1 são muito importantes porque têm especificidades  $\alpha$ -Man >  $\alpha$ -Glc > GlcNAc e  $\alpha$ 1-6 Fucose respetivamente, como referido na tabela. 7. Estas lectinas foram estudadas mediante ensaios citoquímicos e histoquímicos, e conclui-se que podem ser usadas para determinar os glicanos específicos de determinadas patologias, podendo usar-se estes glicanos como biomarcadores para diagnóstico de cancros do pâncreas, glândula parótida e carcinoma muco epidérmico.

### 7.2.4 Lectinas e Microarrays

Uma vez que existem diversas fontes de lectinas na natureza e o Homem desenvolveu a capacidade de produzir lectinas através de tecnologia recombinante (45), foram precisos desenvolver ensaios cuja robustez e a rapidez permitissem estudar uma vasta gama de lectinas no reconhecimento ao hidrato de carbono no curto espaço de tempo possível. Ensaios, como os microarrays, permitem responder a esta exigência.

A figura 9 esquematiza os diferentes tipos de ensaios com microarrays, envolvendo lectinas



**Figura 9. – Diferentes tipos de microarrays de lectinas.** (a) Lectina Imobilizada ligada a glicoproteína marcada, (b) imobilização de anticorpo, matriz de sanduíche com glicoproteína e sobreposição de lectina, (c) técnica invertida (d) imobilização de lectina, matriz de sanduíche com glicoproteína e sobreposição de anticorpo biotinado (e) matriz de glicoproteína-lectina (180).

Na tabela 8, estão referidos alguns ensaios como o **ELLA**, este ensaio está esquematizado na figura 9 (e), onde se pode imobilizar qualquer tipo de glicanos, de lisados de células, de tecidos ou de soros, as possibilidades são virtualmente infinitas e permite o estudo acelerado de biomarcadores e a sua afinidade para com diversas lectinas. Este teste tem vantagens como o fato de não necessitar de um marcador específico para a nossa glicoproteína imóvel, no entanto tem desvantagens como o fato de se existir altas concentrações da glicoproteína num mesmo espaço pode levar a interações indesejadas.

### 7.2.5 Lectinas, Microarrays e Cancro do Pâncreas

Outro teste referido na tabela é o (ALSA) – **Antibody-Lectin Sandwich Array**, esquematizado na figura 9 (b), tendo sido desenvolvido por Haab e colaboradores (181), sendo aplicado para a análise de soro pancreático de indivíduos com cancro, nomeadamente analisando o antigénio de carcinoma embrionário, (CEA) e também a mucina epitelial polimórfica (MUC1), usando diferentes lectinas, para assim perceber qual a melhor afinidade possível. Este teste permite a remoção de interferentes como outras lectinas.

A amostra pode ser inserida na placa quase sem tratamento prévio, porque contem anticorpo imobilizados específicos, e posteriormente faz-se a “revelação”, à semelhança dos ensaios citoquímicos e histoquímicos, usando a biotina que se vai ligar à estreptavidina, sendo este o agente “revelador”, ao emitir uma fluorescência que é quantificável.

### 7.2.6 Lectinas, Microarrays e Outros Cancros

Estes ensaios foram alargados a outro tipo de soros e permitiram identificar outro tipo de biomarcadores, como o caso do **cancer antigen CA125**, presente **na MUC16**, este antígeno é encontrado no cancro dos ovários. As concentrações aumentadas de CA125 são encontradas em **50% dos pacientes com cancro do ovário em estágio I e em 25%** das amostras de soro colhidas 5 anos antes do diagnóstico de cancro nos ovário (186, 115). Outros tipos de marcadores para outro tipo de cancros foram estudados e 12 obtiveram aprovação pela Food and Drug Administration (FDA), sendo 9 glicoproteínas. A Tabela 9, abaixo, evidência estes dados:

**Tabela. 9** Tipos de biomarcadores e glicomas alvo

<b>Cancro</b>	<b>Glicoma alvo</b>	<b>Biomarcadores aprovados pela FDA</b>	<b>Lectina</b>	<b>Referência:</b>
Fígado	Fucosilação proximal	$\alpha$ -fetoprotein (AFP)	LCA	(183)
Ovário	Antígenos no grupo sanguíneo	CA 125 e HE4	GSA	(184)
Tiroide	Galactosilação Terminal	Tg	WFA	(185)
Próstata	Sialilação Terminal	PSA	WGA	(186)
Colorretal	Antígenos no grupo sanguíneo	CEA	AHA	(187)
Mama	Fucosilação proximal	HER2/Ac	UEA 1	(188)
Não Específicos	Sialilação Terminal	CA15.3/CA27.29	MAA/MAL	(189)

(Adaptado de Badr e colaboradores (134)).

Outros ainda carecem de especificidade, no entanto são importantes referir:

**Tabela. 10** Lista de lectinas estudadas

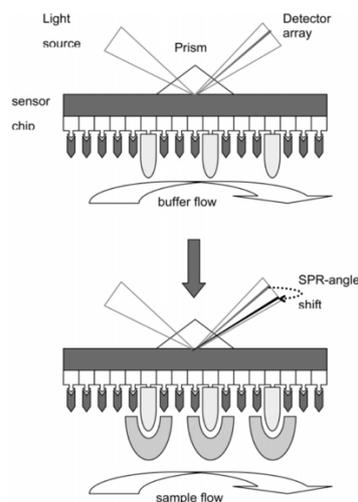
Lectina	Alvo Tumoral
Concanavalina A (Con-A)	Cancro Pancreático, Carcinoma mucoepitelial na glândula parótida, Meningioma,
Ulex europeus (UEA 1)	Cancro Pancreático, Carcinoma mucoepitelial na glândula parótida, Meningioma
Peanut agglutinin (PNA)	Meningioma
Dolichos biflorus (DBA)	Meningioma
P. pendula lectin (PpeL)	Meningioma
Lectinas “Mistletoe “	Células do Hepatocarcinoma, Células do cancro da mama, Células Linfoblásticas NALM-6 em Leucemia Aguda, Células mononuclear no sangue periférico
Concanavalina A (ConA) 33-40	Células do Melanoma A375 e B16, Fibroblastos 3T3, Células Cancerígenas no Colorrectal

(Adaptado de Tammy Yau e colaboradores (190)).

## 7.3 Biossensores

### 7.3.1 Ensaio de Ressonância de Plasma de Superfície, (SPR)

O ensaio de ressonância de plasma de superfície, (SPR) é usado recentemente para avaliar e quantificar interações entre biomoléculas. O princípio deste método usa a refração para avaliar estas propriedades (figura 10).



**Figura 10.** – As lectinas encontram-se imobilizadas na zona “chip”, a ligação de hidratos de carbono, em solução, provoca uma variação na refração da luz (SPR-angle) que é indicadora de interação e ligação específica.

### 7.3.2 Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIS)

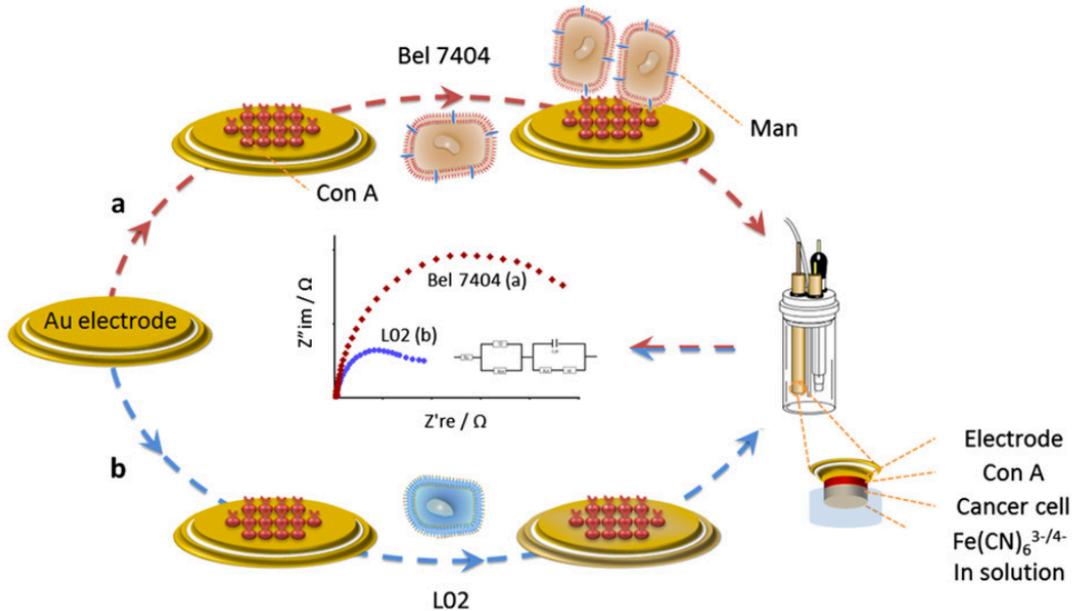


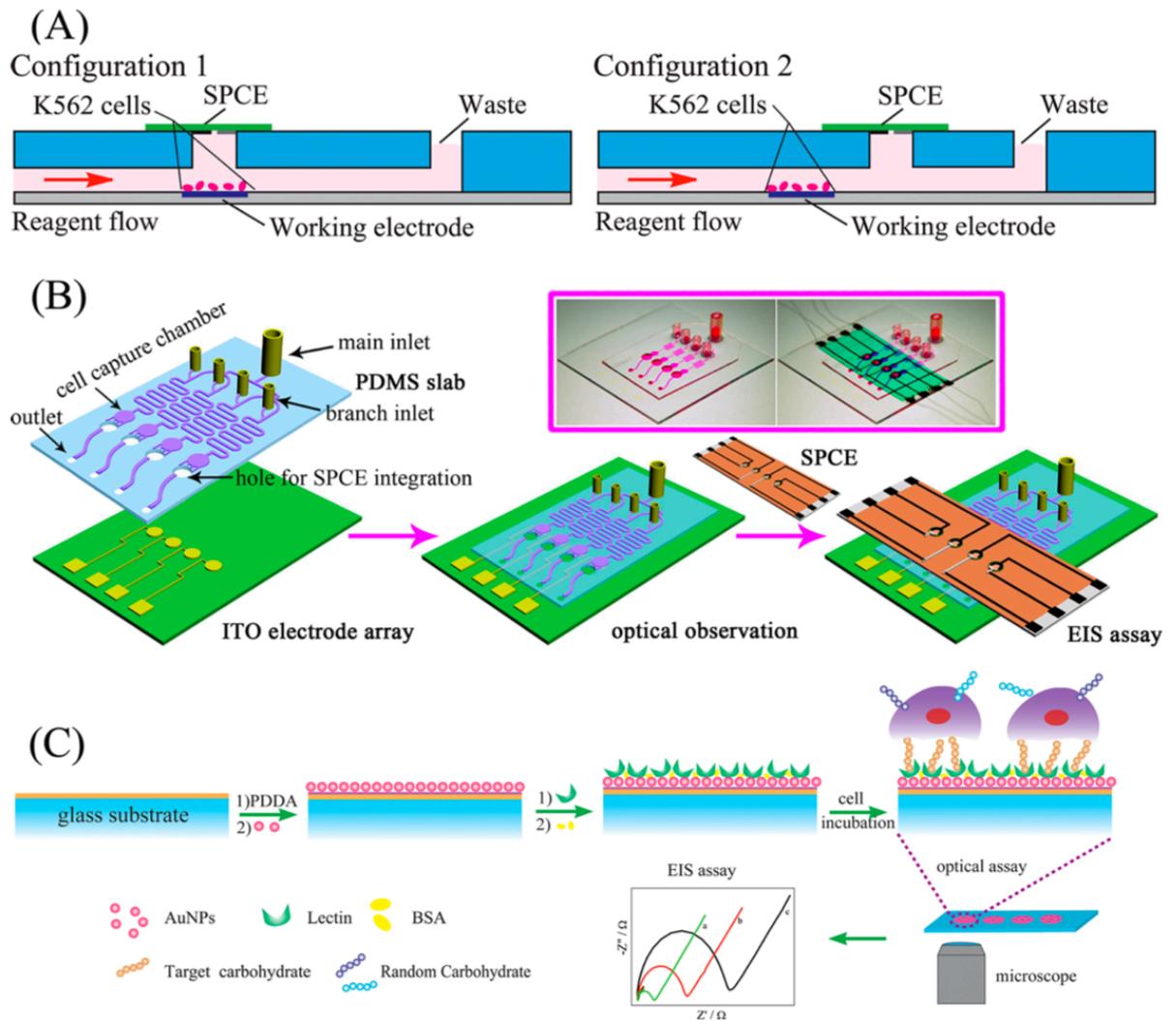
Figura 11. – Ilustração da Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIS)

Conforme indicado na figura 11, os elétrodos foram pré-tratados, posteriormente foi imobilizado Con-A nos elétrodos para fabricar o sensor Con-A. Este sensor foi incubado com a amostra de células cancerígenas (a) e a ligação de células cancerosas com Con-A resultou em uma alteração da resistência à transferência de carga ( $R_{ct}$ ). O ensaio (b) é o nosso controle, em que em vez de células cancerígenas, foram usadas células normais, neste caso de fígado (175).

O sinal medido neste diagnóstico é a impedância, que traduz uma medida da resistência da passagem da corrente elétrica comparativamente à condução de corrente em células normais ligadas à Con-A. Este método revela dados como a concentração de células cancerígenas na amostra com uma boa sensibilidade e seletividade evitando a pré-marcação da nossa amostra (figura 11).

Posteriormente, este método foi aperfeiçoado e foi criado um microcircuito onde pode ser feita a quantificação de células cancerígenas pelo método (EIS), bem como a sua observação através de microscopia ótica (176), denominado **Plataforma Microfluidica de Avaliação**

No branch inlet são adicionadas as lectinas que queremos estudar, podem ser as mesmas e temos um ensaio mais fidedigno, ou podem ser lectinas diferentes. Estas vão migrar até à camara de captura de células e vão se fixar ao substrato previamente adicionado de nano particular de ouro (AuNP), este foi o material escolhido porque favorece a observação ao microscópio. Após a fixação das lectinas e posterior lavagem, é adicionado no main inlet as células que queremos estudar, e o microcircuito é fechado com um chip de leitura de EIS. A corrente elétrica que passa desde o circuito ITO passa para a placa de EIS e é lida a impedância, o circuito ITO serve para ler a impedância, mas também para se fazer observações ao microscópio, como demonstrado na figura 12, permitindo que estes dois estudos sejam feitos em simultâneo.



**Figura 12. – Ilustração da Plataforma Microfluidica de Avaliação.** Branch Inlet – inserção de lectinas. Main Inlet – Inserção das células a estudar ITO – circuito para passagem de corrente. SPCE - screen-printed carbon electrodes, local de análise de EIS. ITO- Oxido de Índio e Estanho

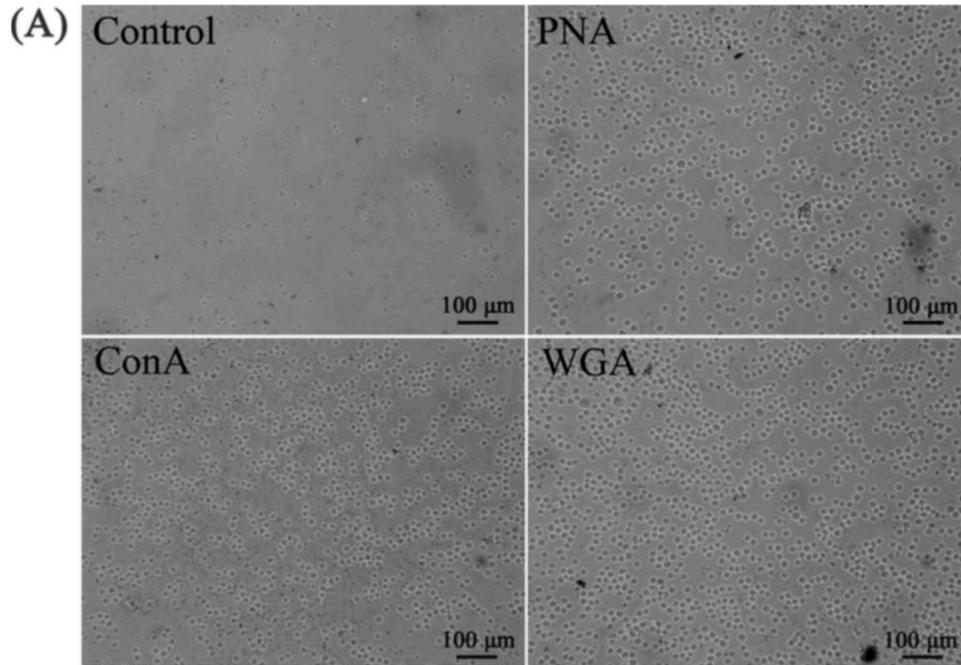


Figura 13. – Resultados da observação ótica. Podemos observar a ligação das várias lectinas às células cancerígenas K562 – leucemia mieloide crônica

Este método trás robustez ao nosso resultado, isto porque a taxa de variação entre o método ótico e eletroquímico é muito baixa, aumentando assim a rapidez no estudo de diversas lectinas e de diversos hidratos de carbono (figura 14).

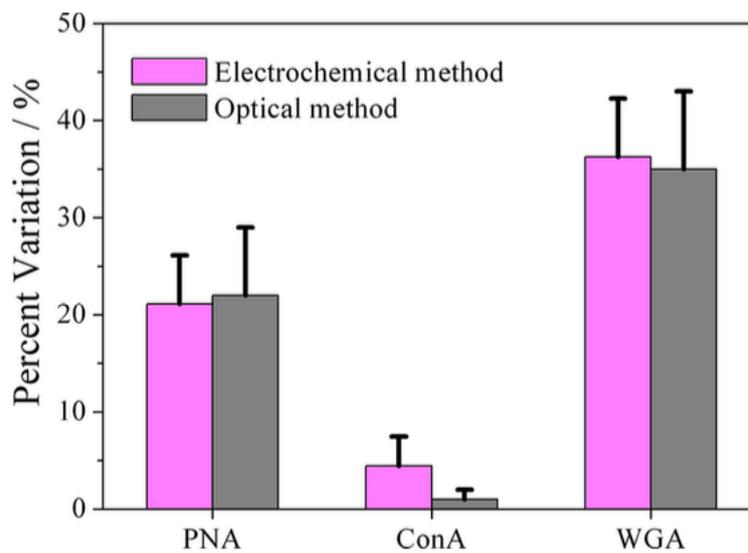


Figura 14. – Taxa de variação dos dois métodos (ótico e impedância) usados em simultâneo.

## 8 Lectinas endógenas na compreensão do Cancro.

As galectinas são classe de lectinas abundante no corpo humano. Este tipo de lectinas, ligadoras de  $\beta$ -galactosidos, estão envolvidas numa grande variedade de patologias tão diferentes como HIV, Inflamação Crónica, Alergias e Cancro.

**Tabela. 11 Galectinas, Função biológica e patologia relacionada.**

Lectina	Fonte	Função	Implicação na Doença
Galectina1	Linfócitos T helper no timo, Musculo, Neurónios e Rim	Supressão de recetores de ativação de células B Ativa apoptose em células T	HIV Cancro
Galectina2	Trato Gastrointestinal	Induz apoptose em células T	Não encontrada
Galectina3	Distribuição abundante no corpo	Propriedades Pro ou Anti apoptótica Regula genes como JNK1 Regula propriedades adesivas da células	Regulação e sobre-expressão em alguns cancros – aumento do potencial metastático
Galectina4	Intestino e Estomago	Afinidade para membranas celulares mais lipídicas – envolvida na ligação de proteínas à célula	Doença Inflamória Intestinal
Galectina7	Epitélio estratificado	Diferenciação de queratinócitos Pensa-se que tem um papel importante na apoptose e reparação na célula via p53 (191).	Implicada em alguns cancros
Galectina8	Distribuição abundante no corpo	Ligação a integrinas na matrix extracelular	Regulação de alguns cancros
Galectina9	Rim, Timo, Fluido Sinovial	Induz apoptose nos timocitos e células Th1	Artrite Reumatóide
Galectina10	Eosinófilos e Basófilos	Supressão da proliferação em células T	Não encontrada
Galectina12	Tecido adiposo	Estimula a apoptose de adipócitos	Não encontrada
Galectina13	Placenta	Propriedade de Lisofosfolipase	Não encontrada

## 8.1 Galectinas

Relativamente aos tumores oncológicos, a galectina mais estudada é a **Galectina-3** por ter um papel muito importante na génese do tumor, nomeadamente na transformação do tumor numa forma maligna e no aumento da metástase e consequente aumento da evasão do tumor para zonas adjacentes(192).

As **Galectinas do tipo 1** ligam-se a N- ou O-glicanos em recetores específicos como CD7, CD43 e CD45, existente em células T e em alguns tipos de tímócitos, promovendo a sua apoptose, isto demonstra que níveis elevados destas proteínas ligadoras a  $\beta$ -galactósidos podem indicar que estamos na presença de cancro.

**Galectina-3** têm um papel importante na metástase porque estão envolvida na oncogénese por interação com proteínas responsáveis pelo ciclo celular como a ciclina E (envolvida na fase S e G1). Uma desregulação na ciclina E e/ou formação de isoformas desta molécula causa cerca de 20% dos cancros da mama. Uma sobre expressão desta molécula está associada a formação de vários tumores ao longo do tracto gastrointestinal, entre os vários tipos de cancro, o cancro do colon e do estômago parecem ser os mais influenciados pela **ciclina D-3**, porque 60% dos indivíduos com adenomas gástricos têm níveis de ciclina D-3 aumentado(193).

Evidências de uma aumento na expressão de ciclina-3 e um prognóstico desfavorável para o doente com cancro do pulmão foi também descrito por Huang (194).

Outra classe de moléculas muito importante e que é influenciada pela presença de **Galectina-3** são as **c-myc** (molécula factor de transcrição), na função varia desde a proliferação celular, bem como apoptose, sendo um fator muito importante na renovação celular. Um aumento da expressão desta proteína promovidas pela galectina-3, induz à expressão do gene MTDH, que associado ao oncogene AEG-1, desempenha um papel importante na formação de **melanomas, gliomas**, cancro da mama ou carcinomas hepatocelulares (195).

A lectina **Galectina-3** ativa uma cascata reacional que vai ativar as proteínas Ras da célula, estas vão promover a proliferação celular (192).

Está demonstrado que as galectinas-3 intracelulares interagem com Factor de Transcrição Especifico da Tiróide, TTF-1, promovendo a proliferação de células da tiroide e levando ao crescimento deste tumor (196).

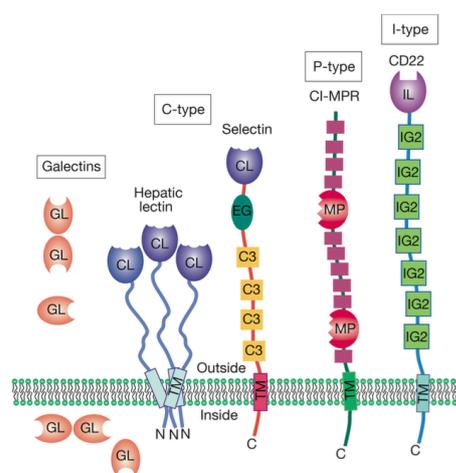
**Galectinas-3 extracelulares** se se ligarem aos recetores CD29 e CD7 das células T podem desencadear sinalização mediada pela mitocôndria o que vai conduzir à sua morte programada, isto favorece o desenvolvimento do tumor, devido à morte de células do sistema imunitário do indivíduo (196).

Este tipo de lectinas também aumenta a capacidade adesiva e evasiva das células tumorais quando á superfície destas células a quantidade de mucina epitelial polimórfica está aumentada (MUC1), algo que na célula normal não acontece. Este aumentado está relacionado ao próprio prognóstico de cancro no indivíduo. As MUC-1 são mucinas de grandes dimensões com terminações hidrocarbonadas em galactose ou acido siálico, onde se vão ligar as galectinas-3. Em células normais a MUC-1 tem uma polarização diferente e age como barreira protetora da célula, reduzindo interações entre células adjacentes na célula. Nas células tumorais mamárias, como existe uma grande afinidade para as MUC-1 e estas mucinas estão presentes em muito maior quantidade, ocorre uma despolarização na célula e o efeito protetivo cessa, isto implica uma maior adesão a células adjacentes, conjuntamente com as interações associadas ás selectinas-E, vão deste modo aumentar a capacidade evasiva do tumor e promover inclusivamente a sua expansão para outras partes do corpo através da corrente sanguínea (197). Prova disso disso são estudos que mostram que a sobre-expressão de MUC-1 não metastisa células tumorais no tecido mamário (provoca inclusivamente uma inibição do tumor), só quando no meio é adicionado galectina-3 é que as propriedades evasivas do tumor são manifestadas. Em teoria pode-se concluir que eliminando a concentração de galectina-3 no meio podemos influir menos carcinogénese no tumor e consequentemente um prognóstico mais favorável no tratamento do doente porque diminuimos a capacidade de metastização e evasão de alguns tipos de cancro (192).

De referir também o papel da **galectina-8**, também como mediadora da adesividade em células tumorais, uma vez que estas galectinas também aumentam a adesão tumoral promovida por integrinas, no caso do cancro do pulmão é promovida pela elevada expressão de integrina  $\alpha 3\beta 1$  à superfície da célula (198).

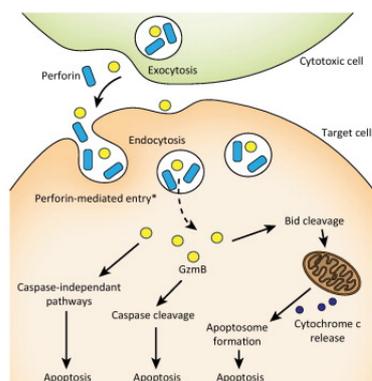
### 8.1.1 Lectinas do tipo-C

As lectinas do tipo C, são lectinas animais, assim denominadas por serem Cálcio dependentes.



**Figura 15. – Representação de lectinas tipo-C, tipo-P, tipo-I e Galectinas.** (Adaptado de Kumar e colaboradores, 2015 (199)).

As lectinas do tipo-C são conhecidas por estarem envolvidas na resposta imune, na proliferação celular e na morte celular programada. O único tipo de lectinas C mais importante na apoptose são os NK ou **natural killer cells**, se forem direcionados para as células do cancro alvo, podem **induzir apoptose via recetores de morte** como o TRAIL ou via granzima/perforina.



**Figura 16. – Via Granzima – Perforina.** (Adaptado de Kumar e colaboradores, 2015 (199).

## 8.2 Galectinas vs Cancro

Algumas galectinas têm um papel importante na evolução do carcinoma e no prognóstico desfavorável da patologia, no entanto outras lectinas têm um papel inverso, por exemplo as galectinas-3 nucleares promovem a apoptose em células do cancro da próstata (200).

Como referido anteriormente, a inibição de determinadas galectina é uma estratégia muito importante no combate ao cancro.

### 8.2.1 Cancro da Próstata

A supressão de galectina-3 usando pequenos fragmentos de RNA (siRNA) ou outro tipo de antagonistas como um tipo de pectina cítrica modificada (MCP), denominada GCS-100, este mecanismo usado concomitantemente com um potente citotóxico como a cisplatina e com ativação da calpaina (protéase envolvida tanto em processos de apoptose com de necrose), isto ativa com sucesso a apoptose das células cancerígenas PC3 da próstata (201).

### 8.2.2 Cancro da Mama

Existe evidência de que em tipos agressivos de cancro da mama, nomeadamente em células do tipo BT474, SKBR3, as galectinas inibem as Fosfoinositídeo 3-quinase (PI-3K) do tipo 1A e 1B, isto diminui o mecanismos de sobrevivência da célula e como tal aumento da apoptose nestas células cancerígenas (202).

### 8.2.3 Adesão tumoral

A adesão celular depende das interações entre proteínas e hidratos de carbono, a galectina-8 liga-se a integrinas e esta tem sido apontada como a causa da capacidade reguladora da adesão celular e apoptose das galectina-8, afetando negativamente a capacidade adesiva das células cancerígenas 1299 e também induzem apoptose celular via p53 (203).

## 9 Lectinas, nova abordagem para o Tratamento

O paradigma no tratamento do cancro até aos dias de hoje tem sido o uso de fármacos tóxicos, afetando a replicação e conseqüentemente o crescimento do tumor através de mecanismos pouco seletivos que comprometem estruturas essenciais à vida como o DNA ou vias metabólicas. Deste modo, a investigação que está agora a dar os primeiros frutos, dá conta de novas abordagens menos tóxicas, mas mais seletivas para a célula tumoral.

Segundo Yau e colaboradores, em “Lectins with Potencial for Anti-Cancer Therapy” (190), as lectinas partilham propriedades interessantes do ponto de vista tanto na indução de apoptose, necroapoptose, como autofagia em células tumorais específicas. Assim, a purificação de lectinas, a partir de várias fontes, principalmente de plantas, podem ser uma excelente alternativa à terapêutica tumora, pelo facto que muitas lectinas existam como descrito anteriormente, propriedades antitumorais.

### 9.1 Apoptose

A apoptose é um mecanismo de defesa da célula, cujo propósito é remover células que estão comprometidas quanto à sua utilidade e/ou são perigosas para a sobrevivência do organismo. Este mecanismo ocorre geralmente através de duas vias principais:

Caminho dos **recetores de morte** desencadeados pela Fas ou outra ligação ao recetor de membrana plasmática ou a **via dependente de mitocôndrias** que liberta o citocromo c (204).

A ativação de recetores de morte na superfície celular também chamada de via extrínseca induz a via do recetor da morte, pela ligação a ligandos específicos, incluindo TNF, TRAIL ou FasL. Após esses domínios intracelulares dos recetores interagem com o domínio da morte associado a Fas, resulta a montagem de um complexo de sinalização indutor da morte e o recrutamento de iniciadores como a caspase-8 / caspase-10 (205).

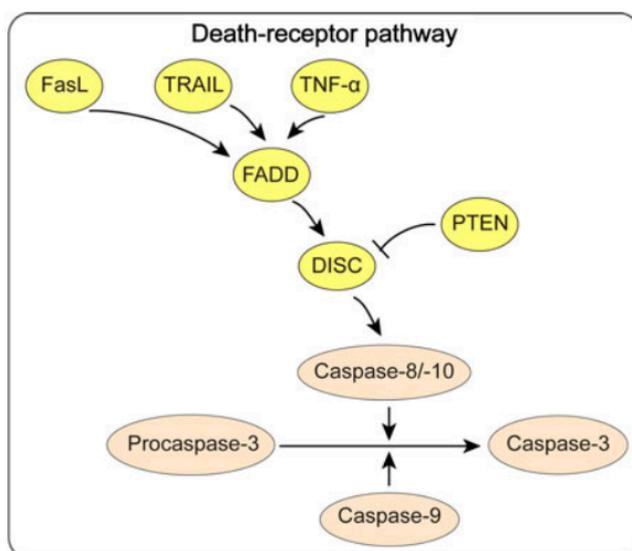


Figura 17. – Indução de sinalização dos recetores de morte, via extrínseca por lectinas.

(Adaptado de Fu e Colaboradores, 2011 (32)).

A **via mitocondrial** também conhecida como **via intrínseca**, é controlada pela família de proteínas Bcl-2, incluindo as proteínas BH3, Bad, Bik, Bid, Bim, PUMA e NOXA. Estas proteínas, regulam a proteínas pró-apoptótica p53, esta vai regular a permeabilidade da membrana mitocondrial, liberando proteínas mitocondriais específicas, como citocromo c, no citoplasma da célula (206), (207).

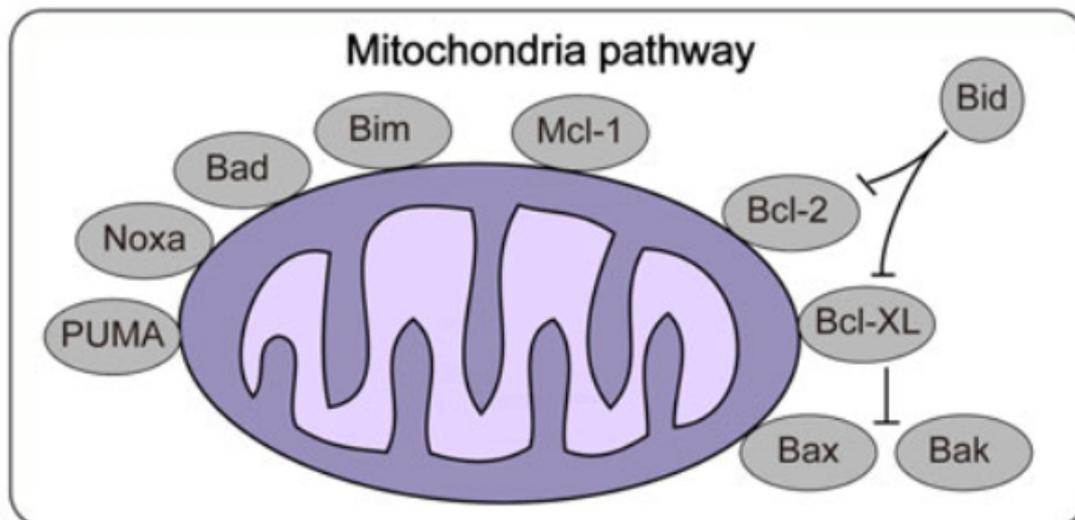


Figura 18. – Via intrínseca de sinalização mitocondrial.

(Adaptado de Fu e colaboradores, 2011 (32)).

A compreensão destes mecanismos e o papel das lectinas na indução dos mesmos, provocando apoptose é uma das estratégias mais estudada para o combate ao cancro.

## 9.2 Autofagia

A autofagia, como a apoptose, é um mecanismo de morte celular promovido pela célula quando esta está comprometida e que ajuda à sobrevivência do organismo onde esta está inserida. Diferente da apoptose, a autofagia envolve um processo catabólico celular de degradação de componentes promovido em vários passos por lisossomas.

Quando a célula sofre muito stress ou mutações nocivas, estes lisossomas degradam proteínas importantes na célula, bem como organelos em 5 passos: indução ou iniciação, nucleação da vesícula, alongamento e finalização da vesícula, docking e fusão e finalmente degradação e reciclagem, (231).

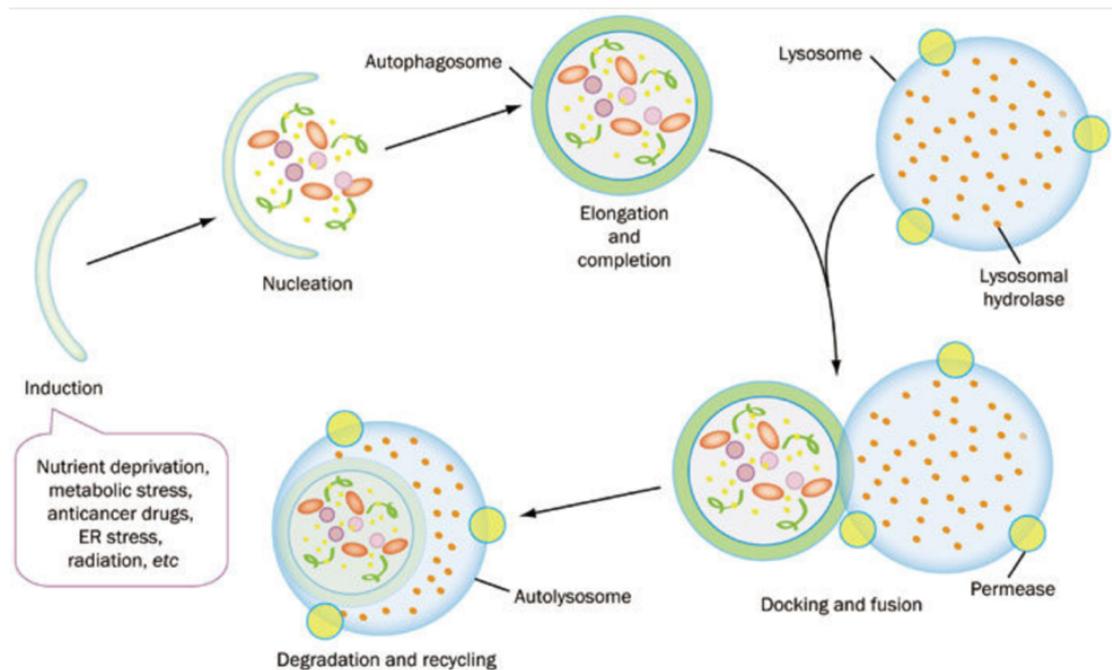


Figura 2. – Etapas da Autofagia. (Adaptado de Yau e colaboradores, 2015 (190)).

A indução de autofagia é iniciada pelo complexo ULK composto por ULK1/2, mAtg13, uma proteína de interação da família das cinases de adesão focal de 200 kDa (FIP200) e ATG101, esta iniciação não acontece se a molécula mAtg13 for inibida, o que pode através da rapamicina (mTORC1) (232).

No segundo passo, as proteínas e os lipídios são recrutados para a construção da membrana fagossomática, sendo esta estrutura induzida pela ativação do complexo PI3K de classe III/Beclin-1 (233). Numerosos parceiros de ligação desta função complexa atuam como reguladores positivos, como o Bif-1, Atg14L, UVRAG ou Ambra1, ou negativos como o Rubicon (234).

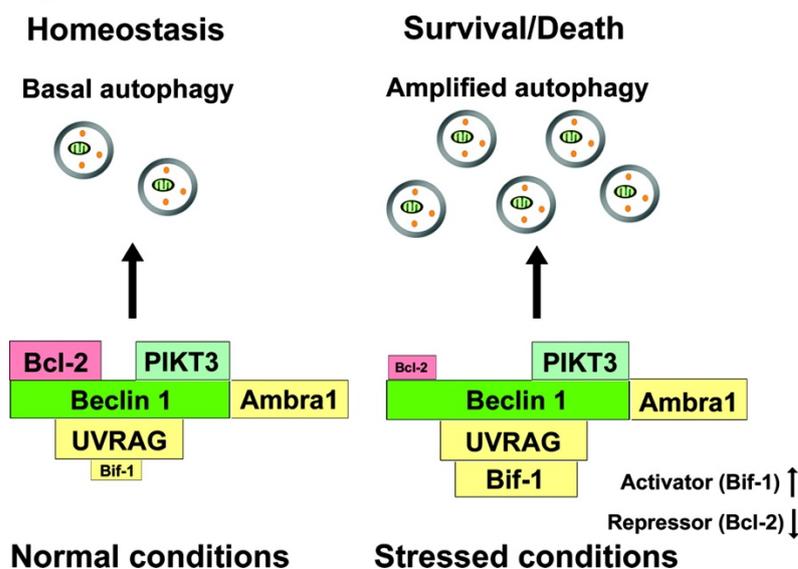
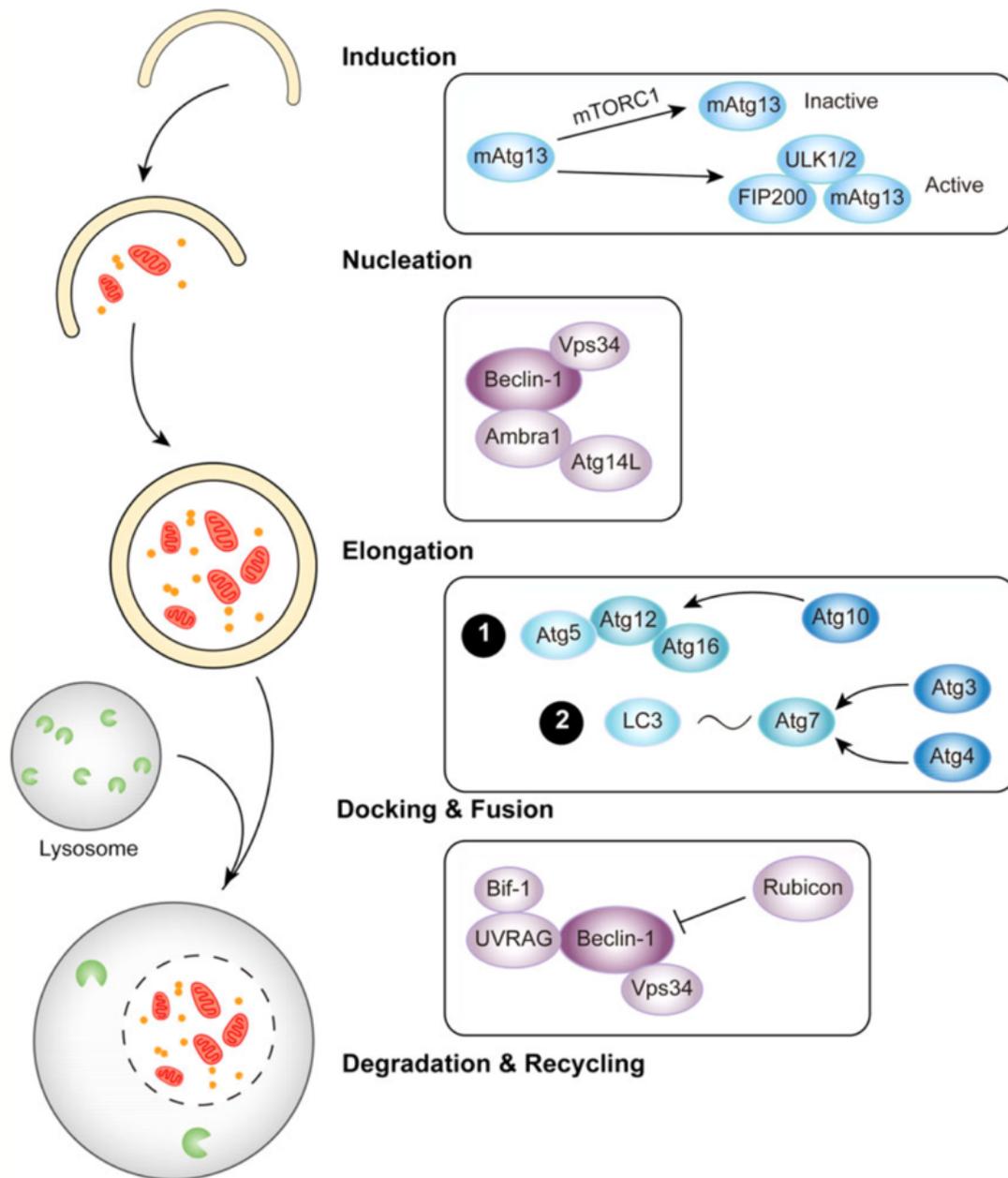


Figura 3. – Reguladores positivos da autofagia em condições normais e de stress (semelhantes ou cancro). (Adaptado de Yau e colaboradores, 2015 (190)).

No alongamento e na finalização das vesículas, podem ocorrer dois sistemas únicos de conjugação semelhantes a ubiquitina. O primeiro caminho envolve a conjugação covalente de ATG12 com ATG5 numa reação que requer ATG7 e ATG10, respetivamente, enquanto a outra ocorre por meio da ativação de LC3 / ATG4. Por ultimo no docking e fusão do autofagossoma com o lisossoma, levando à quebra de conteúdo autofagossomático (235).



**Figura 4. – Mecanismo de autofagia no cancro.**  
(Adaptado de Yau e colaboradores, 2015 (190))



#### 9.4 Ricina (RCA)

A lectina ricina (RCA) é uma proteína presente nas sementes do ricino, considerada uma das mais potentes toxinas de origem vegetal. Apresenta dois heterodímeros e foi a primeira lectina descoberta devido às suas propriedades aglutinantes. Estes dois dímeros distintos são compostos por duas cadeias de polipeptídeos N-glicosiladas (cadeia A e cadeia B) unidos por uma ligação dissulfureto (211). A Cadeia A desempenha o papel de uma enzima que inibe irreversivelmente as subunidades ribossômicas 60S de mamíferos, tornando-as incapazes de se ligar ao GTP-fator de alongamento de tradução de ligação (EF-2), o que, em última instância, evita a síntese proteica (211, 212, 213).

A cadeia B desempenha principalmente o papel de um ligando alvo, reconhecendo especificamente os resíduos de galactosil na superfície celular, nomeadamente às ligações  $\beta$ 1-4, causando endocitose (215), após o qual se liberta a subunidade A que é ribotóxica.

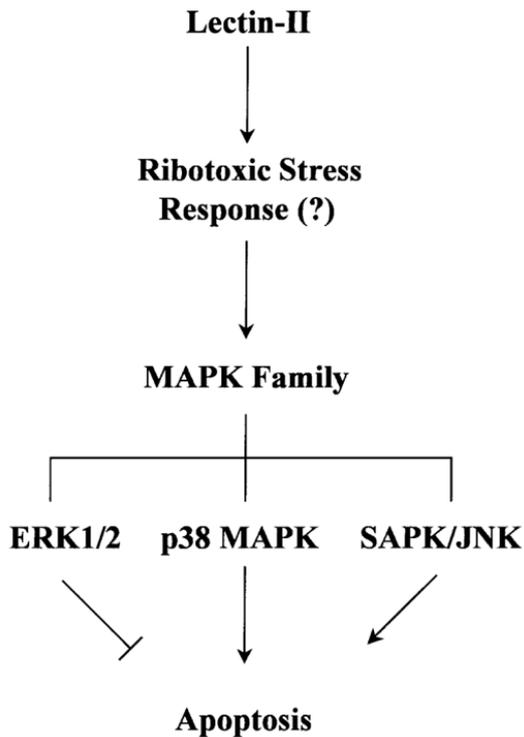
RCA é uma Rip (inibidora de ribossomas) e induz a morte de células tumorais por apoptose via ativação de caspase-3 e fragmentação de DNA, (216). Esta aglutinina tem potencial para matar seletivamente as células tumorais de leucemia (K562) e cancro de cólon (SW480) (217)

#### 9.5 Mistletoe Lectin (ML) ou Lectinas de Visco (*Viscum Album*)

O Mistletoe Lectin ou Lectina de Visco é extraído de uma planta do mesmo nome, esta lectina pertence ao grupo de proteínas inibidoras de ribossomas do tipo II (RIP's II), existem 3 formas de ML's; ML-I, ML-II e ML-III. Estas famílias de proteínas têm uma estrutura semelhante à da Ricina, com dois heterodímeros, cadeia A e B, A cadeia A inibe a síntese proteica intracelular bloqueando o passo de alongamento da biossíntese de proteínas através da hidrólise catalítica da ligação N-glicosídea na adenina-4324 no ARN 28S do ribossoma 60S (218). A Cadeia B é responsável pela atividade imunomoduladora da (ML), aumentando a secreção de citocinas e da atividade de células natural killer (NK) (219). Destas famílias, as duas primeiras, ML-I e ML-II têm maiores propriedades anti proliferativas e indutoras de apoptose.

A ML-I é a Lectina Mistletoe mais estudada, induz a apoptose ativando a caspase-8 através da via apoptótica extrínseca e cooperando com a TNF- $\alpha$  dos recetores de morte da família TNF através da regulação negativa de proteínas favorecedoras de sobrevivência celular, Bcl-2, (220), (221). O ML-I também pode ativar a caspase-3, induzindo a apoptose através da via dependente do fator-1 associado à apoptose, ou Apoptosis-Associated Factor-1 (Apaf-1), nas células de adenocarcinoma humano mutado com p53 (221). Uma vez que ML-I altera os níveis do potencial mitocondrial da membrana (MMP), este vai causar a libertação de cyto C e aumentando as espécies reativas de oxigênio (ROS), nas células Hep3B do carcinoma hepatocelular (222).

A ML-II induz apoptose ativando vias de sinalização envolvidas em SAPK / JNK e p38, ou inibindo a via ERK1/2, em células de leucemia monoblástica humana U937



**Figura 23. – Vias de sinalização apoptótica promovida pela ML-II.**

(Adaptado de Yau e colaboradores, 2015 (190).

Em estudos clínicos, a ML-I é já amplamente usada como adjuvante em tratamentos para reduzir os efeitos secundários durante quimioterapia e radioterapia com bons resultados (223). Estudos recentes testaram a eficácia de ML's como tratamento primário ou pós-cirúrgico em cânceros de alto risco, encontrando-se este procedimentos em fase clínica, em estágios II e III porque está comprovado que a longo prazo são seguras e que não contribuem para o agravamento do tumor (223).

Recentemente descobriu-se que a ML pode induzir apoptose aumentando a expressão de mTORC1, PI3KCIII, Beclin-1, ATG12 e ativando a LC3 (importante na etapa de alongação da autofagia (238).

### **9.6 *Polygonatum cyrtonema* (PCL)**

A lectina de *Polygonatum cyrtonema* (PCL) pertencente à família Galanthus nivalis agglutinin (GNA) uma lectina de manose/ácido siálico. Esta lectina induz a apoptose em células A375 de melanoma, cujo mecanismo envolve a regulação das proteínas Bax, Bcl-XL e Bcl-2, bem como o colapso potencial mitocondrial da membrana (MMP), levando à liberação de citocinas e ativação de caspases (208). A PCL tem atividades antiproliferativas e indutoras de apoptose em células HeLa no cancro cervical, sendo pouco tóxico para células normais e induz apoptose celular no cancro da mama em células MCF-7 via ativação de caspases (224). A PCL também induz apoptose acompanhada de ativação de caspases-3 / -8 / -9 em células L929 de fibrossarcoma, através de um mecanismo apoptótico **caspase dependente**(225).

A PCL induz autofagia em células de melanoma A375, essa indução é mediada pela mitocôndria pela via ROS-p38-p53, o que vai provocar uma inibição da mTOR (32).

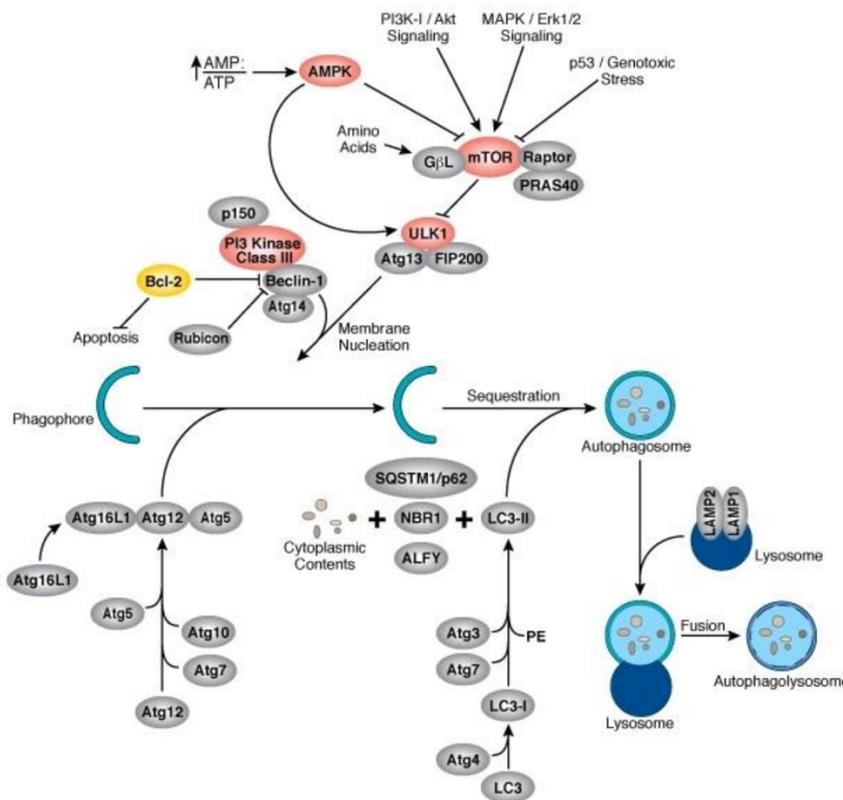


Figura 5. – Via de Regulação da Autofagia. (Adaptado de Yau e colaboradores, 2015 (190).

Além desta via, a PCL induz autofagia em células cancerígenas bloqueando a via Ras-Raf e PI3K-Akt em células de fibrossarcoma L929 (225).

Como é possível concluir, na lectina *Polygonatum cyrtonema*, tanto a via apoptótica, como autofágica são ativadas contribuindo sinergicamente para a morte celular de células cancerígenas.

### 9.7 Anexinas

As anexinas são proteínas que se ligam a fosfolípidos e são reguladas pelo íon cálcio ( $Ca^{2+}$ ), estão envolvidas na regulação do crescimento celular, bem como na indução da apoptose. A Anexina-1 inibe a via da transdução de sinal da NF-kB, esta molécula protege a célula da morte, por isso, **inibindo-a**, pode-se promover a apoptose de células cancerígenas e melhorar a terapia em câncros da próstata, esófago e hepatocarcinoma (226), (201).

A **anexina-6** atua como supressor de tumores, uma vez que inibe a via de sinalização da proteína cinase (Ras-Raf-MAPK) ativada pela Ras-Raf-mitógeno (226), esta via Ras-Raf-MAPK promove a proliferação celular e as mutações associadas a ela, podem criar oncogenes que levam ao desenvolvimento de certos tipos de cancro (227). Estudos provam que o uso de anexina-6 pode matar células de melanoma metastático (228), (229). Por outro lado a **anexina-7** mostrou-se útil no combate às células do cancro da próstata (230).

A tabela seguinte mostra de uma forma geral as lectinas já descritas para a terapêutica tumoral.

**Tabela. 12 Lista de lectinas estudadas**

<b>Lectina</b>	<b>Função</b>	<b>Alvo Tumoral</b>
Galectina 8,9-12	Ligação a células T, integrinas e <b>Cascata Ca<sup>2+</sup>-CalpainCaspase-1</b>	Queratinócitos, 1299 tipos de células no pulmão, fibroblastos, células da tiróide, colon e próstata.
Tipo-C	Reconhecimento de glicano, perforinas, cascata das granzimas, ligando de TRAIL e FAS	Células do Cancro Colorrectal SW1116
Anexinas	Cascata transdução de sinal de NF-kB, Cascata Ras-Raf-MAPK, Cascata Apoptotica p53	Células de Melanoma e Pulmão
HddSBL, Ligadora a Ácido Siálico	Regulação da Bcl-2	Células Hepatocelulares Hep3B Células do Cancro Colorectal SW480 Células do Cancro Pulmão A549, H1299
<i>Polygonatum adorum</i> (POL)	Cascata Akt-mTOR, Cascata Apoptótica das FAZ, aumento de TNF $\alpha$	Células do Cancro Pulmão A549 Células de fibrossarcoma murino L929
Lectinas “Mistletoe “	Sinalização Wnt, miR-135a e b, Lise de células mediadoras de NK	Células do Hepatocarcinoma, Células do cancro da mama, Células Linfoblásticas NALM-6 em Leucemia Aguda, Células mononuclear no sangue periférico
Concanavalina-A (Con-A)	Cascata apoptótica mitocondrial induzida por Caspases	Células do Melanoma A375 e B16, Fibroblastos 3T3, Células do Cancro Colorrectal

**Tabela. 13 Lista de lectinas e respectivos mecanismo de apoptose e autofagia**

Nome	Glicanos Específicos	Apoptose/ autofagia	Alvo	Tipo de Cancro	Mecanismo Especifico	Referências
Con-A	$\alpha$ -Man > $\alpha$ -Glc > GlcNAc	Apoptose	Caspase, Akt, MMP- 9, ERK	Células do melanoma A375 e B16	Ativa a via apoptótica intrínseca em células A375 e B16 e Células HepG2	(203) , (209), (239)
			–	Células do carcinoma hepatocelular HepG2		
				Cancro da Mama	MCF-7	(240)
			COX-2, Bax/Bcl-2,	Células do Glioblastoma U87	Regula a via IKK/NF-kB- em células U87	(241)
				Células do cancro do ovário SKOV3	Ativa a sinalização Foxo1a-Bim	(210)
		Autofagia	BNIP-3	Células do Glioblastoma U87	Induce autophagy via the interplay between JAK2/STAT3 and MT1-MMP	(242)
			Atg3, Atg12, PI3K/ AKT/mTOR, MEK/ ERK	Células do cancro cervical HeLa	Ativa a autofagia baixando a expressão de PI3K/AKT/mTOR e induzindo a via MEK/ERK.	(236)
Mistletoe lectin	Lactose, D-galactose, GalNAc	Apoptose	Caspase-3, caspase-8, TNF- $\alpha$ , Bcl-2,	Célula de Leucemia U937	Induz apoptose pela via extrínseca em células de Leucemia Jurkat T	(222), (220)
			MMP, MAPK, p38	Adenocarcinoma	Induz apoptose pela via dependente de Apaf-1	(220)
			–	Células do carcinoma hepatocelular Hep3B	Libertação de cyto. c e aumento de ROS	(221)
			–	Célula de Leucemia U937	Ativação da SAPK/JNK e da via p38, ou inibição da via ERK1/2	(243)

		Autofagia	mTORC1, PI3KCIII, Beclin-1, Atg12	Células do carcinoma hepatocelular SK-Hep-1 e Hep 3B	Aumento da expressão de mTORC1 fosforilada, PI3KCIII, Beclin-1, Atg12 e LC3 ativada	(238)
VAA-I		Apoptose	PI3K	Células do carcinoma hepatocelular SMMC7721	Leva a apoptose pela indução da via PI3K	(244)
Lectinas Tipo-C		Apoptose	Recetores Mieloides tipo-C	Células do Colorretal SW1116	Reconhecimento da via perforina- granzina, TRAIL e FAS	(245), (246)
Haliotis discus discus lectin (HddSBL)		Apoptose	Bcl-2	Células do carcinoma hepatocelular Hep3B, Células do Colorretal cells e Células do Cancro do Pulmão A549 e H1299	Inibição da Expressão de Bcl-2	(247), (248)
Anexinas		Apoptose	Bax and caspase-3	Melanoma cells, lung cells	Induz apoptose diminuindo a transdução do sinal NF- $\kappa$ B, e expressando a via Ras-Raf-MAPK e p53	(230), (229)
<i>S. flavescens</i> lectin (SFL)	Manose	Apoptose	Caspase	Células do cancro cervical HeLa	Induz apoptose pela via extrínseca ou via dos recetores de morte	(251)
<i>P. cyrtonema</i> lectin (PCL)	Manose/Ácido siálico	Apoptose	Bax, Bcl-XL, Bcl-2, MMP	Células do melanoma A375	Induz apoptose pela libertação de cyto. c e ativação das caspase	(249)
			Caspase-3/-8/- 9	Células do cancro cervical HeLa	Induz apoptose pela via ativação das caspases	(224)
		Autofagia	P38, p53, Ras-Raf, PI3KCI/Akt	Células do melanoma A375	Induz autofagia via ROS-p38-p53	(32)

Pinellia <i>ternata</i> <i>agglutinin</i>	$\alpha$ 1-6 fucose	Apoptose	–	Células do carcinoma hepatocelular Bel-7404	Induz apoptose	(252)
Pea ( <i>Pisum sativum L.</i> ) lectin	Fucose	Apoptose	Bax, Bcl-2, Bcl-XL Caspase	Células do Carcinoma da Ascite de Ehrlich (EAC)	Interrupção do ciclo celular no estágio G2/M	(253)
Mulberry leaf lectin (MLL)	D- galactose	Apoptose	Caspase	Células do cancro da mama MCF-7 Células do cancro do colon HCT-15	Induz apoptose via ativação das caspases	(254)
<i>Canavalia brasiliensis</i>		Apoptose	–	Células da leucemia U937	Inibição da proliferação da célula tumoral pela indução de apoptose	(255)
<i>Momordica charantia</i> <i>lectin</i>	D- galactose	Apoptose	Caspase-3/- 8/-9, MAPK	Células do carcinoma nasofaríngeo NP-69	Aumento da libertação de cyto. c, ativando as caspases-3/-8/-9, produzindo PARP, regulando MAPK	(256)
		Apoptose	Caspase-8/- 9	Células do carcinoma hepatocelular Hep G2	Induz apoptose pela regulação extrínseca via caspase-8 e depois pela via intrínseca caspase-9	(257)
		Apoptose	Caspase	Células da leucemia mieloide crónica	Induz apoptose pela via das caspases	(258)
<i>Astragalus membranaceus</i> (AML) <i>Ricin</i>	GalNAc	Apoptose	Caspase-3/- 7/-8	Células do linfoma de Hodgkin's L540	Induz apoptose pela sobrexpressão de caspase-8 e caspase-3/- 7	(259)
Rice bran agglutinin		Apoptose	Caspase	Células da leucemia promielocítica U937	Inibe a proliferação por um mecanismo citotóxico envolvendo ativação de caspases	(259)
AMML		Apoptose	–	Células do tipo osteoblástica MG63	Induz apoptose	(260)
				Células da leucemia promielocítica U937		

## 10 Métodos

Enumero aqui as várias ferramentas que foram tidas em consideração para a elaboração deste trabalho:

- Pubmed
- Google Scholar
- Mendeley
- B-On
- Science Direct,
- Booksc.org
- Sci-hub.bz
- Repusitorio.UL

Após consulta de vários conteúdos dos últimos dez anos e a sua devida compilação, foram trabalhados aqueles que forneciam a melhor informação para responder ao tema e posteriormente compilados outros que forneciam informação mais específica e complementar independentemente da data de publicação.

De notar que não foram possíveis reconhecer certas referências mais antigas e que foram citadas neste trabalho.

## 11 Conclusões

Com este trabalho podemos concluir que a investigação em lectinas pode ser o caminho para a cura de muitas doenças que não só o cancro. Como se trata de uma área muito desafiadora e complexa, existe uma margem de progressão muito longa para as diferentes áreas de investigação em que as lectinas estão inseridas.

Esta monografia explora os últimos desenvolvimentos relacionados com o diagnóstico e o tratamento do cancro, uma vez que as lectinas têm afinidade para hidratos de carbono específicos e os diferentes tumores que existem no Homem são provenientes de células normais que sofrem aberração tanto genómica, como glicómica. Esta aberração cria, pois, um glicocódigo próprio nestes tumores que pode ser decodificado pelas lectinas. As recentes inovações no diagnóstico tumoral criam novas ferramentas cuja especificidade melhora em muito a identificação de indivíduos com cancro, uma vez que permite identificar marcadores tumorais em pequenas concentrações e/ou fazer a distinção entre tumores benignos e malignos com muito mais fiabilidade, assim como a precocidade de deteção destes biomarcadores aumenta.

A deteção de glicocódigos pelas lectinas permite a indução de mecanismos de morte celular como apoptose e autofagia permitindo a criação de terapêuticas menos tóxicas e mais eficazes que as atuais, melhorando o estado de saúde destes doentes na quimioterapia e radioterapia.

No futuro, urge descobrir mais sobre o entendimento da interação entre lectina e hidrato de carbono e subjacentes mecanismos de morte celular promovidos por lectinas sendo a chave que falta para abrir uma nova categoria de medicamentos cujas as enormes vantagens irão beneficiar direta ou indiretamente toda a humanidade.

## Referências Bibliográficas

1. Boyd WC. Gene frequencies in anthropology: Simple methods. *Am J Phys Anthropol* [Internet]. 1954 Jun 1 [cited 2017 Jul 27];12(2):241–52. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/ajpa.1330120219>
2. Warden CJH, Waddel LA. The Nature of Abrus Poison with Observations on Its Chemical and Physiological Properties. *J Pract Chem All Its Appl to Pharmacy, Arts Manuf.* 1884;49:286.
3. Stillmark H. Ueber Ricin, ein giftiges Ferment aus den Samen von *Ricinus comm. L.* und einigen anderen Euphorbiaceen [Internet]. University of Tartu; 1888. Available from: <http://hdl.handle.net/10062/2332>
4. Ehrlich P. Experimentelle Untersuchungen über Immunität. II. Ueber Ricin. *Dtsch Med Wochenschrift* [Internet]. 1891;97(44):10–3. Available from: <https://eref.thieme.de/TRIJW>
5. Kobert ER. Lehrbuch der Intoxikationen [Internet]. 1893. (Bibliothek des Arztes). Available from: <https://books.google.pt/books?id=yLCrmgEACAAJ>
6. Kraus R, Ludwig S. Über Bakterienhaemagglutinine und Antihaemagglutinine. 1902. 120 p.
7. Noguchi H. Bakteriol Parasitenkd Infektionskr Hyg Abt 1 Orig 34. 1903;286–8.
8. Flexner S, Noguchi H. SNAKE VENOM IN RELATION TO HAEMOLYSIS, BACTERIOLYSIS AND TOXICITY. 1902. 277-301 p.
9. Liener IE, Sharon N, Goldstein IJ. The lectins: Properties, Functions, and Applications in Biology and Medicine [Internet]. Vol. 7, Molecular Biology: An International Series of Monographs and Textbooks Editors. ACADEMIC PRESS, INC.; 1986. 19 p. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0307441279900189>
10. Summer JB. The Globulins of the Jack Bean, *Canavalia ensiformis* (Preliminary paper). 1919. 137-143 p.
11. Karrer P, Weber F, van Slooten J. Über Toxine II. Zur Kenntnis des Crotins. *Helv Chim Acta* [Internet]. 1925 Jan 1 [cited 2017 Sep 14];8(1):384–92.

Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/hlca.19250080159>

12. Sugishita S. *Juzenkwaï Zasshi*. 1935;
13. [46] Eel serum anti-human blood-group H(O) Protein. 1972 Jan 1 [cited 2017 Sep 14];28:383–8. Available from:  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0076687972280491>
14. BOYD WC. *FUNDAMENTALS OF IMMUNOLOGY*. 1947. 40 p.
15. Renkonen K. Studies on hemagglutinins present in seeds of some representatives of the family of Leguminosae. *Med Exp ...* [Internet]. 1948 [cited 2017 Sep 14]; Available from:  
[https://scholar.google.com/scholar\\_lookup?title=Studies on hemagglutinins present in seeds of some representatives of the family of Leguminosae&author=KO. Renkonen&journal=Ann Med Exp Biol Fenn&volume=26&pages=66-72&publication\\_year=1948](https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Studies+on+hemagglutinins+present+in+seeds+of+some+representatives+of+the+family+of+Leguminosae&author=KO.+Renkonen&journal=Ann+Med+Exp+Biol+Fenn&volume=26&pages=66-72&publication_year=1948)
16. Aub J, Tieslau C, Lankester A. Reactions of normal and tumor cell surfaces to enzymes, I. Wheat-germ lipase and associated mucopolysaccharides. *Proc* [Internet]. 1963 [cited 2017 Sep 14]; Available from:  
<http://www.pnas.org/content/50/4/613.short>
17. Watkins W, Morgan W. Neutralization of the anti-H agglutinin in eel serum by simple sugars. *Nature* [Internet]. 1952 [cited 2017 Sep 14]; Available from:  
<https://www.nature.com/nature/journal/v169/n4307/abs/169825a0.html>
18. Agrawal B, Goldstein I. Specific binding of concanavalin A to cross-linked dextran gels. *Biochem J* [Internet]. 1965 [cited 2017 Sep 15]; Available from:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1207236/>
19. Edelman GM, Cunningham BA, Reeke GN, Becker JW, Waxdal MJ, Wang JL, et al. The covalent and three-dimensional structure of concanavalin A. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 1972 Sep [cited 2017 Oct 2];69(9):2580–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4506778>
20. Barton RW, Elizabeth Neufeld AF. The Hurler Corrective Factor PURIFICATION AND SOME PROPERTIES. 1971 [cited 2017 Oct 2];246(24):7773–9. Available from:  
<http://www.jbc.org/content/246/24/7773.full.pdf>

21. Rüdiger H, Haenisch F, Metzler M, Oesch F, Glatt H. Metabolites of diethylstilboestrol induce sister chromatid exchange in human cultured fibroblasts. *Nature* [Internet]. 1979 [cited 2017 Sep 15]; Available from: <http://link.springer.com/article/10.1038/281392a0>
22. Studies on lectins XXXV. Water-soluble O-glycosyl polyacrylamide derivatives for specific precipitation of lectins. *Biochim Biophys Acta - Gen Subj* [Internet]. 1978 Jan 18 [cited 2017 Oct 2];538(2):293–8. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0304416578903574>
23. GABIUS HJ, GABIUS S. *Lectins and Cancer*. SpringerVerlag; 1991. 331 p.
24. Sharon N, Lis H. Lectins as cell recognition molecules. *Science* (80-) [Internet]. 1989 [cited 2017 Sep 5]; Available from: <http://www.jstor.org/stable/pdf/1704348.pdf>
25. Kim M, Rao MV, Tweardy DJ, Prakash M, Galili U, Gorelik E. Lectin-induced apoptosis of tumour cells. *Glycobiology* [Internet]. 1993 Oct 1 [cited 2017 Sep 15];3(5):447–53. Available from: <https://academic.oup.com/glycob/article-lookup/doi/10.1093/glycob/3.5.447>
26. Gabius HJ, André S, Jiménez-Barbero J, Romero A, Solís D. From lectin structure to functional glycomics: Principles of the sugar code. *Trends Biochem Sci*. 2011;36(6):298–313.
27. Fang EF, Ng TB. Antitumor potential and other emerging medicinal properties of natural compounds. *Antitumor Potential other Emerg Med Prop Nat Compd*. 2013;9789400762:1–423.
28. Chang C-P, Yang M-C, Liu H-S, Lin Y-S, Lei H-Y. Concanavalin A induces autophagy in hepatoma cells and has a therapeutic effect in a murine *in situ* hepatoma model. *Hepatology* [Internet]. 2007 Feb 1 [cited 2017 Sep 15];45(2):286–96. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/hep.21509>
29. Polygonatum cyrtonema lectin induces apoptosis and autophagy in human melanoma A375 cells through a mitochondria-mediated ROS–p38–p53 pathway. *Cancer Lett* [Internet]. 2009 Mar 8 [cited 2017 Sep 15];275(1):54–60. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304383508008033>

30. Oliveira C, Costa S, Teixeira JA, Domingues L. cDNA cloning and functional expression of the alpha-D-galactose-binding lectin frutalin in *Escherichia coli*. *Mol Biotechnol* [Internet]. 2009 Nov 12 [cited 2017 Sep 15];43(3):212–20. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s12033-009-9191-7>
31. Li L-N, Zhang H-D, Zhi R, Yuan S-J. Down-regulation of some miRNAs by degrading their precursors contributes to anti-cancer effect of mistletoe lectin-I. *Br J Pharmacol* [Internet]. 2011 Jan 1 [cited 2017 Sep 15];162(2):349–64. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1476-5381.2010.01042.x>
32. Fu LL, Zhou CC, Yao S, Yu JY, Liu B, Bao JK. Plant lectins: Targeting programmed cell death pathways as antitumor agents. *Int J Biochem Cell Biol* [Internet]. 2011 Oct [cited 2017 Sep 7];43(10):1442–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21798364>
33. GABIUS HJ, GABIUS S. *Lectins and Glycobiology* [Internet]. SpringerVerlag; 1993. 523 p. Available from: <http://docs.vectorlabs.com/brochures/LectinBrochure2.pdf>
34. Wang N, Xu H, Zhao X, Wen X, Wang F, Wang S, et al. Network-Based Identification of Novel Connections Among Apoptotic Signaling Pathways in Cancer. *Appl Biochem Biotechnol* [Internet]. 2012 Jun 12 [cited 2017 Sep 15];167(3):621–31. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22581077>
35. Ashwell G. A functional role for lectins. *Trends Biochem Sci*. 1977;2(8):N186.
36. Peumans WJ, Van Damme EJ. Lectins as plant defense proteins. *Plant Physiol*. 1995;109(2):347–52.
37. Lis H, Sharon N. Lectins: Carbohydrate-Specific Proteins That Mediate Cellular Recognition. *Chem Rev* [Internet]. 1998;98(2):637–74. Available from: <http://dx.doi.org/10.1021/cr940413g>
38. Gold ER, Baldwin P. Receptor-specific proteins : plant and animal lectins. In: *Book Reviews* [Internet]. American Elsevier; 1975. p. 440. Available from: <http://trove.nla.gov.au/version/26149500>
39. Lam S, Ng T. Novel galactonic acid-binding hexameric lectin from *Hibiscus mutabilis* seeds with antiproliferative and potent HIV-1 reverse transcriptase

- inhibitory activities. *Acta Biochim Pol* [Internet]. 2009 [cited 2017 Sep 19]; Available from:  
[https://www.researchgate.net/profile/Sze\\_Kwan\\_Lam/publication/40443887\\_Novel\\_galactonic\\_acid-binding\\_hexameric\\_lectin\\_from\\_Hibiscus\\_mutabilis\\_seeds\\_with\\_antiproliferative\\_and\\_potent\\_HIV-1\\_reverse\\_transcriptase\\_inhibitory\\_activities/links/0046352ba2fff16fa9000000.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Sze_Kwan_Lam/publication/40443887_Novel_galactonic_acid-binding_hexameric_lectin_from_Hibiscus_mutabilis_seeds_with_antiproliferative_and_potent_HIV-1_reverse_transcriptase_inhibitory_activities/links/0046352ba2fff16fa9000000.pdf)
40. Sharma A, Ng TB, Wong JH, Lin P. Purification and characterization of a lectin from *Phaseolus vulgaris* cv. (Anasazi beans). *J Biomed Biotechnol* [Internet]. 2009 [cited 2017 Sep 19];2009:929568. Available from:  
<http://www.hindawi.com/journals/bmri/2009/929568/>
  41. A hemagglutinin with mitogenic activity from dark red kidney beans. *J Chromatogr B* [Internet]. 2006 Dec 5 [cited 2017 Sep 19];844(2):213–6. Available from:  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1570023206005460>
  42. Pohleven J, Štrukelj B, Kos J. Affinity chromatography of lectins. *Affin Chromatogr* [Internet]. 2012 [cited 2017 Sep 19]; Available from:  
<https://www.intechopen.com/download/pdf/33048>
  43. Fang EF, Lin P, Wong JH, Tsao SW, Ng TB. A Lectin with Anti-HIV-1 Reverse Transcriptase, Antitumor, and Nitric Oxide Inducing Activities from Seeds of *Phaseolus vulgaris* cv. Extralong Autumn Purple Bean. *J Agric Food Chem* [Internet]. 2010 Feb 24 [cited 2017 Sep 19];58(4):2221–9. Available from: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf903964u>
  44. Leung EHW, Wong JH, Ng TB. Concurrent purification of two defense proteins from French bean seeds: a defensin-like antifungal peptide and a hemagglutinin. *J Pept Sci* [Internet]. 2008 Mar 1 [cited 2017 Sep 19];14(3):349–53. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/psc.946>
  45. Lam SK, Ng TB. Lectins: Production and practical applications. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2011;89(1):45–55.
  46. Sharon N, Lis H. Lectins. Second. Springer; 2007. 454 p.

47. Grumezescu AM. Nano- and Microscale Drug Delivery Systems : Design and Fabrication. 2017. p. 491.
48. Lis H, Sharon N. Lectins as molecules and as tools. *Annu Rev Biochem.* 1986;55(June 1985):35–67.
49. Van Damme EJM, Peumans WJ, Barre A, Rougé & P. Plant Lectins: A Composite of Several Distinct Families of Structurally and Evolutionary Related Proteins with Diverse Biological Roles. 1998;(June):37–41.
50. Videira PA. Glycans in Cell Communication What kind of science is Glycoscience? 2009;
51. Ribeiro AC. Análise molecular de lectinas em sementes de leguminosas. 2008;262.
52. Hivrale A, Ingale A. Plant as a plenteous reserve of lectin. *Plant Signal Behav* [Internet]. 2013;8(12):e26595. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.4161/psb.26595>
53. Purification and characterization of a galactose-specific lectin with mitogenic activity from pinto beans. *Biochim Biophys Acta - Gen Subj* [Internet]. 2006 May 1 [cited 2017 Sep 19];1760(5):808–13. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304416506000511>
54. Isolation and characterization of a lectin with antifungal activity from Egyptian *Pisum sativum* seeds. *Food Chem* [Internet]. 2007 Jan 1 [cited 2017 Sep 19];104(3):971–9. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814607000490>
55. Isolation of a seed coagulant *Moringa oleifera* lectin. *Process Biochem* [Internet]. 2009 Apr 1 [cited 2017 Sep 19];44(4):504–8. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359511309000270>
56. Brustein VP, Souza-Araújo F V., Vaz AFM, Araújo RVS, Paiva PMG, Coelho LCBB, et al. A novel antimicrobial lectin from *Eugenia malaccensis* that stimulates cutaneous healing in mice model. *Inflammopharmacology* [Internet]. 2012 Dec 20 [cited 2017 Sep 19];20(6):315–22. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s10787-011-0113-5>
57. Purification, primary structure and potential functions of a novel lectin from

- Bauhinia forficata seeds. *Process Biochem* [Internet]. 2012 Jul 1 [cited 2017 Sep 19];47(7):1049–59. Available from:  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359511312001110>
58. Bauhinia forficata lectin (BfL) induces cell death and inhibits integrin-mediated adhesion on MCF7 human breast cancer cells. *Biochim Biophys Acta - Gen Subj* [Internet]. 2014 Jul 1 [cited 2017 Sep 19];1840(7):2262–71. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304416514001135>
59. Biocontrol of *Fusarium* species by a novel lectin with low ecotoxicity isolated from *Sebastiania jacobinensis*. *Food Chem* [Internet]. 2010 Apr 15 [cited 2017 Sep 19];119(4):1507–13. Available from:  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814609010942>
60. *Crataeva tapia* bark lectin is an affinity adsorbent and insecticidal agent. *Plant Sci* [Internet]. 2012 Feb 1 [cited 2017 Sep 19];183:20–6. Available from:  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168945211003050>
61. Induction of mortality on *Nasutitermes corniger* (Isoptera, Termitidae) by *Myracrodruon urundeuva* heartwood lectin. *Int Biodeterior Biodegradation* [Internet]. 2008 Dec 1 [cited 2017 Sep 19];62(4):460–4. Available from:  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0964830508001017>
62. Peng H, Lv H, Wang Y, Liu Y, Li C, Meng L, et al. *Clematis montana* lectin, a novel mannose-binding lectin from traditional Chinese medicine with antiviral and apoptosis-inducing activities. *Peptides* [Internet]. 2009 Oct [cited 2017 Sep 19];30(10):1805–15. Available from:  
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S019697810900268X>
63. Ooi LSM, Sun SSM, Ooi VEC. Purification and characterization of a new antiviral protein from the leaves of *Pandanus amaryllifolius* (Pandanaeae). *Int J Biochem Cell Biol* [Internet]. 2004 Aug [cited 2017 Sep 19];36(8):1440–6. Available from:  
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S135727250400024X>
64. A new mistletoe *Phthirusa pyrifolia* leaf lectin with antimicrobial properties. *Process Biochem* [Internet]. 2010 Apr 1 [cited 2017 Sep 19];45(4):526–33. Available from:  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359511309003651>

65. A lectin with some unique characteristics from the samta tomato. *Plant Physiol Biochem* [Internet]. 2006 Apr 1 [cited 2017 Sep 19];44(4):181–5. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0981942806000702>
66. A new *Bauhinia monandra* galactose-specific lectin purified in milligram quantities from secondary roots with antifungal and termiticidal activities. *Int Biodeterior Biodegradation* [Internet]. 2011 Aug 1 [cited 2017 Sep 19];65(5):696–702. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0964830511000692>
67. A tuber lectin from *Arisaema helleborifolium* Schott with anti-insect activity against melon fruit fly, *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) and anti-cancer effect on human cancer cell lines. *Arch Biochem Biophys* [Internet]. 2006 Jan 1 [cited 2017 Sep 19];445(1):156–65. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003986105004443>
68. Isolation and characterization of a dual function protein from *Allium sativum* bulbs which exhibits proteolytic and hemagglutinating activities. *Plant Physiol Biochem* [Internet]. 2008 Apr 1 [cited 2017 Sep 19];46(4):403–13. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0981942807002331>
69. Isolation of an N-acetyl-d-glucosamine specific lectin from the rhizomes of *Arundo donax* with antiproliferative activity. *Phytochemistry* [Internet]. 2005 Aug 1 [cited 2017 Sep 19];66(16):1933–40. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S003194220500316X>
70. Chu KT, Ng TB. Smilaxin, a novel protein with immunostimulatory, antiproliferative, and HIV-1-reverse transcriptase inhibitory activities from fresh *Smilax glabra* rhizomes. *Biochem Biophys Res Commun* [Internet]. 2006 Feb [cited 2017 Sep 19];340(1):118–24. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006291X0502749X>
71. A new chitin-binding lectin from rhizome of *Setcreasea purpurea* with antifungal, antiviral and apoptosis-inducing activities. *Process Biochem* [Internet]. 2010 Sep 1 [cited 2017 Sep 19];45(9):1477–85. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359511310002072>
72. A novel lectin from fresh rhizome of *Alisma orientale* (Sam.) Juzep. *Process Biochem* [Internet]. 2011 Aug 1 [cited 2017 Sep 19];46(8):1554–9. Available

- from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359511311001504>
73. Santos AFS, da Silva MDC, Napoleão TH, Paiva PMG, Correia MT dos S, Coelho LCBB. Lectins : Function , structure , biological properties and potential applications. *Curr Top Pept Protein Res.* 2014;15(June):41–62.
  74. Van Parijs J, Broekaert WF, Goldstein IJ, Peumans WJ. Hevein: an antifungal protein from rubber-tree (*Hevea brasiliensis*) latex. *Planta* [Internet]. 1991 Jan [cited 2017 Sep 19];183(2):258–64. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/BF00197797>
  75. Does MP, Houterman PM, Dekker HL, Cornelissen BJ. Processing, targeting, and antifungal activity of stinging nettle agglutinin in transgenic tobacco. *Plant Physiol* [Internet]. 1999 Jun 1 [cited 2017 Sep 19];120(2):421–32. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10364393>
  76. The insecticidal activity of recombinant garlic lectins towards aphids. *Insect Biochem Mol Biol* [Internet]. 2008 Oct 1 [cited 2017 Sep 19];38(10):905–15. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0965174808001264>
  77. Kaur M, Singh K, Rup PJ, Kamboj SS, Singh J. Anti-insect potential of lectins from *Arisaema* species towards *Bactrocera cucurbitae*. [http://www.jeb.co.in/journal\\_issues/200911\\_nov09/paper\\_16.pdf](http://www.jeb.co.in/journal_issues/200911_nov09/paper_16.pdf) [Internet]. 2009 [cited 2017 Sep 19]; Available from: <http://imsear.li.mahidol.ac.th/handle/123456789/146289>
  78. Maria E. P. Lima †, Maria E. Carneiro ‡, Antônia E. Nascimento ‡, Thalles B. Grangeiro §, Marjory L. Holanda †, Rodrigo C. N. Amorim † and, et al. Purification of a Lectin from the Marine Red Alga *Gracilaria cornea* and Its Effects on the Cattle Tick *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). 2005 [cited 2017 Sep 19]; Available from: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf0509660>
  79. Purification of a lectin from the marine red alga *Gracilaria ornata* and its effect on the development of the cowpea weevil *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). *Biochim Biophys Acta - Gen Subj* [Internet]. 2005 Jun 20 [cited 2017 Sep 19];1724(1–2):137–45. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304416505000887>

80. Larvicidal activity of lectins from *Myracrodruon urundeuva* on *Aedes aegypti*. *Comp Biochem Physiol Part C Toxicol Pharmacol* [Internet]. 2009 Apr 1 [cited 2017 Sep 19];149(3):300–6. Available from:  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1532045608001592>
81. Rijksuniversiteit te Gent. Fakulteit van de Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen. K, Cuartero Diaz G, Haubruge E, Francis F. Investigation of carbohydrate binding property of a fungal lectin from *Xeroocomus chrysenderon* and potential use on *Myzus persicae* aphid. [Internet]. Vol. 73, *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences*. Faculty of Agriculture Science, University of Gent; 1993 [cited 2017 Sep 19]. 629-38 p. Available from: <http://orbi.ulg.ac.be/handle/2268/31121>
82. Purification and characterization of a novel lectin from the toxic wild mushroom *Inocybe umbrinella*. *Toxicon* [Internet]. 2009 Mar 1 [cited 2017 Sep 19];53(3):360–6. Available from:  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S004101010800620X>
83. T-antigen binding lectin with antibacterial activity from marine invertebrate, sea cucumber (*Holothuria scabra*): Possible involvement in differential recognition of bacteria. *J Invertebr Pathol* [Internet]. 2008 Oct 1 [cited 2017 Sep 19];99(2):141–5. Available from:  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022201108000815>
84. Wellman-Labadie O, Lakshminarayanan R, Hincke MT. Antimicrobial properties of avian eggshell-specific C-type lectin-like proteins. *FEBS Lett* [Internet]. 2008 Mar 5 [cited 2017 Sep 19];582(5):699–704. Available from:  
<http://doi.wiley.com/10.1016/j.febslet.2008.01.043>
85. Rapid identification of *Mycobacterium* species by lectin agglutination. *J Microbiol Methods* [Internet]. 2006 May 1 [cited 2017 Sep 19];65(2):209–15. Available from:  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167701205002034>
86. Sharma V, Srinivas VR, Surolia A. Cloning and sequencing of winged bean (*Psophocarpus tetragonolobus*) basic agglutinin (WBA I): presence of second glycosylation site and its implications in quaternary structure. *FEBS Lett* [Internet]. 1996 Jul 8 [cited 2017 Sep 12];389(3):289–92. Available from:

- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8766718>
87. Arango R, Rozenblatt S, Sharon N. Cloning and sequence analysis of the *Erythrina corallodendron* lectin cDNA. *FEBS Lett* [Internet]. 1990 May 7 [cited 2017 Sep 12];264(1):109–11. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1692539>
  88. Schnell DJ, Etzler ME. Primary structure of the *Dolichos biflorus* seed lectin. *J Biol Chem* [Internet]. 1987 May 25 [cited 2017 Sep 12];262(15):7220–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3584113>
  89. Schnell DJ, Etzler ME. cDNA cloning, primary structure, and in vitro biosynthesis of the DB58 lectin from *Dolichos biflorus*. *J Biol Chem* [Internet]. 1988 Oct 15 [cited 2017 Sep 12];263(29):14648–53. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2844781>
  90. Konami Y, Yamamoto K, Osawa T, Irimura T. The primary structure of the *Cytisus scoparius* seed lectin and a carbohydrate-binding peptide. *J Biochem* [Internet]. 1992 Sep [cited 2017 Sep 12];112(3):366–75. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1429525>
  91. Hoffman LM, Donaldson DD. Characterization of two *Phaseolus vulgaris* phytohemagglutinin genes closely linked on the chromosome. *EMBO J* [Internet]. 1985 Apr [cited 2017 Sep 12];4(4):883–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2990911>
  92. Voelker TA, Staswick P, Chrispeels MJ. Molecular analysis of two phytohemagglutinin genes and their expression in *Phaseolus vulgaris* cv. Pinto, a lectin-deficient cultivar of the bean. *EMBO J* [Internet]. 1986 Dec 1 [cited 2017 Sep 12];5(12):3075–82. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16453730>
  93. Vodkin LO, Rhodes PR, Goldberg RB. cA lectin gene insertion has the structural features of a transposable element. *Cell* [Internet]. 1983 Oct [cited 2017 Sep 12];34(3):1023–31. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6313203>
  94. Young NM, Johnston RA, Watson DC. The amino acid sequence of peanut agglutinin. *Eur J Biochem* [Internet]. 1991 Mar 28 [cited 2017 Sep

- 12];196(3):631–7. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2013286>
95. Konami Y, Yamamoto K, Osawa T. The primary structure of the Lotus tetragonolobus seed lectin. FEBS Lett [Internet]. 1990 Jul 30 [cited 2017 Sep 12];268(1):281–6. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2384167>
96. Konami Y, Yamamoto K, Osawa T. The primary structures of two types of the Ulex europeus seed lectin. J Biochem [Internet]. 1991 Apr [cited 2017 Sep 12];109(4):650–8. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1869520>
97. Konami Y, Yamamoto K, Toyoshima S, Osawa T. The primary structure of the Laburnum alpinum seed lectin. FEBS Lett [Internet]. 1991 Jul 29 [cited 2017 Sep 12];286(1–2):33–8. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1864376>
98. Kouchalakos RN, Bates OJ, Bradshaw RA, Hapner KD. Lectin from sainfoin (*Onobrychis viciifolia* scop.). Complete amino acid sequence. Biochemistry [Internet]. 1984 Apr 10 [cited 2017 Sep 12];23(8):1824–30. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6722125>
99. Richardson M, Yarwood A, Rougé P. The amino acid sequence of an atypical single-chain lectin from seeds of *Lathyrus sphaericus* (Retz). FEBS Lett [Internet]. 1987 May 25 [cited 2017 Sep 12];216(1):145–50. Available from:  
<http://doi.wiley.com/10.1016/0014-5793%2887%2980773-1>
100. Carrington DM, Auffret A, Hanke DE. Polypeptide ligation occurs during post-translational modification of concanavalin A. Nature [Internet]. [cited 2017 Sep 12];313(5997):64–7. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3965973>
101. Richardson M, Campos FD, Moreira RA, Ainouz IL, Begbie R, Watt WB, et al. The complete amino acid sequence of the major alpha subunit of the lectin from the seeds of *Dioclea grandiflora* (Mart). Eur J Biochem [Internet]. 1984 Oct 1 [cited 2017 Sep 12];144(1):101–11. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6383825>

102. Richardson M, Rougé P, Sousa-Cavada B, Yarwood A. The amino acid sequences of the alpha 1 and alpha 2 subunits of the isolectins from seeds of *Lathyrus ochrus* (L) DC. *FEBS Lett* [Internet]. 1984 Sep 17 [cited 2017 Sep 12];175(1):76–81. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6383863>
103. Foriers A, Lebrun E, Van Rapenbusch R, de Neve R, Strosberg AD. The structure of the lentil (*Lens culinaris*) lectin. Amino acid sequence determination and prediction of the secondary structure. *J Biol Chem* [Internet]. 1981 Jun 10 [cited 2017 Sep 12];256(11):5550–60. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7240155>
104. Higgins TJ, Chandler PM, Zurawski G, Button SC, Spencer D. The biosynthesis and primary structure of pea seed lectin. *J Biol Chem* [Internet]. 1983 Aug 10 [cited 2017 Sep 12];258(15):9544–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6688253>
105. Hemperly JJ, Hopp TP, Becker JW, Cunningham BA. The chemical characterization of favin, a lectin isolated from *Vicia faba*. *J Biol Chem* [Internet]. 1979 Jul 25 [cited 2017 Sep 12];254(14):6803–10. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/447749>
106. Hopp TP, Hemperly JJ, Cunningham BA. Amino acid sequence and variant forms of favin, a lectin from *Vicia faba*. *J Biol Chem* [Internet]. 1982 Apr 25 [cited 2017 Sep 12];257(8):4473–83. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7068646>
107. Gowda LR, Savithri HS, Rao DR. The complete primary structure of a unique mannose/glucose-specific lectin from field bean (*Dolichos lab lab*). *J Biol Chem* [Internet]. 1994 Jul 22 [cited 2017 Sep 12];269(29):18789–93. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8034631>
108. Kusui K, Yamamoto K, Konami Y, Osawa T. cDNA cloning and expression of *Bauhinia purpurea* lectin. *J Biochem* [Internet]. 1991 Jun [cited 2017 Sep 12];109(6):899–903. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1657898>
109. Sharma V, Surolia A. Analyses of Carbohydrate Recognition by Legume Lectins: Size of the Combining Site Loops and their Primary Specificity. *J Mol*

- Biol. 1997;267(2):433–45.
110. Stanley P, Gannon J, Bergeron JJM, Popoff V, Adolf F, Brügger B, et al. Golgi Glycosylation. 2013;
  111. Reis CA, Osorio H, Silva L, Gomes C, David L. Alterations in glycosylation as biomarkers for cancer detection. *J Clin Pathol* [Internet]. 2010;63(4):322–9. Available from:  
<http://jcp.bmj.com/cgi/doi/10.1136/jcp.2009.071035%5Cnhttp://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20354203>
  112. Mody R, Joshi SH, antaram, Chaney W. Use of lectins as diagnostic and therapeutic tools for cancer. *J Pharmacol Toxicol Methods*. 1995;33(1):1–10.
  113. Varki A, Cummings RD, Esko JD, Freeze HH. *Essentials of Glycobiology*. Cold Spring Harb Lab Press. 2009;2nd editio.
  114. Kumamoto K, Goto Y, Sekikawa K, Takenoshita S, Ishida N, Kawakita M, et al. Increased expression of UDP-galactose transporter messenger RNA in human colon cancer tissues and its implication in synthesis of Thomsen-Friedenreich antigen and sialyl Lewis A/X determinants. *Cancer Res* [Internet]. 2001 Jun 1 [cited 2017 Sep 1];61(11):4620–7. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11389099>
  115. Park J-J, Lee M. Increasing the  $\alpha$  2, 6 sialylation of glycoproteins may contribute to metastatic spread and therapeutic resistance in colorectal cancer. *Gut Liver* [Internet]. 2013 Nov 15 [cited 2017 Sep 1];7(6):629–41. Available from:  
<http://www.gutnliver.org/journal/DOIx.php?id=10.5009/gnl.2013.7.6.629>
  116. Miyoshi E, Ito Y, Miyoshi Y. Involvement of aberrant glycosylation in thyroid cancer. *J Oncol* [Internet]. 2010 [cited 2017 Sep 1];2010:816595. Available from: <http://www.hindawi.com/journals/jo/2010/816595/>
  117. Chen C-Y, Jan Y-H, Juan Y-H, Yang C-J, Huang M-S, Yu C-J, et al. Fucosyltransferase 8 as a functional regulator of nonsmall cell lung cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2013 Jan 8 [cited 2017 Sep 1];110(2):630–5. Available from:  
<http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1220425110>

118. Shetty RKS, Bhandary SK, Kali A. Significance of Serum L-fucose Glycoprotein as Cancer Biomarker in Head and Neck Malignancies without Distant Metastasis. *J Clin Diagn Res* [Internet]. 2013 Dec [cited 2017 Sep 1];7(12):2818–20. Available from: [http://www.jcdr.net/article\\_fulltext.asp?issn=0973-709x&year=2013&month=December&volume=7&issue=12&page=2818-2820&id=3765](http://www.jcdr.net/article_fulltext.asp?issn=0973-709x&year=2013&month=December&volume=7&issue=12&page=2818-2820&id=3765)
119. Patel PS, Adhvaryu SG, Balar DB, Parikh BJ, Shah PM. Clinical application of serum levels of sialic acid, fucose and seromucoid fraction as tumour markers in human leukemias. *Anticancer Res* [Internet]. [cited 2017 Sep 1];14(2B):747–51. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8010734>
120. Cui H, Lin Y, Yue L, Zhao X, Liu J. Differential expression of the  $\alpha$ 2,3-sialic acid residues in breast cancer is associated with metastatic potential. *Oncol Rep* [Internet]. 2011 May 1 [cited 2017 Sep 1];25(5):1365–71. Available from: <http://www.spandidos-publications.com/or/25/5/1365>
121. Kossowska B, Ferens-Sieczkowska M, Gancarz R, Passowicz-Muszyńska E, Jankowska R. Fucosylation of serum glycoproteins in lung cancer patients. *Clin Chem Lab Med* [Internet]. 2005 Jan 1 [cited 2017 Sep 1];43(4):361–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15899650>
122. Wiese TJ, Dunlap JA, Yorek MA. L-fucose is accumulated via a specific transport system in eukaryotic cells. *J Biol Chem* [Internet]. 1994 Sep 9 [cited 2017 Sep 1];269(36):22705–11. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8077222>
123. Manjula S, Monteiro F, Rao Aroor A, Rao S, Annaswamy R, Rao A. Assessment of serum L-fucose in brain tumor cases. *Ann Indian Acad Neurol* [Internet]. 2010 Jan [cited 2017 Sep 1];13(1):33–6. Available from: <http://www.annalsofian.org/text.asp?2010/13/1/33/61274>
124. Noda K, Miyoshi E, Gu J, Gao C-X, Nakahara S, Kitada T, et al. Relationship between elevated FX expression and increased production of GDP-L-fucose, a common donor substrate for fucosylation in human hepatocellular carcinoma and hepatoma cell lines. *Cancer Res* [Internet]. 2003 Oct 1 [cited 2017 Sep 1];63(19):6282–9. Available from:

- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14559815>
125. Kawamoto S, Moriwaki K, Nakagawa T, Terao M, Shinzaki S, Yamane-Ohnuki N, et al. Overexpression of  $\alpha$ 1,6-fucosyltransferase in hepatoma enhances expression of Golgi phosphoprotein 2 in a fucosylation-independent manner. *Int J Oncol* [Internet]. 2011 Jul 14 [cited 2017 Sep 1];39(1):203–8. Available from: <http://www.spandidos-publications.com/10.3892/ijo.2011.1005>
  126. Listinsky JJ, Listinsky CM, Alapati V, Siegal GP. Cell surface fucose ablation as a therapeutic strategy for malignant neoplasms. *Adv Anat Pathol* [Internet]. 2001 Nov [cited 2017 Sep 1];8(6):330–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11707624>
  127. Yuan K, Listinsky CM, Singh RK, Listinsky JJ, Siegal GP. Cell surface associated alpha-L-fucose moieties modulate human breast cancer neoplastic progression. *Pathol Oncol Res* [Internet]. 2008 Jun 13 [cited 2017 Sep 1];14(2):145–56. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s12253-008-9036-x>
  128. S. Coulibaly F, C. Youan B-B. Current status of lectin-based cancer diagnosis and therapy. *AIMS Mol Sci* [Internet]. 2017 [cited 2017 Sep 5];4(1):1–27. Available from: <http://www.aimspress.com/article/10.3934/molsci.2017.1.1>
  129. Tateno H, Nakamura-Tsuruta S, Hirabayashi J. Comparative analysis of core-fucose-binding lectins from *Lens culinaris* and *Pisum sativum* using frontal affinity chromatography. *Glycobiology* [Internet]. 2009 May 1 [cited 2017 Sep 1];19(5):527–36. Available from: <https://academic.oup.com/glycob/article-lookup/doi/10.1093/glycob/cwp016>
  130. Bialecki ES, Di Bisceglie AM. Diagnosis of hepatocellular carcinoma. *HPB* [Internet]. 2005 Mar [cited 2017 Sep 1];7(1):26–34. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18333158>
  131. Kawai K, Kojima T, Miyanaga N, Hattori K, Hinotsu S, Shimazui T, et al. Lectin-reactive alpha-fetoprotein as a marker for testicular tumor activity. *Int J Urol* [Internet]. 2005 Mar [cited 2017 Sep 1];12(3):284–9. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1442-2042.2005.01032.x>
  132. Miyoshi E, Moriwaki K, Terao N, Tan C-C, Terao M, Nakagawa T, et al.

- Fucosylation is a promising target for cancer diagnosis and therapy. *Biomolecules* [Internet]. 2012 Jan 30 [cited 2017 Sep 1];2(1):34–45. Available from: <http://www.mdpi.com/2218-273X/2/1/34/>
133. Wu AM, Wu JH, Yang Z, Singh T, Goldstein IJ, Sharon N. Differential contributions of recognition factors of two plant lectins -*Amaranthus caudatus* lectin and *Arachis hypogea* agglutinin, reacting with Thomsen-Friedenreich disaccharide (Galbeta1-3GalNAcalpha1-Ser/Thr). *Biochimie* [Internet]. 2008 Nov [cited 2017 Sep 1];90(11–12):1769–80. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0300908408002502>
  134. Badr H a, Alsadek DM, Darwish a a, Elsayed a I, Bekmanov BO, Khussainova EM, et al. Lectin approaches for glycoproteomics in FDA-approved cancer biomarkers. *Expert Rev Proteomics* [Internet]. 2014;11(2):227–36. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24611567>
  135. Chen K, Gentry-Maharaj A, Burnell M, Steentoft C, Marcos-Silva L, Mandel U, et al. Microarray Glycoprofiling of CA125 improves differential diagnosis of ovarian cancer. *J Proteome Res* [Internet]. 2013 Mar 1 [cited 2017 Sep 1];12(3):1408–18. Available from: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/pr3010474>
  136. Lee JE, Mirza SP, Didier DN, Scalf M, Olivier M, Greene AS, et al. Identification of cell surface markers to differentiate rat endothelial and fibroblast cells using lectin arrays and LC-ESI-MS/MS. *Anal Chem* [Internet]. 2008 Nov 1 [cited 2017 Sep 1];80(21):8269–75. Available from: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ac801390b>
  137. Milutinovic B, Jankovic M. Analysis of the protein and glycan parts of CA125 antigen from human amniotic fluid. *Arch Biol Sci* [Internet]. 2007;59(2):97–103. Available from: <http://www.doiserbia.nb.rs/Article.aspx?ID=0354-46640702097M%5Cnhttp://www.doiserbia.nb.rs/img/doi/0354-4664/2007/0354-46640702097M.pdf>
  138. Wu J, Xie X, Liu Y, He J, Benitez R, Buckanovich RJ, et al. Identification and confirmation of differentially expressed fucosylated glycoproteins in the serum of ovarian cancer patients using a lectin array and LC-MS/MS. *J Proteome Res*

- [Internet]. 2012 Sep 7 [cited 2017 Sep 1];11(9):4541–52. Available from: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/pr300330z>
139. Saldova R, Struwe WB, Wynne K, Elia G, Duffy MJ, Rudd PM. Exploring the glycosylation of serum CA125. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2013 Jul 26 [cited 2017 Sep 1];14(8):15636–54. Available from: <http://www.mdpi.com/1422-0067/14/8/15636/>
  140. Li C, Simeone DM, Brenner DE, Anderson MA, Shedden KA, Ruffin MT, et al. Pancreatic cancer serum detection using a lectin/glyco-antibody array method. *J Proteome Res* [Internet]. 2009 Feb 6 [cited 2017 Sep 1];8(2):483–92. Available from: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/pr8007013>
  141. Fry SA, Afrough B, Lomax-Browne HJ, Timms JF, Velentzis LS, Leathem AJ. Lectin microarray profiling of metastatic breast cancers. *Glycobiology* [Internet]. 2011 Aug [cited 2017 Sep 1];21(8):1060–70. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21507904>
  142. Narasimhan S, Freed JC, Schachter H. The effect of a &quot;bisecting&quot; N-acetylglucosaminyl group on the binding of biantennary, complex oligosaccharides to concanavalin A, Phaseolus vulgaris erythroagglutinin (E-PHA), and Ricinus communis agglutinin (RCA-120) immobilized on agarose. *Carbohydr Res* [Internet]. 1986 Jun 1 [cited 2017 Sep 1];149(1):65–83. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3731182>
  143. Wu L, Bao J-K. Anti-tumor and anti-viral activities of Galanthus nivalis agglutinin (GNA)-related lectins. *Glycoconj J* [Internet]. 2013 Apr 15 [cited 2017 Sep 1];30(3):269–79. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s10719-012-9440-z>
  144. Yamaki K, Yoshino S. Aspergillus oryzae lectin induces anaphylactoid oedema and mast cell activation through its interaction with fucose of mast cell-bound non-specific IgE. *Scand J Immunol* [Internet]. 2011 Nov [cited 2017 Sep 1];74(5):445–53. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-3083.2011.02598.x>
  145. You W-K, Kasman I, Hu-Lowe DD, McDonald DM. Ricinus communis agglutinin I leads to rapid down-regulation of VEGFR-2 and endothelial cell apoptosis in tumor blood vessels. *Am J Pathol* [Internet]. 2010 Apr [cited 2017

- Sep 1];176(4):1927–40. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20185574>
146. Nishijima Y, Toyoda M, Yamazaki-Inoue M, Sugiyama T, Miyazawa M, Muramatsu T, et al. Glycan profiling of endometrial cancers using lectin microarray. *Genes to Cells* [Internet]. 2012 Oct [cited 2017 Sep 1];17(10):826–36. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22957961>
  147. Yamamoto K, Konami Y, Osawa T. A chimeric lectin formed from Bauhinia purpurea lectin and Lens culinaris lectin recognizes a unique carbohydrate structure. *J Biochem* [Internet]. 2000 Jan [cited 2017 Sep 1];127(1):129–35. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10731675>
  148. Zhao L, Liu M, Gao Y, Huang Y, Lu G, Gao Y, et al. Glycosylation of sera thyroglobulin antibody in patients with thyroid diseases. *Eur J Endocrinol* [Internet]. 2013 Apr 1 [cited 2017 Sep 1];168(4):585–92. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23360821>
  149. Pihikova D, Pakanova Z, Nemcovic M, Barath P, Belicky S, Bertok T, et al. Sweet characterisation of prostate specific antigen using electrochemical lectin-based immunosensor assay and MALDI TOF/TOF analysis: Focus on sialic acid. *Proteomics* [Internet]. 2016 Dec [cited 2017 Sep 1];16(24):3085–95. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/pmic.201500463>
  150. Bhanushali PB, Badgajar SB, Tripathi MM, Gupta S, Murthy V, Krishnasastry M V, et al. Development of glycan specific lectin based immunoassay for detection of prostate specific antigen. *Int J Biol Macromol* [Internet]. 2016 May [cited 2017 Sep 1];86:468–80. Available from:  
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0141813016301118>
  151. Batabyal SK, Majhi R, Basu PS. Clinical utility of the interaction between lectin and serum prostate specific antigen in prostate cancer. *Neoplasma* [Internet]. 2009 [cited 2017 Sep 1];56(1):68–71. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19152248>
  152. Basu PS, Majhi R, Batabyal SK. Lectin and serum-PSA interaction as a screening test for prostate cancer. *Clin Biochem* [Internet]. 2003 Jul [cited 2017 Sep 1];36(5):373–6. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12849869>

153. Movafagh A, Heydary H, Mortazavi-Tabatabaei SA, Azargashb E. The Significance Application of Indigenous Phytohemagglutinin (PHA) Mitogen on Metaphase and Cell Culture Procedure. *Iran J Pharm Res IJPR* [Internet]. 2011 [cited 2017 Sep 1];10(4):895–903. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24250428>
154. Kim Y-S, Son OL, Lee JY, Kim SH, Oh S, Lee YS, et al. Lectin precipitation using phytohemagglutinin-L(4) coupled to avidin-agarose for serological biomarker discovery in colorectal cancer. *Proteomics* [Internet]. 2008 Aug [cited 2017 Sep 1];8(16):3229–35. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/pmic.200800034>
155. Qiu Y, Patwa TH, Xu L, Shedden K, Misek DE, Tuck M, et al. Plasma glycoprotein profiling for colorectal cancer biomarker identification by lectin glycoarray and lectin blot. *J Proteome Res* [Internet]. 2008 Apr [cited 2017 Sep 1];7(4):1693–703. Available from: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/pr700706s>
156. Sharon N. Lectins: carbohydrate-specific reagents and biological recognition molecules. *J Biol Chem* [Internet]. 2007 [cited 2017 Sep 5]; Available from: <http://www.jbc.org/content/282/5/2753.short>
157. M.R. A, z. S, H. I, MEHRBOD K, F. SA. HISTOCHEMICAL STUDY OF N-ACETYL GALACTOSAMINE CONTAINING GLYCOCONJUGATE IN INTRADUCTAL CARCINOMA OF THE BREAST BY HPA LECTIN [Internet]. Vol. 7. *CELL JOURNAL (YAKHTEH)*; 2006 [cited 2017 Sep 5]. p. 216–21. Available from: <http://en.journals.sid.ir/ViewPaper.aspx?ID=40167>
158. Babál P, Janega P, Černá A, Kholová I, Brabencová E. Neoplastic transformation of the thyroid gland is accompanied by changes in cellular sialylation. *Acta Histochem* [Internet]. 2006 Jul [cited 2017 Sep 5];108(2):133–40. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0065128106000225>
159. Kratz E, Poland D, Dijk W van. Alterations of branching and differential expression of sialic acid on alpha-1-acid glycoprotein in human seminal plasma. *Clin Chim acta* [Internet]. 2003 [cited 2017 Sep 5]; Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0009898103000846>

160. Reddi AL, Sankaranarayanan K, Arulraj HS, Devaraj N, Devaraj H. Enzyme-linked PNA lectin-binding assay of serum T-antigen in patients with SCC of the uterine cervix. *Cancer Lett* [Internet]. 2000 Feb [cited 2017 Sep 5];149(1–2):207–11. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304383599003638>
161. Gemeiner P, Mislovičová D, Tkáč J, Švitel J, Pätoprstý V, Hrabárová E, et al. Lectinomics. *Biotechnol Adv* [Internet]. 2009 Jan [cited 2017 Sep 5];27(1):1–15. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0734975008000815>
162. Haab BB, Yue T. High-Throughput Studies of Protein Glycoforms Using Antibody–Lectin Sandwich Arrays. In Humana Press; 2011 [cited 2017 Sep 5]. p. 223–36. Available from: [http://link.springer.com/10.1007/978-1-61779-286-1\\_15](http://link.springer.com/10.1007/978-1-61779-286-1_15)
163. Pihíková D, Kasák P, Tkac J. Glycoprofiling of cancer biomarkers: Label-free electrochemical lectin-based biosensors. *Open Chem* [Internet]. 2015 [cited 2017 Sep 5];13:636–55. Available from: <https://www.degruyter.com/view/j/chem.2015.13.issue-1/chem-2015-0082/chem-2015-0082.pdf>
164. Hirabayashi J. Oligosaccharide microarrays for glycomics. *Trends Biotechnol* [Internet]. 2003 Apr [cited 2017 Sep 5];21(4):141–3. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167779903000027>
165. Li Y, Wen T, Zhu M, Li L, Wei J, Wu X, et al. Glycoproteomic analysis of tissues from patients with colon cancer using lectin microarrays and nanoLC-MS/MS. *Mol Biosyst* [Internet]. 2013 Jun 4 [cited 2017 Sep 5];9(7):1877. Available from: <http://xlink.rsc.org/?DOI=c3mb00013c>
166. Jia Zhao †,‡, Tasneem H. Patwa †,‡, Weilian Qiu †, Kerby Shedden §, Robert Hinderer ¶, David E. Misek ¶, et al. Glycoprotein Microarrays with Multi-Lectin Detection: Unique Lectin Binding Patterns as a Tool for Classifying Normal, Chronic Pancreatitis and Pancreatic Cancer Sera. 2007 [cited 2017 Sep 5]; Available from: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/pr070062p>
167. Jia Zhao †, Diane M. Simeone §, David Heidt ‡, Michelle A. Anderson § and, David M. Lubman\* †,‡,¶. Comparative Serum Glycoproteomics Using Lectin

- Selected Sialic Acid Glycoproteins with Mass Spectrometric Analysis: Application to Pancreatic Cancer Serum. 2006 [cited 2017 Sep 5]; Available from: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/pr060034r>
168. Yang Z, Hancock WS. Approach to the comprehensive analysis of glycoproteins isolated from human serum using a multi-lectin affinity column. *J Chromatogr A* [Internet]. 2004 Oct 22 [cited 2017 Sep 5];1053(1–2):79–88. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15543974>
  169. Przybyło M, Lityńska A, Pocheć E. Different adhesion and migration properties of human HCV29 non-malignant urothelial and T24 bladder cancer cells: role of glycosylation. *Biochimie* [Internet]. 2005 Feb [cited 2017 Sep 5];87(2):133–42. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0300908404002494>
  170. Wu AM, Lisowska E, Duk M, Yang Z. Lectins as tools in glycoconjugate research. *Glycoconj J* [Internet]. 2009 Nov 27 [cited 2017 Sep 5];26(8):899–913. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s10719-008-9119-7>
  171. Jenner J, Kerst G, Handgretinger R, Müller I. Increased  $\alpha$ 2,6-sialylation of surface proteins on tolerogenic, immature dendritic cells and regulatory T cells. *Exp Hematol* [Internet]. 2006 Sep [cited 2017 Sep 5];34(9):1211–7. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0301472X06002657>
  172. Yamamoto K, Ito S, Yasukawa F, Konami Y, Matsumoto N. Measurement of the carbohydrate-binding specificity of lectins by a multiplexed bead-based flow cytometric assay. *Anal Biochem* [Internet]. 2005 Jan [cited 2017 Sep 5];336(1):28–38. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003269704007663>
  173. Liljeblad M, Lundblad A, Pålsson P. Analysis of agalacto-IgG in rheumatoid arthritis using surface plasmon resonance. *Glycoconj J* [Internet]. 2000 [cited 2017 Sep 6];17(5):323–9. Available from: <http://link.springer.com/10.1023/A:1007169621518>
  174. and RJ, Kolusheva S. *Carbohydrate Biosensors*. 2004 [cited 2017 Sep 6]; Available from: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/cr0300284>
  175. Hu Y, Zuo P, Ye B-C. Label-free electrochemical impedance spectroscopy

- biosensor for direct detection of cancer cells based on the interaction between carbohydrate and lectin. *Biosens Bioelectron* [Internet]. 2013 May [cited 2017 Sep 6];43:79–83. Available from:  
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S095656631200841X>
176. Cao J-T, Hao X-Y, Zhu Y-D, Sun K, Zhu J-J. Microfluidic Platform for the Evaluation of Multi-Glycan Expressions on Living Cells using Electrochemical Impedance Spectroscopy and Optical Microscope. *Anal Chem* [Internet]. 2012 Aug 7 [cited 2017 Sep 6];84(15):6775–82. Available from:  
<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ac3013048>
177. Elena L, Moreno-celis U, Cervantes-jim R, Augusto R, Blanco-labra A, Garc T. Plant Lectins as Medical Tools against Digestive System Cancers. *Int J Mol Sci*. 2017;
178. Meany DL, Zhang Z, Sokoll LJ, Zhang H, Chan DW. Glycoproteomics for prostate cancer detection: changes in serum PSA glycosylation patterns. *J Proteome Res* [Internet]. 2009 Feb 6 [cited 2017 Sep 5];8(2):613–9. Available from: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/pr8007539>
179. Detect Biotinylated Lectin with IRDye Streptavidins. [Internet]. [cited 2017 Sep 12]. Available from:  
[https://www.licor.com/bio/applications/glycoprotein\\_detection/method2.html](https://www.licor.com/bio/applications/glycoprotein_detection/method2.html)
180. Li H, Wei L, Fang P, Yang P, Matsuda A, Sekiya S, et al. Recent advances in the fabrication and detection of lectin microarrays and their application in glycobiology analysis. *Anal Methods* [Internet]. 2014 Mar 13 [cited 2017 Sep 13];6(7):2003–14. Available from: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C3AY41974F>
181. Chen S, LaRoche T, Hamelinck D, Bergsma D, Brenner D, Simeone D, et al. Multiplexed analysis of glycan variation on native proteins captured by antibody microarrays. *Nat Methods* [Internet]. 2007 Apr 8 [cited 2017 Sep 5];4(5):437–44. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17417647>
182. Zurawski VR, Orjaseter H, Andersen A, Jellum E. Elevated serum CA 125 levels prior to diagnosis of ovarian neoplasia: relevance for early detection of ovarian cancer. *Int J cancer* [Internet]. 1988 Nov 15 [cited 2017 Sep 5];42(5):677–80. Available from:

- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3182103>
183. Ito H, Kuno A, Sawaki H, Sogabe M, Ozaki H, Tanaka Y, et al. Strategy for glycoproteomics: identification of glyco-alteration using multiple glycan profiling tools. *J Proteome Res* [Internet]. 2009 Mar 6 [cited 2017 Sep 5];8(3):1358–67. Available from:  
<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/pr800735j>
  184. Miyoshi E, Moriwaki K, Nakagawa T. Biological Function of Fucosylation in Cancer Biology. *J Biochem* [Internet]. 2007 Nov 16 [cited 2017 Sep 5];143(6):725–9. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18218651>
  185. Takeya A, Hosomi O, Nishijima H, Ohe Y, Sugahara K, Sagi M, et al. Presence of beta-linked GalNAc residues on N-glycans of human thyroglobulin. *Life Sci* [Internet]. 2007 Jan 16 [cited 2017 Sep 5];80(6):538–45. Available from:  
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0024320506007909>
  186. Gilgunn S, Conroy PJ, Saldova R, Rudd PM, O’Kennedy RJ. Aberrant PSA glycosylation--a sweet predictor of prostate cancer. *Nat Rev Urol* [Internet]. 2013 Feb 15 [cited 2017 Sep 5];10(2):99–107. Available from:  
<http://www.nature.com/doi/10.1038/nrurol.2012.258>
  187. Zhao Y-P, Ruan C-P, Wang H, Hu Z-Q, Fang M, Gu X, et al. Identification and assessment of new biomarkers for colorectal cancer with serum N-glycan profiling. *Cancer* [Internet]. 2012 Feb 1 [cited 2017 Sep 5];118(3):639–50. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21853445>
  188. Drake PM, Cho W, Li B, Prakobphol A, Johansen E, Anderson NL, et al. Sweetening the pot: adding glycosylation to the biomarker discovery equation. *Clin Chem* [Internet]. 2010 Feb 1 [cited 2017 Sep 5];56(2):223–36. Available from: <http://www.clinchem.org/cgi/doi/10.1373/clinchem.2009.136333>
  189. Badr HA, Elsayed AI, Ahmed H, Dwek M V, Li C-Z, Djansugurova LB. Preferential lectin binding of cancer cells upon sialic acid treatment under nutrient deprivation. *Appl Biochem Biotechnol* [Internet]. 2013 Oct 4 [cited 2017 Sep 13];171(4):963–74. Available from:  
<http://link.springer.com/10.1007/s12010-013-0409-6>

190. Yau T, Dan X, Ng CCW, Ng TB. Lectins with potential for anti-cancer therapy. *Molecules*. 2015;20(3):3791–810.
191. Yang R, Rabinovich GA, Liu F. Galectins : structure , function and therapeutic potential. 2008;10(June):1–24.
192. Radosavljevic G, Volarevic V, Jovanovic I. The roles of Galectin-3 in autoimmunity and tumor progression. 2012;100–10.
193. KEYOMARSI K, TUCKER SL. Cyclin E and survival in patients with breast cancer. *N Engl J Med*. 2002;347(20).
194. Huang L, Wang D, Chen Y, Li W, Hu F, Gong B. Clinica Chimica Acta Meta-analysis for cyclin E in lung cancer survival. *Clin Chim Acta* [Internet]. 2012;413(7–8):663–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cca.2011.12.020>
195. Yoo BK, Emdad L, Su Z, Villanueva A, Chiang DY, Mukhopadhyay ND, et al. Astrocyte elevated gene-1 regulates hepatocellular carcinoma development and progression. 2009;119(3):465–77.
196. Nakahara S, Oka N, Raz A. On the role of galectin-3 in cancer apoptosis. 2005;10(2):267–75.
197. Zhao Q, Guo X, Nash GB, Stone PC, Hilkens J, Rhodes JM, et al. Circulating Galectin-3 Promotes Metastasis by Modifying MUC1 Localization on Cancer Cell Surface. 2009;(17):6799–807.
198. Reticker-flynn NE, Winslow MM, Lamar JM, Xu MJ, Underhill GH, Hynes RO, et al. A combinatorial extracellular matrix platform identifies cell-extracellular matrix interactions that correlate with metastasis. *Nat Commun* [Internet]. 2012;3:1112–22. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/ncomms2128>
199. Kumar Kk, Reddy Gs, Reddy B, Shekar Pc, Sumanthi J, Chandra KIP. Biological role of lectins: A review. *J Orofac Sci* [Internet]. 2012;4(1):20. Available from: <http://www.jofs.in/text.asp?2012/4/1/20/99883>
200. Wang Y, Balan V, Hogan V, Raz A. Calpain activation through galectin-3 inhibition sensitizes prostate cancer cells to cisplatin treatment. *Cell Death Dis* [Internet]. 2010;1(11):e101-10. Available from:

- <http://dx.doi.org/10.1038/cddis.2010.79>
201. Nakahara S, Raz A. Biological Modulation by Lectins and Their Ligands in Tumor Progression and Metastasis. 2008;22–36.
  202. Wells V, Mallucci L. Research article Phosphoinositide 3-kinase targeting by the  $\alpha$ -galactoside binding protein cytokine negates akt gene expression and leads aggressive breast cancer cells to apoptotic death. 2009;11(1):1–10.
  203. Hadari YR, Arbel-Goren R, Levy Y, Amsterdam A, Alon R, Zakut R, et al. Galectin-8 binding to integrins inhibits cell adhesion and induces apoptosis. *J Cell Sci* [Internet]. 2000 Jul [cited 2017 Sep 13];113 ( Pt 13):2385–97. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10852818>
  204. Tait SWG, Green DR. Mitochondria and cell signalling. *J Cell Sci* [Internet]. 2012 Feb 15 [cited 2017 Sep 6];125(Pt 4):807–15. Available from: <http://jcs.biologists.org/lookup/doi/10.1242/jcs.099234>
  205. Estaquier J, Vallette F, Vayssiere J-L, Mignotte B. The Mitochondrial Pathways of Apoptosis. In: *Advances in experimental medicine and biology* [Internet]. 2012 [cited 2017 Sep 6]. p. 157–83. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22399422>
  206. Wang K. Molecular mechanisms of liver injury: Apoptosis or necrosis. *Exp Toxicol Pathol* [Internet]. 2014 Oct [cited 2017 Sep 6];66(8):351–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24867271>
  207. Gómez-Fernández JC. Functions of the C-terminal domains of apoptosis-related proteins of the Bcl-2 family. *Chem Phys Lipids* [Internet]. 2014 Oct [cited 2017 Sep 6];183:77–90. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24892727>
  208. Liu B, Li C, Bian H, Min M, Chen L, Bao J. Antiproliferative activity and apoptosis-inducing mechanism of Concanavalin A on human melanoma A375 cells. *Arch Biochem Biophys* [Internet]. 2009 Feb [cited 2017 Sep 6];482(1–2):1–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19111670>
  209. Liu Z, Li X, Ding X, Yang Y. In silico and experimental studies of concanavalin A: insights into its antiproliferative activity and apoptotic mechanism. *Appl Biochem Biotechnol* [Internet]. 2010 Sep 12 [cited 2017 Sep

- 6];162(1):134–45. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s12010-009-8694-9>
210. Amin ARMR, Paul RK, Thakur VS, Agarwal ML. A novel role for p73 in the regulation of Akt-Foxo1a-Bim signaling and apoptosis induced by the plant lectin, Concanavalin A. *Cancer Res* [Internet]. 2007 Jun 15 [cited 2017 Sep 6];67(12):5617–21. Available from: <http://cancerres.aacrjournals.org/cgi/doi/10.1158/0008-5472.CAN-07-0655>
211. Di Cola A, Frigerio L, Lord JM, Ceriotti A, Roberts LM. Ricin A chain without its partner B chain is degraded after retrotranslocation from the endoplasmic reticulum to the cytosol in plant cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2001 Dec 4 [cited 2017 Sep 7];98(25):14726–31. Available from: <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.251386098>
212. Montanaro L, Sperti S, Mattioli A, Testoni G, Stirpe F. Inhibition by ricin of protein synthesis in vitro. Inhibition of the binding of elongation factor 2 and of adenosine diphosphate-ribosylated elongation factor 2 to ribosomes. *Biochem J* [Internet]. 1975 Jan [cited 2017 Sep 7];146(1):127–31. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/167711>
213. Montanaro L, Sperti S, Stirpe F. Inhibition by ricin of protein synthesis in vitro. Ribosomes as the target of the toxin. *Biochem J* [Internet]. 1973 Nov [cited 2017 Sep 7];136(3):677–83. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4780693>
214. Sperti S, Montanaro L, Mattioli A, Stirpe F. Inhibition by ricin of protein synthesis in vitro: 60 S ribosomal subunit as the target of the toxin. *Biochem J* [Internet]. 1973 Nov [cited 2017 Sep 7];136(3):813–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4360718>
215. Lord MJ, Jolliffe NA, Marsden CJ, Pateman CS, Smith DC, Spooner RA, et al. Ricin. Mechanisms of cytotoxicity. *Toxicol Rev* [Internet]. 2003 [cited 2017 Sep 7];22(1):53–64. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14579547>
216. Rao PVL, Jayaraj R, Bhaskar ASB, Kumar O, Bhattacharya R, Saxena P, et al. Mechanism of ricin-induced apoptosis in human cervical cancer cells. *Biochem Pharmacol* [Internet]. 2005 Mar 1 [cited 2017 Sep 7];69(5):855–65. Available

- from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15710362>
217. Zou L, Zhan J. [Purification and anti-cancer activity of ricin]. *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* [Internet]. 2005 May [cited 2017 Sep 7];34(3):217–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15940787>
  218. Endo Y, Tsurugi K, Franz H. The site of action of the A-chain of mistletoe lectin I on eukaryotic ribosomes. The RNA N-glycosidase activity of the protein. *FEBS Lett* [Internet]. 1988 Apr 25 [cited 2017 Sep 7];231(2):378–80. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3360143>
  219. Lee C-H, Kim J-K, Kim H-Y, Park S-M, Lee S-M. Immunomodulating effects of Korean mistletoe lectin in vitro and in vivo. *Int Immunopharmacol* [Internet]. 2009 Dec [cited 2017 Sep 7];9(13–14):1555–61. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1567576909003002>
  220. Pryme IF, Bardocz S, Pusztai A, Ewen SWB. Suppression of growth of tumour cell lines in vitro and tumours in vivo by mistletoe lectins. *Histol Histopathol* [Internet]. 2006 [cited 2017 Sep 7];21(3):285–99. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16372250>
  221. Hostanska K, Vuong V, Rocha S, Soengas MS, Glanzmann C, Saller R, et al. Recombinant mistletoe lectin induces p53-independent apoptosis in tumour cells and cooperates with ionising radiation. *Br J Cancer* [Internet]. 2003 Jun 2 [cited 2017 Sep 7];88(11):1785–92. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12771996>
  222. Lyu SY, Choi SH, Park WB. Korean mistletoe lectin-induced apoptosis in hepatocarcinoma cells is associated with inhibition of telomerase via mitochondrial controlled pathway independent of p53. *Arch Pharm Res* [Internet]. 2002 Feb [cited 2017 Sep 7];25(1):93–101. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11885700>
  223. Liu B, Bian H, Bao J. Plant lectins: potential antineoplastic drugs from bench to clinic. *Cancer Lett* [Internet]. 2010 Jan 1 [cited 2017 Sep 7];287(1):1–12. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304383509003450>
  224. Liu B, Xu X-C, Cheng Y, Huang J, Liu Y-H, Liu Z, et al. Apoptosis-inducing

- effect and structural basis of Polygonatum cyrtonema lectin and chemical modification properties on its mannose-binding sites. *BMB Rep* [Internet]. 2008 May 31 [cited 2017 Sep 7];41(5):369–75. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18510867>
225. Zhang Z, Peng H, Li C, Liu J, Zhou T-T, Yan Y, et al. Polygonatum cyrtonema lectin induces murine fibrosarcoma L929 cell apoptosis via a caspase-dependent pathway as compared to *Ophiopogon japonicus* lectin. *Phytomedicine* [Internet]. 2010 Dec 15 [cited 2017 Sep 7];18(1):25–31. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20655713>
226. Liu Z, Zhang Q, Peng H, Zhang W. Animal Lectins: Potential Antitumor Therapeutic Targets in Apoptosis. *Appl Biochem Biotechnol* [Internet]. 2012 Oct 24 [cited 2017 Sep 13];168(3):629–37. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22826026>
227. Santarpia L, Lippman SM, El-Naggar AK. Targeting the MAPK-RAS-RAF signaling pathway in cancer therapy. *Expert Opin Ther Targets* [Internet]. 2012 Jan 12 [cited 2017 Sep 13];16(1):103–19. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1517/14728222.2011.645805>
228. Fleet A, Ashworth R, Kubista H, Edwards H, Bolsover S, Mobbs P, et al. Inhibition of EGF-dependent calcium influx by annexin VI is splice form-specific. *Biochem Biophys Res Commun* [Internet]. 1999 Jul 5 [cited 2017 Sep 13];260(2):540–6. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006291X99909154>
229. Francia G, Mitchell SD, Moss SE, Hanby AM, Marshall JF, Hart IR. Identification by differential display of annexin-VI, a gene differentially expressed during melanoma progression. *Cancer Res* [Internet]. 1996 Sep 1 [cited 2017 Sep 13];56(17):3855–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8752144>
230. Srivastava M, Bubendorf L, Srikantan V, Fossom L, Nolan L, Glasman M, et al. ANX7, a candidate tumor suppressor gene for prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2001 Apr 10 [cited 2017 Sep 13];98(8):4575–80. Available from: <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.071055798>
231. Wen X, Wu J, Wang F, Liu B, Huang C, Wei Y. Deconvoluting the role of

- reactive oxygen species and autophagy in human diseases. *Free Radic Biol Med* [Internet]. 2013 Dec [cited 2017 Sep 7];65:402–10. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0891584913003444>
232. Cheng Y, Ren X, Hait WN, Yang J-M. Therapeutic Targeting of Autophagy in Disease: Biology and Pharmacology. *Pharmacol Rev* [Internet]. 2013 Aug 13 [cited 2017 Sep 7];65(4):1162–97. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23943849>
233. Fu L, Cheng Y, Liu B. Beclin-1: Autophagic regulator and therapeutic target in cancer. *Int J Biochem Cell Biol* [Internet]. 2013 May [cited 2017 Sep 7];45(5):921–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23420005>
234. He C, Levine B. The Beclin 1 interactome. *Curr Opin Cell Biol* [Internet]. 2010 Apr [cited 2017 Sep 7];22(2):140–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20097051>
235. Nagelkerke A, Sweep FCGJ, Geurts-Moespot A, Bussink J, Span PN. Therapeutic targeting of autophagy in cancer. Part I: molecular pathways controlling autophagy. *Semin Cancer Biol* [Internet]. 2015 Apr [cited 2017 Sep 7];31:89–98. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1044579X1400073X>
236. Roy B, Pattanaik AK, Das J, Bhutia SK, Behera B, Singh P, et al. Role of PI3K/Akt/mTOR and MEK/ERK pathway in Concanavalin A induced autophagy in HeLa cells. *Chem Biol Interact* [Internet]. 2014 Mar 5 [cited 2017 Sep 7];210:96–102. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009279714000118>
237. Li C-Y, Xu H-L, Liu B, Bao J-K. Concanavalin A, from an old protein to novel candidate anti-neoplastic drug. *Curr Mol Pharmacol* [Internet]. 2010 Nov [cited 2017 Sep 7];3(3):123–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20533895>
238. Choi JH, Lyu SY, Lee HJ, Jung J, Park WB, Kim GJ. Korean mistletoe lectin regulates self-renewal of placenta-derived mesenchymal stem cells via autophagic mechanisms. *Cell Prolif* [Internet]. 2012 Oct [cited 2017 Sep 7];45(5):420–9. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365->

2184.2012.00839.x

239. Biswas MHU, Hasegawa HH, Rahman MA, Huang P, Mon NN, Ruhul Amin ARM, et al. SHP-2-Erk signaling regulates concanavalin A-dependent production of TIMP-2. *Biochem Biophys Res Commun* [Internet]. 2006 Sep 29 [cited 2017 Sep 13];348(3):1145–9. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006291X06017517>
240. Shi Z, Chen J, Li C, An N, Wang Z, Yang S, et al. Antitumor effects of concanavalin A and *Sophora flavescens* lectin in vitro and in vivo. *Acta Pharmacol Sin* [Internet]. 2014 Feb 23 [cited 2017 Sep 13];35(2):248–56. Available from: <http://www.nature.com/doifinder/10.1038/aps.2013.151>
241. Pratt J, Roy R, Annabi B. Concanavalin-A-induced autophagy biomarkers requires membrane type-1 matrix metalloproteinase intracellular signaling in glioblastoma cells. *Glycobiology* [Internet]. 2012 Sep 1 [cited 2017 Sep 13];22(9):1245–55. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22692046>
242. Pratt J, Annabi B. Induction of autophagy biomarker BNIP3 requires a JAK2/STAT3 and MT1-MMP signaling interplay in Concanavalin-A-activated U87 glioblastoma cells. *Cell Signal* [Internet]. 2014 May [cited 2017 Sep 13];26(5):917–24. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S089865681400031X>
243. Pae HO, Oh GS, Kim NY, Shin MK, Lee HS, Yun YG, et al. Roles of Extracellular Signal-Regulated Kinase and p38 Mitogen-Activated Protein Kinase in Apoptosis of Human Monoblastic Leukemia U937 Cells by Lectin-II Isolated from Korean Mistletoe. *In Vitro Mol Toxicol* [Internet]. 2001 Jun [cited 2017 Sep 7];14(2):99–106. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11690563>
244. Yang X, Jiang S, Liu Y, Zhang P, Xie S, Wang G. Recombinant VAA-I from *Viscum album* induces apoptotic cell death of hepatocellular carcinoma SMMC7721 cells. *Molecules* [Internet]. 2012 Sep 26 [cited 2017 Sep 13];17(10):11435–46. Available from: <http://www.mdpi.com/1420-3049/17/10/11435/>
245. Nonaka M, Ma BY, Murai R, Nakamura N, Baba M, Kawasaki N, et al.

- Glycosylation-dependent interactions of C-type lectin DC-SIGN with colorectal tumor-associated Lewis glycans impair the function and differentiation of monocyte-derived dendritic cells. *J Immunol* [Internet]. 2008 Mar 1 [cited 2017 Sep 13];180(5):3347–56. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18292560>
246. Childs RW, Berg M. Bringing natural killer cells to the clinic: ex vivo manipulation. *Hematol Am Soc Hematol Educ Progr* [Internet]. 2013 Dec 1 [cited 2017 Sep 13];2013(1):234–46. Available from: <http://www.asheducationbook.org/cgi/doi/10.1182/asheducation-2013.1.234>
247. Yang X, Wu L, Duan X, Cui L, Luo J, Li G. Adenovirus carrying gene encoding Haliotis discus discus sialic acid binding lectin induces cancer cell apoptosis. *Mar Drugs* [Internet]. 2014 Jun 30 [cited 2017 Sep 14];12(7):3994–4004. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24983642>
248. Wang N, Whang I, Lee J. A novel C-type lectin from abalone, *Haliotis discus discus*, agglutinates *Vibrio alginolyticus*. *Dev Comp Immunol* [Internet]. 2008 Jan [cited 2017 Sep 14];32(9):1034–40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18372041>
249. Recombinant expression of *Polygonatum cyrtoneuma* lectin with anti-viral, apoptosis-inducing activities and preliminary crystallization. *Process Biochem* [Internet]. 2011 Feb 1 [cited 2017 Sep 13];46(2):533–42. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359511310003880>
250. Liu B, Peng H, Yao Q, Li J, Van Damme E, Balzarini J, et al. Bioinformatics analyses of the mannose-binding lectins from *Polygonatum cyrtoneuma*, *Ophiopogon japonicus* and *Liparis noversa* with antiproliferative and apoptosis-inducing activities. *Phytomedicine* [Internet]. 2009 Jun [cited 2017 Sep 13];16(6–7):601–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19200699>
251. Liu Z, Liu B, Zhang Z-T, Zhou T-T, Bian H-J, Min M-W, et al. A mannose-binding lectin from *Sophora flavescens* induces apoptosis in HeLa cells. *Phytomedicine* [Internet]. 2008 Oct [cited 2017 Sep 13];15(10):867–75. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18434118>
252. Zhou W, Gao Y, Xu S, Yang Z, Xu T. Purification of a mannose-binding lectin

- Pinellia ternata agglutinin and its induction of apoptosis in Bel-7404 cells. *Protein Expr Purif* [Internet]. 2014 Jan [cited 2017 Sep 13];93:11–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24135063>
253. Kabir SR, Nabi MM, Haque A, Rokon Uz Zaman RU, Mahmud ZH, Reza MA. Pea lectin inhibits growth of Ehrlich ascites carcinoma cells by inducing apoptosis and G2/M cell cycle arrest in vivo in mice. *Phytomedicine* [Internet]. 2013 Nov 15 [cited 2017 Sep 13];20(14):1288–96. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0944711313002377>
254. Deepa M, Sureshkumar T, Satheeshkumar PK, Priya S. Purified mulberry leaf lectin (MLL) induces apoptosis and cell cycle arrest in human breast cancer and colon cancer cells. *Chem Biol Interact* [Internet]. 2012 Oct 25 [cited 2017 Sep 13];200(1):38–44. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22982777>
255. Faheina-Martins G V, da Silveira AL, Cavalcanti BC, Ramos M V, Moraes MO, Pessoa C, et al. Antiproliferative effects of lectins from *Canavalia ensiformis* and *Canavalia brasiliensis* in human leukemia cell lines. *Toxicol In Vitro* [Internet]. 2012 Oct [cited 2017 Sep 13];26(7):1161–9. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0887233312001919>
256. Fang EF, Zhang CZY, Wong JH, Shen JY, Li CH, Ng TB. The MAP30 protein from bitter melon (*Momordica charantia*) seeds promotes apoptosis in liver cancer cells in vitro and in vivo. *Cancer Lett* [Internet]. 2012 Nov 1 [cited 2017 Sep 13];324(1):66–74. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S030438351200287X>
257. Fang EF, Zhang CZY, Ng TB, Wong JH, Pan WL, Ye XJ, et al. Momordica Charantia lectin, a type II ribosome inactivating protein, exhibits antitumor activity toward human nasopharyngeal carcinoma cells in vitro and in vivo. *Cancer Prev Res (Phila)* [Internet]. 2012 Jan 1 [cited 2017 Sep 13];5(1):109–21. Available from: <http://cancerpreventionresearch.aacrjournals.org/cgi/doi/10.1158/1940-6207.CAPR-11-0203>
258. Polito L, Bortolotti M, Farini V, Battelli MG, Barbieri L, Bolognesi A. Saporin induces multiple death pathways in lymphoma cells with different intensity and

- timing as compared to ricin. *Int J Biochem Cell Biol* [Internet]. 2009 May [cited 2017 Sep 13];41(5):1055–61. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1357272508004020>
259. Miyoshi N, Koyama Y, Katsuno Y, Hayakawa S, Mita T, Ohta T, et al. Apoptosis induction associated with cell cycle dysregulation by rice bran agglutinin. *J Biochem* [Internet]. 2001 Dec [cited 2017 Sep 13];130(6):799–805. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11726280>
260. Schneider JL, Cuervo AM. Autophagy and human disease: emerging themes. *Curr Opin Genet Dev* [Internet]. 2014 Jun [cited 2017 Sep 13];26:16–23. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24907664>