

О.М. Караман
Н.І. Федосова
І.М. Восійкова
Н.Л. Черемшенко
А.В. Іванченко
З.Д. Савцова

Інститут експериментальної
патології, онкології
і радіобіології
ім. Р.Є. Кавецького
НАН України, Київ, Україна

Ключові слова: лектини, глікокон'югати мембран пухлинних клітин, диференційна діагностика, моніторинг агресивності пухлини, цитотоксична активність, інгібування проліферації.

ПЕРСПЕКТИВИ ВИКОРИСТАННЯ ЛЕКТИНІВ ДЛЯ ДІАГНОСТИКИ І ЛІКУВАННЯ ЗЛОЯКІСНИХ НОВОУТВОРЕНЬ

Мета огляду — узагальнити та проаналізувати дані щодо характеристики лектинів (Л), можливих джерел їх виділення, біологічних функцій та механізмів дії на клітини, завдяки яким Л можна застосовувати в діагностиці та терапії при злоякісних новоутвореннях. Передумовами застосування Л в онкології є особливості глікокон'югатів поверхневих мембран пухлинних клітин (ПК) — посилення процесів фукозилювання і сіалування глікану. Здатність Л взаємодіяти з ізоформами низки пухлинних антигенів дозволяє проводити диференційну діагностику, моніторинг ефективності лікування, прогнозувати перебіг захворювання. Для багатьох Л продемонстровано in vitro цитотоксичну активність щодо ПК, а також здатність інгібувати in vivo ріст модельних пухлин. Є відомості щодо клінічної ефективності додаткового застосування Л омили при лікуванні пацієнтів зі злоякісними новоутвореннями молочної залози, тіла матки, легень, шлунка, підшлункової залози. Проаналізована інформація свідчить про перспективність подальших досліджень щодо використання Л у клінічній онкологічній практиці.

Вивчення лектинів (Л) розпочалося більше століття тому, коли вперше було виділено рослинні білки, які викликали аглютинацію еритроцитів та характеризувалися винятковою властивістю зв'язувати цукри. Власне термін «лектин» (від лат. *legere* — збирати) ввели в 1954 р. Вільямс Бойд та Елізабет Шаплей [1], об'єднавши під такою назвою рослинні аглютиніни (так звані фітогемаглютиніни) в одну групу. У подальшому дослідники у своїх роботах сфокусувалися на виділенні Л з різних організмів (рослин, тварин, мікроорганізмів (віруси, гриби, водорості, бактерії)), вивченні біологічної ролі і механізмів дії цих білків, можливості їх застосування в різних галузях людської діяльності [2–4]. Останні роки значно активізувалися дослідження щодо можливостей і перспектив використання Л в біотехнології, зокрема при розробці методів і заходів для діагностики та лікування пацієнтів зі злоякісними новоутвореннями. Метою цього огляду є узагальнення та аналіз даних щодо характеристики Л, можливих джерел їх виділення, біологічних функцій та механізмів дії на клітини, завдяки яким Л можна застосовувати в діагностиці та терапії при злоякісних новоутвореннях.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЛЕКТИНІВ

Згідно з сучасною інформацією про специфічні властивості Л та механізми їх дії під терміном «лектин» розуміють специфічні білки, які здатні вибірково зв'язувати вуглеводи та вуглеводні компоненти глікокон'югатів різної природи. Причому вуглеводвмісний білок (незалежно від походження) можна віднести до Л за умови його одночасної від-

повідності таким критеріям: 1) зв'язує вуглеводні; 2) має неімунне походження, тобто не є антитілом; 3) не модифікує біохімічно зв'язані з ним вуглеводи (тобто не має специфічної глікоферментативної активності) [5]. Зазначені критерії дозволяють виключати специфічні вуглеводні антитіла, певні ліпіди, таніни, глікозилтрансферази, глікозидази та інші ферменти.

Різноманіття Л у природі зумовлює різні підходи до класифікації цих білків, зокрема з урахуванням походження Л, послідовності та структурної гомології, природи взаємодії глікану та Л, полівалентності, типу природних лігандів, біосинтезу та рухливості молекул тощо [6–8]. Найбільш важливими вважаються класифікації, які ґрунтуються на вуглеводній специфічності Л. Так, згідно з [9] Л розподіляються на 9 груп за специфічністю до таких моносахаридів: L-фукоза; N-ацетил-D-глюкозамін; N-ацетил-D-галактозамін; D-галактоза; N-ацетил-D-галактозамін і D-галактоза; D-глюкоза; β-N-ацетил-D-глюкозамініди; D-манноза, D-глюкоза, N-ацетил-D-глюкозамін; N-ацетилнейрамінова кислота. Однак така класифікація не враховує тонкої специфічності Л до олігосахаридів. Згідно з класифікацією [10] за специфічністю лігандів виділяють 4 підгрупи Л: глюкозо/маннозозв'язуючі Л; Л, що зв'язують галактозу та N-ацетил-D-галактозаміни; L-фукозозв'язуючі Л; Л, що зв'язують сіалові кислоти. Ще один підхід до класифікації ґрунтується на еволюційних ознаках Л та виділяє їх 2 основні типи: Л, які мають структурну та еволюційну подібність послідовностей; Л без наявності встановленої еволюційної послідовності. Як видно, єдиного під-

ходу щодо класифікації Л не існує, тому при характеристиці нових лектиноподібних речовин необхідно найбільш чітко та повно охарактеризувати їх вуглеводну специфічність. На сьогодні створена і функціонує загальнодоступна база «Lectin Frontier Data Base (LfDB)», яка містить фундаментальну інформацію про детальні олігосахаридні особливості різних Л. Ця база постійно поповнюється, оновлюються дані про лектин-стандартні олігосахаридні взаємодії з точки зору констант дисоціації (Kd), для визначення яких використовується система фронтальної афінної хроматографії. За допомогою останньої були сформовані кількісні набори таких взаємодій між іммобілізованими Л і 100 флуоресцентно міченими стандартними гліканами [11].

Як вже зазначалося, джерелом для виділення Л можуть слугувати різні об'єкти. Найбільш привабливими є ті, які мають технологічні переваги: біодоступність об'єкта, легкість у культивуванні, синтез Л у достатній для застосування кількості, стабільність синтезованого Л тощо. За даними різних авторів [4, 12–14], отримання Л із тваринної сировини або свіжих плодівих тіл грибів обмежене необхідністю збільшення кількості вихідної сировини у зв'язку з низьким вмістом власне Л. Найкращим джерелом отримання Л (з погляду практичності біотехнологічного процесу для промислового виробництва) є рослини або мікроорганізми. Відомо, що вміст Л в різних частинах рослин, а також різних сортах одного виду різний. Так, наприклад, зі 100 г бульби Ремусатії живородящої можна отримати 390 мг очищеного Л [15], зі 100 г коріння астрагалу — 75 мг [16], а зі 100 г насіння гібіскусу — лише 3,3 мг [4]. Досить велика кількість Л міститься в насінні багатьох бобових, зокрема різних сортів квасолі (остання активно використовується для отримання Л). Серед Л бактеріального походження особливу увагу привертають позаклітинні Л (їх виділення не потребує накопичення значної кількості мікробної біомаси), а саме, отримані з середовища росту бактерій родини *Bacillus* [2, 17]. Так, за даними [2], у результаті скринінгу виділених із різних екологічних ніш (кров людини, шлунково-кишковий тракт людини, сільськогосподарських або лабораторних тварин, ґрунт, лікувальні грязі, гусінь шовкопряда, філосфера яблуні, музейні культури) 310 культур (15 видів) бацил позаклітинні Л продукували 90. Найвищою лектиновою активністю характеризувалися штами, виділені з організму людини.

Як вже зазначалося, Л — поліфункціональні білки, які проявляють високу вуглеводну специфічність, що і зумовлює їх різноманітні біологічні функції. Так, у рослинах функції Л можна розділити на внутрішні та зовнішні. Зовнішня функція полягає у захисті рослини від комах і грибків. Внутрішня — переважно в участі у транспортуванні цукру або зберіганні вуглеводів, а також активації ферментативних процесів [5]. Л тварин пов'язані з більшим широким колом функцій, включаючи кліренс суль-

фатного глікопротеїну, контроль міграції лімфоцитів, контроль біосинтезу глікопротеїнів, індукцію апоптозу, індукцію ангиогенезу, активацію комплексу, лектинофагоцитоз, мітогенну активність, модуляцію клітинних і клітинно-субстратних взаємодій (у тому числі пухлинні клітини), модуляцію сигнальної трансдукції В-лімфоцитами, мієлінацію нейронів та регенерацію, взаємодію між сперматозоїдами та яйцеклітиною, орієнтацію глікопротеїнів на лізосоми клітин [18]. У мікроорганізмах функції Л пов'язують із посиленням мікробної інфекції, грибкового паразитизму, розпізнаванням хоста, флокуляцією дріжджів, механізмами захисту, розвитку та морфогенезу [18, 19].

З часів відкриття Л з'явилася та продовжує існувати і на сьогодні окрема галузь науки про Л — лектинологія, дослідження якої спрямовані на виявлення нових аспектів застосування цих білків [20]. Л знайшли широкий спектр використання у цито-, гісто- та імунохімії для виявлення та характеристики глікозилізованих залишків, а також різних глікокон'югатів у клітинах людини і тварин та поверхні тканин [21]. Запропоновано технологію антитіло-лектинового сендвіча (ALSA) для вирішення проблем специфічності та чутливості імуноферментного аналізу [22–24].

Здатність Л до специфічного і вибірково спрямованого зв'язування лише з певними вуглеводними залишками з високою чутливістю відкриває перспективи застосування цих білків у галузі фармацевтичних наук. Як зазначено вище, в останні десятиліття з'являється все більше робіт щодо використання Л для діагностики та лікування раку [3, 25–27].

МОЛЕКУЛЯРНІ ОСНОВИ ТРОПІЗМУ ЛЕКТИНІВ ДО ПУХЛИННИХ КЛІТИН

Можливість застосування Л в онкології зумовлюють зміни вуглеводних компонентів клітинних мембран пухлин. Відомо, що до складу пухлинних антигенів входять вуглеводні структури мембранних глікопротеїнів, гліколіпідів та полісахаридів. На різних стадіях онкогенезу (зокрема злоякісна трансформація, диференціювання ПК, метастазування) відбувається зміна структури мембранних глікокон'югатів [28, 29]. Показано, що такі зміни можуть бути результатом порушення синтезу специфічних глікозилтрансфераз [30], а також гіпо- або гіперекспресії певних гліканових структур, появи неповних, скорочених або нових структур [31] тощо. Аберантна глікозиляція відіграє фундаментальну роль у ключових стадіях розвитку та прогресії пухлин. Глікани беруть участь у сигналізації пухлинних клітин (ПК), їх дисоціації та інвазії, клітинноматриксних взаємодіях, ангиогенезі, метастазуванні та імуномодуляції. Аберантне глікозилювання часто називають «відмітною ознакою раку» [32].

В огляді [3] узагальнено дані щодо основних змін гліканів, які часто виявляються на ПК. Так, напри-

клад, на клітинах пухлинного матеріалу хворих та/або клітинних лініях раку щитоподібної залози, головного мозку, легені, молочної залози, шлунка, яєчника, колоректальної аденокарциноми, лейкемії людини найбільш часто відмічали підвищену експресію α -L-фукози, а також підвищену експресію таких ферментів, як фукозилтрансфераза 8, гуанозин-дифосфат-L-фукосинтетаза, α 1–6 фукозилтрансфераза. Підвищену експресію антигену Thomsen — Friedenreich (T-Ag) та його сіалованих форм, сіаловані форми Lewis A/X антигенів відмічають на клітинах раку товстої кишки; підвищення рівня α 2–3-зв'язаної сіалової кислоти — на клітинах раку молочної залози. Збільшення сіалування, як правило, виявляється як специфічне збільшення 2–6-зв'язаних сіалових кислот, приєднаних до зовнішніх одиниць N-ацетиллактозаміну (Galp1–4GlcNAc), або до внутрішніх блоків GalNAc- α 1-O-Ser/Thr на O-гліканах [31]. Показано, що структура глікану альфа-фетопротеїну (АФП), який секретується клітинами гепатоцелюлярної карциноми (ГЦК), відмінна від структури цього антигену при непухлинних запальних процесах печінки (цирозу печінки, фульмінантного гепатиту): відбувається α -1,6-фукозилювання всередині N-ацетилглюкозамінового залишку за рахунок підвищеної активності α -1,6-фукозилтрансферази [33]. Таким чином, фукозилювання (перенесення залишків фукози до олігосахаридів, зв'язаних з білками або ліпідами) та/або сіалування (перенесення залишків сіалової кислоти у кінцеву позицію гліканових ланцюгів) є одними з найбільш відомих та частих модифікацій глікану на ПК; причому зазначені зміни в білковому глікозилюванні є відмінною ознакою ПК порівняно з нормальними клітинами. Вважають, що такі перебудови відіграють важливу роль у пухлинній прогресії, захищають ПК від апоптозу, підвищують їх метастатичний потенціал, забезпечують лікарську резистентність, а також корелюють із поганим прогнозом [3]. Так, у роботі [34] показано, що наявність на клітинах гліоми C6 D-галактози, N-ацетилглюкозаміну, N-ацетилгалактозаміну, α -фукози і нейрамінової кислоти асоціюється з підвищенням туморогенності цих клітин, а також скороченням середньої тривалості життя експериментальних тварин із пухлиною. Відомості щодо гліканової перебудови поверхневої мембрани ПК спонукали до проведення досліджень із використанням Л в якості діагностичних та протипухлинних засобів.

ВИКОРИСТАННЯ ЛЕКТИНІВ ДЛЯ ДІАГНОСТИКИ ЗЛОЯКІСНИХ НОВОУТВОРЕНЬ, А ТАКОЖ ЯК РЕЧОВИН ІЗ ПРОТИПУХЛИННОЮ ДІЄЮ

В оглядах [35, 36] узагальнено дані щодо існуючих на сьогодні методів (які основані на високій селективності та специфічності Л до структурно змі-

нених гліканів антигенів ПК) для пошуку нових або виявлення відмінностей у вже відомих пухлинних біомаркерах з метою раннього виявлення, діагностики та прогнозування перебігу пухлинного захворювання. Зокрема, це лектин-імобілізована афінна хроматографія, ферментзв'язаний лектиновий аналіз (ALSA), лектинова гістохімія, лектиновий блотт-аналіз та лектиновий метод Аггау тощо.

Одним з успішних прикладів застосування Л в діагностиці злоякісних новоутворень є використання специфічного до α 1–6-фукози Л сочевиці для діагностики ГЦК. Показано, що цей Л зв'язується з соге-фукозилюваною глікоформою АФП — АФП-L3, яка є специфічною ізоформою глікопротеїну злоякісних пухлин. Показано, що високий рівень у сироватці крові хворих на ГЦК АФП-L3 на фоні низьких концентрацій загального АФП свідчить про більш агресивну форму такої пухлини [37], а підвищення співвідношення АФП-L3/АФП^{загальний} вказує на поганий прогноз [38]. Проведений метааналіз щодо ефективності застосування АФП-L3 замість АФП для діагностики ГЦК показав, що загальна чутливість методу становить 0,483 (95% довірчий інтервал (ДІ) 0,459–0,507), загальна специфічність — 0,929 (95% ДІ 0,916–0,940), тобто посилення специфічності призвело до втрати чутливості [39]. Авторами зроблений висновок про доцільність використання АФП-L як додаткового до АФП маркера при ГЦК. Для діагностики ГЦК розроблено комерційний набір для клінічного застосування з визначенням рівня сироваткового АФП-L3 [40]. Запропонований тест швидко став цінною клінічною альтернативою більш дорогим та складним методам, зокрема КТ-скануванню та магнітно-резонансній томографії [41]. Сьогодні діагностика ГЦК з використанням Л сочевиці затверджена FDA як клінічний діагностичний інструмент цієї злоякісної пухлини та використовується провідними центрами лікування раку в США, а також введена в медичне страхування японської медичної служби [42, 43].

Проведено дослідження щодо використання взаємодії Л сочевиці/АФП-L3 для діагностики та моніторингу активності пухлини яєчка [44]. Серед 21 пацієнта (гістологічно підтверджені непіноматозні пухлини — у 15 хворих, чисті семіноми — у 6) підвищений рівень АФП-L3 спостерігали у 94%. У 3 пацієнтів рівень АФП-L3 залишався підвищеним навіть після нормалізації загального рівня АФП. Захворювання у всіх цих пацієнтів рецидивувало протягом декількох місяців. Автори роблять висновок про доцільність визначення АФП-L3, рівень якого може бути корисним маркером агресивності пухлини яєчка у пацієнтів із низьким рівнем загального АФП.

Використання афінної колонки з Л бузини чорної дозволило виокремити різні глікоформи (відповідно до типів зв'язків сіалової кислоти) сироваткового простатспецифічного антигену (ПСА) [45]. По-

казано, що у пацієнтів із доброякісною гіперплазією передміхурової залози з високим ризиком виникнення раку виявляється підвищений рівень 2,3-сіалованого ПСА порівняно з пацієнтами з низьким ризиком. Специфічність Л улексу європейського до 1,2-зв'язаних залишків фукози використовували для виявлення за допомогою ферментзв'язаного лектинового аналізу фукозилізованої форми сироваткового загального ПСА. За даними [46], рівень фукозилізованої форми загального ПСА у сироватці крові хворих на рак передміхурової залози був достовірно вищий за такий показник у пацієнтів із доброякісною гіперплазією передміхурової залози. Таким чином, виявлення різних глікоформ ПСА дозволяє провести як диференційну діагностику між доброякісним та злоякісним процесами в передміхуровій залозі, так і спрогнозувати перебіг захворювання.

У дослідженні [47] повідомлено про використання ферментзв'язаного аналізу Л арахісу для оцінки рівня сіалованих форм Т-Аг у сироватці хворих на плоскоклітинну карциному шийки матки, до і після променевої терапії. Дослідження показали значно вищий вихідний рівень сіалованого Т-Аг у сироватці пацієнтів порівняно зі здоровими особами; експресія такої форми Т-Аг була прямо пропорційна агресивності раку.

Відомо, що більшості Л притаманна цитотоксична активність, що робить їх перспективними терапевтичними кандидатами. Протипухлинна дія Л може реалізовуватися через різні механізми: апоптоз, аутофагію, інгібування проліферації ПК тощо [48].

Один із перших Л, для якого була показана протипухлинна активність, — рицин. Цей Л був виділений із насіння касторових рослин, на його прикладі було продемонстровано механізми, завдяки яким Л можуть цілеспрямовано зв'язуватися та викликати загибель клітин [49]. Рицин — гетеродимер, який складається з двох різних N-глікозилізованих поліпептидних ланцюгів (А та В), що з'єднані дисульфідним зв'язком [50]. Ланцюг А відіграє роль ферменту, який незворотно інактивує рибосомні субодиниці ссавців 60S, що в подальшому запобігає синтезу білка [51]. Ланцюг В виконує функцію орієнтованого ліганда шляхом спеціального розпізнавання залишків галактозилу на поверхні клітин. Внаслідок зв'язування ланцюга В з β 1–4-зв'язаними галактозилвмісними глікопротеїнами відбувається поглинання клітиною рицину шляхом ендцитозу [52]. У роботі [53] показано, що рицин здатен селективно проявляти цитотоксичну активність *in vitro* стосовно клітин K562 (лейкоз) та SW480 (рак товстої кишки людини), а також індукувати апоптоз HeLa (клітини раку шийки матки людини) через активацію каспази 3 та фрагментацію ДНК [54].

Л омели також належать до сімейства інактивованих білків. Ці Л за специфічністю лігандів розділені на 3 основні типи: I, II та III. Подібно до ри-

цину, Л омели складаються з двох поліпептидних ланцюгів: ланцюг А інгібує синтез білка, блокуючи етап подовження молекули останнього через каталізуючий гідроліз N-глікозидного зв'язку при аденіні 4324 28S рРНК у рибосомі [55]; ланцюг В відповідає за імуномодулювальну активність за рахунок секреції цитокінів та посилення активності природних кілерів [56]. Л омели I типу зв'язує лактозу, D-галактозу та сіалові кислоти, тоді як Л II та III типу — лише сіалові кислоти [57–59]. На сьогодні найбільш вивченим є Л омели I типу. Показано, що цей Л проявляє виражений антипроліферативний ефект стосовно клітин раку молочної залози, печінки, легені, меланоми, лейкемії людини [60, 61]. У роботі [62] узагальнено результати доклінічного та клінічного використання Л омели при раку молочної залози. Показано, що Л омели індукують загибель ПК шляхом апоптозу через активацію каспаз 8, 9 і 3, знижуючи регуляцію білка Bcl-2 та інгібіцію активності теломерази [63–65].

Цитотоксичну активність щодо різних культур ПК показано і для Л пінелії трійчастої: фіксували інгібування росту клітин саркоми 180, HeLa (клітини раку шийки матки людини), K562 на 85,2; 74,6 та 59,4% відповідно. При цьому показано, що Л пінелії інгібує проліферацію ПК, запобігаючи переходу від G1 до S-фази, внаслідок чого клітина з G1 переходить у стан спокою (фаза G0), тобто відбувається арешт циклу поділу клітин [66].

У системах *in vitro* та *in vivo* для Л канавалії (конканавалін А) та софори була показана протипухлинна активність проти клітин MCF-7 (рак молочної залози людини) та індукованих цими клітинами у *nude* мишей пухлин [67]. Щоденне введення (протягом 14 діб) мишам з пухлинами Л канавалії (40 мг/кг, внутрішньоперитонеально) або Л софори (55 мг/кг, внутрішньоперитонеально) призводило до зменшення об'єму модельних пухлин на 67,21 і 49,18%, а також зниження їх маси на 56,98 та 38,37% відповідно. При цьому як конканавалін А, так і Л софори залежно від дози індукували підвищення активності каспази 3, 9 і цитохрому С. Додавання *in vitro* до клітин гліоми С6 конканавалін А-подібного маннозо/глюкозоспецифічного Л, виділеного з насіння *Canavalia bonariensis*, призводило до зниження ПК життєздатності та здатності до міграції шляхом індукції аутофагії і клітинної смерті. Причому за допомогою моделювання молекулярної взаємодії (molecular docking) показано, що біологічна активність цього Л реалізується переважно через взаємодію з глікопротеїнами, оскільки Л добре взаємодіє з кількома N-гліканами, особливо високоманнозного типу [68].

Л бульб діоскорей чинив виражену антипроліферативну дію *in vitro* проти клітин MCF-7 та HepG2 (рак печінки людини) [69].

Л, отримані з різних родів і видів грибів, показали значну антипроліферативну активність як *in vitro*, так і *in vivo* [70, 71]. Л *Agaricus bisporus* зв'язує Т-Аг

і діє як зворотний нецитотоксичний інгібітор проліферації епітеліальних клітин [72]. При додаванні цього Л до клітин HT29 (колоректальна аденокарцинома людини) спостерігали виражене інгібування (до 87%) інкорпорації [3H]-тимідину, яке безпосередньо корелює з інгібуванням проліферації цих клітин. Л *Agaricus bisporus* інгібував на 50% проліферацію клітин MCF-7. Подібні ефекти інгібування проліферації ПК ліній HerG2 і MCF-7 було показано для Л *Russula lepida*, інуліну та О-нітрофеніл-Р-D-галактопіранозидзв'язуючого Л [13]. Показано, що Л *Agroclybe aegerita* також зв'язує Т-Аг і може інгібувати *in vitro* проліферацію ПК різних ліній, зокрема HeLa, SW480, а також SGC-7901, MGC80-3, BGC-823 (рак шлунка), HL-60 (гостра промієлоцитарна лейкемія), S-180 (саркома мишей). Показано гальмування цим Л росту пухлин S-180 *in vivo* у мишей BALB/c. Протипухлинна активність даного Л реалізується в основному через апоптоз та активність ДНКаз [73, 74].

У роботі [75] запропоновано модель індукції Л рослин запрограмованої клітинної смерті. Л рослин можуть ініціювати загибель клітин за допомогою трьох основних шляхів: прямої інактивації рибосом; ендоцитоззалежної дисфункції мітохондрій; і/або зв'язування рецепторів, що містять цукор. Причому у цій моделі такі шляхи тісно взаємопов'язані. Наприклад, Л омели (сімейство рицин-В аглютининів, мають у складі А- та В-ланцюги), зв'язуються з рецепторами мембран перед інактивуванням рибосом. Конканавалін А (найбільш досліджений Л із сімейства бобових аглютининів) може зв'язуватися з рецепторами матричних металопротеїназ на клітинній мембрані для інгібування ангиогенезу, встановлювати імунологічну пам'ять, а також індукувати клітинну загибель шляхом ендоцитозу (ендоцитоззалежна клітинна загибель пов'язана зі зв'язуванням Л із зовнішньою мембраною мітохондрій). Л з купини аптечної (сімейство проліска білосніжного аглютининів) зв'язуються з Fas-рецептором, ініціюючи каспаззалежний апоптоз; водночас їх зв'язування з рецептором епідермального фактора росту (EGFR) інгібує як апоптоз, так і аутофагію клітин.

Інформація щодо ефективності терапевтичного використання Л у пацієнтів зі злякисними новоутвореннями обмежена (за даними проведеного нами пошуку у базі даних PubMed) результатами вивчення різних параметрів клінічної дії лише Л омели. Найбільша кількість проспективних і контрольованих клінічних досліджень різного рівня стосується результативності застосування Л омели у хворих на рак молочної залози [62, 76, 77]. У декількох дослідженнях вивчали вплив Л омели на загальну виживаність, якість життя та психосоматичну саморегуляцію хворих на рак тіла матки (у тому числі з віддаленими метастазами) [78], недрібноклітинний рак легені (стабілізація захворювання після хіміотерапії) [79] та рак шлунка (після хірургічного лікування) [80]. Дані про вплив цього Л на трива-

лість життя досить суперечливі як при його застосуванні в комбінації з традиційними цитотоксичними протипухлинними препаратами, так і в якості монопрепарату в 2-й лінії терапії. Лише в деяких клінічних випробуваннях [62, 77, 78] виявлено статистично достовірний вплив лектинотерапії на параметри загальної виживаності. Проте практично всі дослідники відмічали у пацієнтів, що одержували Л омели, підвищення показників якості життя, зменшення токсичних ефектів хіміотерапії, покращення психосоматичної регуляції як автономної складової лікування хворих зі злякисними пухлинами. Заслужують на увагу результати рандомізованого клінічного дослідження ІІ фази, в якому вивчено ефективність застосування Л омели у пацієнтів з місцево-поширеним або метастатичним раком підшлункової залози. Перший аналіз даних показав статистично суттєве і клінічно значуще зменшення симптомів захворювання та подовження загальної тривалості життя пацієнтів, що одержували лектинотерапію в 2-й лінії лікування [81].

Таким чином, проаналізована інформація свідчить про перспективність подальших досліджень щодо використання Л у клінічній онкологічній практиці. Здатність специфічно зв'язуватися з вуглеводами ПК може стати підґрунтям для застосування Л як векторів для цілеспрямованої доставки препаратів та біотерапевтичних засобів до пухлини.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. **Boyd WC, Shapleigh E.** Specific precipitating activity of plant agglutinins (lectins). *Science* 1954; **119**: 419.
2. **Podgorskii VS, Kovalenko EA, Karpova IS, et al.** Extracellular lectins from Saprophytic strains of bacteria of the genus *Bacillus* (review). *Appl Biochem Microbiol* 2014; **50** (3): 256–63 (in Russian).
3. **Coulbaly FS, Youan Bi-BC.** Current status of lectin-based cancer diagnosis and therapy. *AIMS Mol Sci* 2017; **4** (1): 1–27.
4. **Lam SK, Ng TB.** Lectins: production and practical applications. *Appl Microbiol Biotechnol* 2011; **89**: 45–55.
5. **Rudiger H, Gabius HJ.** Plant lectins: occurrence, biochemistry, functions and applications. *Glycoconj J* 2001; **18**: 589–613.
6. **Varki A, Etzler ME, Cummings RD, et al.** Discovery and classification of glycan-binding proteins. In: *Essentials of Glycobiology*, 2 Eds. *A Varki, RD Cummings, JD Esko, et al.*, eds. New York: Cold Spring Harbor (Laboratory Press), 2008. 784 p.
7. **Fujimoto Z, Tateno H, Hirabayashi J.** Lectin structures: classification based on the 3-D structures. *Methods Mol Biol* 2014; **1200**: 579–606.
8. **Jayawardena HS, Wang X, Yan M.** Classification of lectins by pattern recognition using glyconanoparticles. *Anal Chem* 2013; **85**: 10277–81.
9. **Lakhtin VM.** Lectins in the study of proteins and carbohydrates. *Res Science Technol Biotechnol*, 1987. 287 p. (in Russian).
10. **Kumar KK, Chandra KL, Sumanthi J, et al.** Biological role of lectins: a review. *J Orofac Sci* 2012; **4**: 20–5.
11. **Hirabayashi J, Tateno H, Shikanai T, et al.** The lectin frontier database (LfDB), and Data generation based on frontal affinity chromatography. *Molecules* 2015; **20**: 951–73.
12. **Suzuki T, Amano Y, Fujita M, et al.** Purification, characterization, and cDNA cloning of a lectin from the mushroom *Pleurocybella porrigens*. *Biosci Biotechnol Biochem* 2009; **73**: 702–9.

13. Zhang G, Sun J, Wang H, Ng TB. First isolation and characterization of a novel lectin with potent antitumor activity from a *Russula* mushroom. *Phytomedicine* 2010; **17**: 775–81.
14. Zhao JK, Wang HX, Ng TB. Purification and characterization of a novel lectin from the toxic wild mushroom *Inocybe umbrinella*. *Toxicon* 2009; **53**: 360–6.
15. Bhat GG, Shetty KN, Nagre NN, *et al.* Purification, characterization and molecular cloning of a monocot mannose-binding lectin from *Remusatia vivipara* with nematocidal activity. *Glycoconj J* 2010; **27**: 309–20.
16. Yan Q, Jiang Z, Yang S, *et al.* A novel homodimeric lectin from *Astragalus mongholicus* with antifungal activity. *Arch Biochem Biophys* 2005; **442**: 72–81.
17. Podgorskii VS, Kovalenko EA, Simonenko IA. Lectins of bacteria. Kiev: Naukova Dumka, 1992. 202 p. (in Russian).
18. Nathan Sharon HL. Lectins: functions. Springer Science & Business Media, 2007: 333–66.
19. Varrot A, Basheer SM, Imberty A. Fungal lectins: structure, function and potential applications. *Curr Opin Struct Biol* 2013; **23**: 678–85.
20. Bies C, Lehr CM, Woodley JF. Lectin-mediated drug targeting: history and applications. *Adv Drug Deliv Rev* 2004; **56**: 425–35.
21. Santos AFS, da Silva MDC, Napoleao TH, *et al.* Lectins: Function, structure, biological properties and potential applications. *Curr Top Pept Protein Res* 2014; **15**: 41–62.
22. Haab BB. Using lectins in biomarker research: addressing the limitations of sensitivity and availability. *Proteomics Clin Appl* 2012; **6**: 346–50.
23. Haab BB. Antibody-lectin sandwich arrays for biomarker and glycobiology studies. *Expert Rev Proteomics* 2010; **7**: 9–11.
24. Haab BB, Yue T. High-throughput studies of protein glycoforms using antibody-lectin sandwich arrays. *Methods Mol Biol* 2011; **785**: 223–36.
25. De Mejia EG, Prisecaru VI. Lectins as bioactive plant proteins: a potential in cancer treatment. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2005; **45**: 425–45.
26. Vojdani A. Lectins, agglutinins, and their roles in autoimmune reactivities. *Altern Ther Health Med* 2015; **21** (Suppl 1): 46–51.
27. Vincent J, van Buul FJPHB. Health effects of wheat lectins: A review. *J Cereal Sci* 2014; **59**: 112–7.
28. Mody R, Joshi S, Chaney W. Use of lectins as diagnostic and therapeutic tools for cancer. *J Pharmacol Toxicol Methods* 1995; **33**: 1–10.
29. Tuccillo FM, de Laurentiis A, Palmieri C, *et al.* Aberrant glycosylation as biomarker for cancer: focus on CD43. *Bio Med Res Int* 2014; **2014**: 1–13.
30. Hakomori S. Tumor malignancy defined by aberrant glycosylation and sphingoglycolipid metabolism. *Cancer Res* 1996; **56** (23): 5309–18.
31. Varki A, Kannagi R, Toole BP. Glycosylation changes in cancer. In: *Essentials of Glycobiology*, 2 Eds. A Varki, RD Cummings, JD Esko, *et al.*, eds. New York: Cold Spring Harbor (Laboratory Press), 2008. 784 p.
32. Munkley J, Elliott DJ. Hallmarks of glycosylation in cancer. *Oncotarget* 2016; **7** (23): 35478–89.
33. Aoyagi Y. Molecular discrimination between alpha-fetoprotein from patients with hepatocellular carcinoma and nonneoplastic liver-diseases by their carbohydrate structures (review). *Int J Oncol* 1994; **4**: 369–83.
34. Gnedkova IA, Lisyany NI, Stanetskaya DN, *et al.* Lectin-binding and tumorigenic properties of glioma C6 cells. *Oncology* 2015; **17** (1): 4–11 (in Russian).
35. Hashim OH, Jayapalan JJ, Lee C-S. Lectins: an effective tool for screening of potential cancer biomarkers. *Peer J* 2017; **5**: e3784.
36. Kang JG, Ko J-H, Kim Y-S. Application of cancer-associated glycoforms and glycan-binding probes to an *in vitro* diagnostic multivariate index assay for precise diagnoses of cancer. *Proteomics* 2016; **16** (24): 3062–72.
37. Li D, Mallory T, Satomura S. AFP-L3: a new generation of tumor marker for hepatocellular carcinoma. *Clin Chim Acta* 2001; **313**: 15–9.
38. Oka H, Saito A, Jumada T, *et al.* Multicenter prospective analysis of newly diagnosed hepatocellular carcinoma with respect to the percentage of *Lens culinaris* agglutinin-reactive alpha-fetoprotein. *J Gastroenterol Hepatol* 2001; **16**: 1378–83.
39. Yi X, Yu S, Bao Y. Alpha-fetoprotein-L3 in hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *Clin Chim Acta* 2013; **425**: 212–20.
40. Shimizu K, Taniichi T, Satomura S, *et al.* Establishment of assay kits for the determination of microheterogeneities of alpha-fetoprotein using lectin-affinity electrophoresis. *Clin Chim Acta* 1993; **214**: 3–12.
41. Bialecki ES, Di Bisceglie AM. Diagnosis of hepatocellular carcinoma. *HPB (Oxford)* 2005; **7**: 26–34.
42. Monira PYK, Mamoru I, Yoriyuki N. Plant lectins in therapeutic and diagnostic cancer research. *Int J Plant Biol Res* 2015; **3**: 1–6.
43. Leerapun A, Suravarapu SV, Bida JP, *et al.* The utility of *Lens culinaris* agglutinin-reactive alpha-fetoprotein in the diagnosis of hepatocellular carcinoma: evaluation in a United States referral population. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007; **5**: 394–402.
44. Kawai K, Kojima T, Miyanaga N, *et al.* Lectin-reactive alpha-fetoprotein as a marker for testicular tumor activity. *Int J Urol* 2005; **12**: 284–9.
45. Llop E, Ferrer-Batalle M, Barrabes S, *et al.* Improvement of prostate cancer diagnosis by detecting PSA glycosylation-specific changes. *Theranostics* 2016; **6** (8): 1190–204.
46. Dwek MV, Jenks A, Leatham AJ. A sensitive assay to measure biomarker glycosylation demonstrates increased fucosylation of prostate specific antigen (PSA) in patients with prostate cancer compared with benign prostatic hyperplasia. *Clinica Chimica Acta* 2010; **411**: 1935–839.
47. Reddi AL, Sankaranarayanan K, Arulraj HS, *et al.* Enzyme-linked PNA lectin-binding assay of serum T-antigen in patients with SCC of the uterine cervix. *Cancer Letters* 2000; **149**: 207–11.
48. Pervin MKY, Isemura M, Nakamura Y. Plant lectins in therapeutic and diagnostic cancer research. *Int J Plant Biol Res* 2015; **3**: 1–6.
49. Sharon N, Lis H. History of lectins: from hemagglutinins to biological recognition molecules. *Glycobiology* 2004; **14**: 53R–62R.
50. Di Cola A, Frigerio L, Lord JM, *et al.* 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* 2001; **98**: 14726–31.
51. Montanaro L, Sperti S, Mattioli A, *et al.* 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* 1975; **146**: 127–31.
52. Lord MJ, Jolliffe NA, Marsden CJ, *et al.* Ricin. Mechanisms of cytotoxicity. *Toxicol Rev* 2003; **22**: 53–64.
53. Zou LB, Zhan JB. Purification and anti-cancer activity of ricin. *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* 2005; **34**: 217–9.
54. Rao PV, Jayaraj R, Bhaskar AS, *et al.* Mechanism of ricin-induced apoptosis in human cervical cancer cells. *Biochem Pharmacol* 2005; **69**: 855–65.
55. 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* 1988; **231**: 378–80.
56. Lee CH, Kim JK, Kim HY, *et al.* Immunomodulating effects of Korean mistletoe lectin *in vitro* and *in vivo*. *Int Immunopharmacol* 2009; **9**: 1555–61.
57. Hajto T, Krisztina F, Ildiko A, *et al.* Unexpected different binding of mistletoe lectins from plant extracts to immobilized lactose and N-acetylgalactosamine. *Anal Chem Insights* 2007; **2**: 43–50.

58. **Doser C, Doser M, Hulsen H, et al.** Influence of carbohydrates on the cytotoxicity of an aqueous mistletoe drug and of purified mistletoe lectins tested on human T-leukemia cells. *Arzneimittelforschung* 1989; **39**: 647–51.

59. **Mikeska R, Wacker R, Ami R, et al.** Mistletoe lectin I in complex with galactose and lactose reveals distinct sugar-binding properties. *Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun* 2005; **61**: 17–25.

60. **Fu LL, Zhou CC, Yao S, et al.** Plant lectins: targeting programmed cell death pathways as antitumor agents. *Int J Biochem Cell Biol* 2011; **43**: 1442–9.

61. **Thies A, Dautel P, Meyer A, et al.** Low-dose mistletoe lectin-I reduces melanoma growth and spread in ascid mouse xenograft model. *Br J Cancer* 2008; **98**: 106–12.

62. **Marvibaigi M, Supriyanto E, Amini N, et al.** Preclinical and clinical effects of mistletoe against breast cancer. *Biomed Res Int* 2014; **2014**: 1–15.

63. **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* 2002; **25**: 93–101.

64. **Choi SH, Lyu SY, Park WB.** Mistletoe lectin induces apoptosis and telomerase inhibition in human A253 cancer cells through dephosphorylation of Akt. *Arch Pharm Res* 2004; **27**: 68–76.

65. **Yau T, Dan X, Ng CC, et al.** Lectins with potential for anti-cancer therapy. *Molecules* 2015; **20**: 3791–810.

66. **Zuo Z, Fan H, Wang X, et al.** Purification and characterization of a novel plant lectin from *Pinellia ternata* with antineoplastic activity. *Springer Plus* 2012; **1**: 1–9.

67. **Shi Z, Chen J, Li CY, et al.** Antitumor effects of concanavalin A and *Sophora flavescens* lectin *in vitro* and *in vivo*. *Acta Pharmacol Sin* 2014; **35**: 248–56.

68. **Caavada BS, Silva MTL, Osterne VJS, et al.** Canavalia bonariensis lectin: molecular bases of glycoconjugates interaction and antiglioma potential. *Int J Biol Macromolecules* 2017; **106** (2018): 369–78.

69. **Chan YS, Ng TB.** A lectin with highly potent inhibitory activity toward breast cancer cells from edible tubers of *Dioscorea opposita* cv. nagaimo. *PLoS One* 2013; **8**: e54212.

70. **Singh RS, Kaur HP, Kanwar JR.** Mushroom lectins as promising anticancer substances. *Curr Protein Pept Sci* 2016; **17**: 797–807.

71. **Hassan MA, Rouf R, Tiralongo E, et al.** Mushroom lectins: specificity, structure and bioactivity relevant to human disease. *Int J Mol Sci* 2015; **16**: 7802–38.

72. **Yu L, Fernig DG, Smith JA, et al.** Reversible inhibition of proliferation of epithelial cell lines by *Agaricus bisporus* (edible mushroom) lectin. *Cancer Res* 1993; **53**: 4627–32.

73. **Zhao C, Sun H, Tong X, et al.** An antitumour lectin from the edible mushroom *Agrocybe aegerita*. *Biochem J* 2003; **374**: 321–7.

74. **Jiang S, Chen Y, Wang M, et al.** A novel lectin from *Agrocybe aegerita* shows high binding selectivity for terminal N-acetylglucosamine. *Biochem J* 2012; **443**: 369–78.

75. **Zheng Shi, Wen-wen Li, Yong Tang, Li-jia Cheng.** A novel molecular model of plant lectin-induced programmed cell death in cancer. *Biol Pharm Bull* 2017; **40** (10): 1625–9.

76. **Ziegler R, Grossarth-Maticek R.** Individual patient data meta-analysis of survival and psychosomatic self-regulation from published prospective controlled cohort studies for long-term therapy of breast cancer patients with a mistletoe preparation (Iscador). *Evid Based Complement Altern Med* 2010; **7**: 157–66.

77. **Büssing A, Raak C, Ostermann T.** Quality of life and related dimensions in cancer patients treated with mistletoes extract (Iscador): A meta-analysis. *Evid Based Complement Altern Med* 2012; **2012**: 219402.

78. **Grossarth-Maticek R, Ziegler R.** Randomized and non-randomized prospective controlled cohort studies in matched

pair design for the long-term therapy of corpus uteri cancer patients with a mistletoe preparation (Iscador). *Eur J Med Res* 2008; **13** (3): 107–20.

79. **Bar-Sela G, Wollner M, Hammer L, et al.** Mistletoe as complementary treatment in patients with advanced non-small-cell lung cancer treated with carboplatin-based combinations: a randomised phase II study. *Eur J Cancer* 2013; **49** (5): 1058–64.

80. **Kim KC, Yook JH, Eisenbraun J, et al.** Quality of life, immunomodulation and safety of adjuvant mistletoe treatment in patients with gastric carcinoma — a randomized, controlled pilot study. *BMC Complement Altern Med* 2012; **12**: 172.

81. **Tröger W, Galun D, Reif M, et al.** *Viscum album* [L.] extract therapy in patients with locally advanced or metastatic pancreatic cancer: A randomised clinical trial on overall survival. *Eur J Cancer* 2013; **49**: 3788–97.

PERSPECTIVES OF USING LECTINS FOR CANCER DIAGNOSTIC AND TREATMENT

O.M. Karaman, N.I. Fedosova, I.M. Voeikova, N.L. Cheremshenko, A.V. Ivanchenko, Z.D. Savtsova
R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology, NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Summary. *The aim of the review is to summarize and analyze data on the characteristics of lectins (L), their possible sources of selection, biological functions and mechanisms of action on cells, through which L can be used in diagnostics and therapy in malignant neoplasms. Prerequisites for the application of L in oncology are the peculiarities of glycoconjugates of surface membranes of tumor cells, namely, the enhancement of fucosylation and sialization of glycans. The ability of L to interact with isoforms of tumor antigens allows differential diagnosis, monitoring of treatment efficacy, and also predict the course of the disease. For many L, in vitro cytotoxic activity against tumor cells has been demonstrated, as well as the ability to inhibit in vivo growth of model tumors. There is information about a clinical efficacy of supplemental application of L from *Viscum album* in the treatment in patients with breast, uterus, lungs, stomach, pancreas cancers. The analyzed information indicates the prospect of further research on the use of L in clinical oncology practice.*

Key Words: lectins, glycoconjugates of tumor cell membranes, differential diagnosis, monitoring of tumor aggressiveness, cytotoxic activity, inhibition of proliferation.

Адреса для листування:

Караман О.М.
03022, Київ, вул. Васильківська, 45
Інститут експериментальної патології,
онкології і радіобіології
ім. Р.Є. Кавецького НАН України
E-mail: immunomod@ukr.net

Одержано: 13.03.2018