

*Stanisław Zaremba\**

## Lektyny w biologii i medycynie

### Streszczenie

W artykule zawarto najważniejsze wiadomości na temat lektyn, ich występowania oraz izolowania. Poruszono także możliwość praktycznego wykorzystania lektyn w różnych dziedzinach biologii i medycyny.

Przedstawiono kilka aspektów działania lektyn, z których najważniejsze to: aktywność aglutynacyjna, aktywność mitogenna oraz destrukcyjne działanie lektyn w przewodzie pokarmowym ludzi i zwierząt.

Próbowano także naświetlić biologiczne znaczenie lektyn w organizmach roślinnych i zwierzęcych.

### Co to są lektyny

Lektyny są to białka złożone (glikoproteiny), które mogą reagować z węglowodanowymi strukturami powierzchni komórek ludzkich i zwierzęcych. Występują dosyć powszechnie w roślinach począwszy od bakterii, a skończywszy na roślinach wyższych. Obecne są także w świecie zwierzęcym – zarówno u bezkręgowców, jak i kręgowców, z człowiekiem włącznie.

Dla pełniejszej definicji lektyn trzeba dodać, że białka te nie mają charakteru enzymów, nie są też przeciwciałami (nie powstają w wyniku

---

\*Zakład Fizjologii Zwierząt, Instytut Zoologii Uniwersytetu Jagiellońskiego

odpowiedzi immunologicznej), pomimo że wykazują podobne działania w stosunku do niektórych przeciwciał zwierzęcych (aglutynacja komórek, precypitacja białek).

Upłynęło już ponad 100 lat od odkrycia pierwszej lektyny w nasionach rośliny *Ricinus communis* i nadal toczy się dyskusja nad podaniem pełnej definicji lektyn. Aktualnie istnieje kilka propozycji ich definiowania (Goldstein i wsp. 1980, Kocourek i Horejsi 1981, Franz i wsp. 1982), lecz żadna nie jest pełna, bowiem żadna nie uwzględnia fizjologicznej roli lektyn w organizmach roślinnych i zwierzęcych.

Początkowo tę grupę białek określano pojęciem fitohemaglutyniny (*phytohaemagglutinin*) – do dnia dzisiejszego używa się tego terminu w odniesieniu do lektyny z *Phaseolus vulgaris*, w formie skrótu PHA.

Pierwsze obserwacje dotyczyły aktywności aglutynacyjnej badanych wyciągów roślinnych w stosunku do erytrocytów ludzkich i zwierzęcych. Jednakże w dalszych badaniach nad fitohemaglutyninami poczyniono obserwacje dotyczące pewnej selektywności w aglutynacji krwinek zwierzęcych i ludzkich. Dlatego też w roku 1954 Boyd i Shapleigh zaproponowali, aby te grupowo specyficzne dla krwinek roślinne aglutyniny nazwać lektynami (od łac. słowa *legere* – wybierać). Terminem tym objęto w roku 1972 wszystkie białka roślinne i zwierzęce aglutynujące komórki i wiążące cukry oraz nie mające immunologicznego pochodzenia, niezależnie czy są grupowo specyficzne, czy też nie.

## Otrzymywanie lektyn

Lektyny mogą być oczyszczane z surowych ekstraktów roślinnych drogą konwencjonalnych technik oczyszczania białek, takich jak: wysalanie (głównie  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ), chromatografia żelowa z użyciem żeli dekstranowych (sefadeks, dekstran, agaroz, sefaroza) oraz żeli poliakrylamidowych, chromatografia na wymiennicach jonowych, elektroforeza i inne. Należy jednak dodać, że niezwykle istotny jest wybór właściwej metody do izolacji lektyn – chodzi bowiem o to, aby warunki izolacji nie powodowały uszkodzenia białek.

Ostatnio wykorzystano właściwości lektyn do specyficznego i odwracalnego wiązania węglowodanów, opracowując dla ich oczyszczania technikę chromatografii powinowactwa (affinity chromatography – Agrawal i Goldstein 1971). Okazuje się, że ta technika jest najbardziej właściwa dla oczyszczania lektyn, ponieważ warunki, w jakich ten proces przebiega, są łagodne i nie powodują uszkodzenia struktury lektyny.

Inną techniką oczyszczania lektyn jest kombinowana metoda chromatografii powinowactwa z elektroforezą, tzw. elektroforeza powinowactwa (affinity electrophoresis – Horejsi i Kocourek 1974). Metoda ta jest oparta na użyciu kolumn z żelem poliakrylamidowym w postaci 3 warstw: żelu makroporowego, żelu z kowalencyjnie związanymi ligandami (*affinity ligands*) oraz żelu drobnoporowego.

Okazuje się, że wysoko oczyszczone lektyny wykazują strukturę tetrameryczną (zbudowane z 4 podjednostek) lub dimeryczną (zbudowane z 2 podjednostek) i często zawierają w swoim składzie mangan ( $Mn^{2+}$ ), wapń ( $Ca^{2+}$ ) i magnez ( $Mg^{2+}$ ).

Pierwszą oczyszczoną i otrzymaną w formie skryształizowanej lektyną była konkanawalina A (Con A) z nasion rośliny *Canavalia ensiformis*.

## **Właściwości aglutynacyjne lektyn i ich praktyczne zastosowanie**

Wykrycie selektywnej aglutynacji erytrocytów ludzkich i zwierzęcych przez niektóre lektyny sugerowało możliwość ich zastosowania w oznaczaniu grup krwi u ludzi oraz zwierząt. Specyficzność niektórych lektyn jest czasami tak duża, że niektóre z nich wyróżniają nawet podgrupy, czego przykładem jest lektyna z *Dolichos biflorus* reagująca silniej z erytrocytami podgrupy A<sub>1</sub>, w porównaniu z podgrupą A<sub>2</sub>.

Lektyny z nasion *Vicia cracca*, czy też *Phaseolus limensis* aglutynują tylko erytrocyty ludzkie grupy A, podczas gdy lektyna z *Lotus tetragonolobus* aglutynuje tylko erytrocyty grupy O. Należy podkreślić, że aktualnie są znane liczne inne lektyny specyficzne dla wyżej wymienionych oraz innych grup krwi, np. grupy B oraz N.

Równocześnie poczyniono obserwacje z użyciem specyficznych lektyn nad hamowaniem aglutynacji krwinek grupy A przez N-acetylo-D-gala-

ktozaminę oraz krwinek grupy O przez L-fukozę, co zasugerowało badaczom, iż cukry te są determinantami nadającymi grupową specyficzność odpowiednio grupie A oraz O, co zostało później udokumentowane.

Ważnym wydarzeniem stały się eksperymenty nad zdolnością lektyn do preferencyjnej aglutynacji komórek nowotworowych. Pierwszy zdemontował taką możliwość w roku 1963 J. Aub z Massachusetts General Hospital w Bostonie (Aub i wsp. 1965a; Aub i wsp. 1965b). Był jednym z nielicznych w tym czasie badaczy, wierzący, że różnica między komórkami normalnymi a nowotworowymi znajduje się na ich powierzchni. Odkrycie Auba rozpoczęło nową erę w badaniach nad lektynami. Okazało się, że takie lektyny, jak WGA (lektyna z zarodków pszennych – *Wheat germ agglutinin*), konkanawalina A oraz szereg innych później odkrytych nadają się do różnicowania komórek nowotworowych od normalnych (Langkilde i wsp. 1989). W ten oto sposób lektyny stały się narzędziem w badaniach struktur powierzchniowych komórek.

Wykazanie specyfiki cukrowej dla poszczególnych lektyn umożliwiło z jednej strony blokowanie ich aktywności (stosowanie cukrów jako inhibitorów), z drugiej strony umożliwiło ich wykorzystanie do izolowania i rozdzielania substancji zawierających w swoim składzie komponentę węglowodanową. Czasami frakcje elektroforetycznie jednorodne rozdzielają się na kilka mniejszych frakcji po dodaniu, np. konkanawaliny A, czy też innej lektyny. Dla zahamowania aktywności lektyn zwykle wystarcza jeden monosacharyd, np. N-acetyloglukozamina – dla WGA, D-mannoza – dla Con A, D-galaktoza – dla lektyny z soi i ślimaków (*Helix pomatia*). Tym niemniej receptor komórkowy, z którym łączy się lektyna, jest więcej niż jedno-monosacharydowy; zawiera on zwykle liczne cukry, czasami także aminokwasy. Jest to jeszcze jedno z praktycznych zastosowań lektyn, tym razem w biochemii.

## Lektyny jako mitogeny

Prawdziwej rewolucji w badaniach nad lektynami dokonał Nowell (1960) z Uniwersytetu Pensylwania (Philadelphia), który wykazał, że lektyna z *Phaseolus vulgaris* (PHA) jest mitogenna, to znaczy posiada zdolność stymulowania limfocytów z krwi obwodowej do podziałów

mitotycznych w warunkach *in vitro*. Odkrycie to miało rewelacyjne znaczenie w immunologii, ponieważ obaliło dotychczasowy pogląd, jakoby limfocyty były komórkami ostatecznie zdeterminowanymi i nie mogą się dzielić, ani też różnicować. W ciągu krótkiego czasu odkryto mitogenne zdolności innych lektyn. Szczególnie ważne było doniesienie o mitogennych własnościach konkanawaliny A (Con A), w stosunku do limfocytów T (grasiczo-zależnych). W krwi obwodowej prawie nigdy nie są widoczne limfocyty w stadium mitozy, niemniej okazało się (Barker i wsp. 1966), że mogły być często obserwowane w rozmazach krwi dzieci, które zjadały północno-amerykańską roślinę zwaną szkarłatką (*Phytolacca americana* – pokeweed). Lektyna szkarłatki (PWM – *pokeweed mitogen*) jest jedną z nielicznych mitogenów stymulujących limfocyty B oraz T.

Mitogenne właściwości lektyn umożliwiają śledzenie procesów biochemicznych, zachodzących w stymulowanych limfocytach *in vitro*, stanowią także dobry model do badań immunokompetencji limfocytów u ludzi z różnymi schorzeniami ostatnio również AIDS). Służą ponadto do badania wpływu wielu szkodliwych czynników (np. metali ciężkich) na immunologiczną aktywność limfocytów, co ma ścisły związek z odpornością organizmu wystawionego na ewentualne działanie takiego czynnika. Również godnym podkreślenia jest fakt, że w stymulowanych limfocytach dobrze widoczne są chromosomy (po uprzednim zablokowaniu kolchicyną), co pozwala na wykrycie defektów chromosomalnych, sporządzanie kariogramów (morfologicznego opisu chromosomów w komórkach) oraz wielu innych badań interesujących cytogenetyka.

## Lektyny a przewód pokarmowy

Liczne z najbardziej znanych lektyn pochodzą z ziaren, strąków, bulw oraz jagód roślin jadalnych wchodzących w skład pożywienia ludzi oraz zwierząt. Prawdą jest, że lektyny najskuteczniej są niszczone przez gotowanie, jednakże należy wziąć pod uwagę fakt, że większość znanych lektyn wykazuje dużą oporność na działanie wysokiej temperatury, a także na działanie enzymów trawiennych człowieka i zwierząt.

Lektyny wiążą się z komórkami nabłonka przewodu pokarmowego, głównie jelita cienkiego, wykazując z reguły toksyczny wpływ na te komórki. Są więc dla przewodu pokarmowego:

a) szkodliwym czynnikiem wpływającym na strukturę i biologię śluzówki,

b) powodują osłabienie trawienia i przyswajania pokarmów,

c) powodują zaburzenia w odżywianiu, co odbija się na wzroście i rozwoju organizmu.

Na szczęście nie wszystkie znane nam lektyny działają w ten sposób. Niektóre z nich, np. lektyna z pomidorów, mimo iż wiąże się z komórkami epitelialnymi przewodu pokarmowego, nie wykazuje destrukcyjnego działania na te komórki. Wiele lektyń ulega zniszczeniu przez gotowanie i trawienie, stąd też zagrożeniem dla przewodu pokarmowego mogą być lektyny pochodzące z roślin spożywanych na surowo, niedogotowanych lub lektyny szczególnie odporne na wysoką temperaturę i trawienie.

Badania na zwierzętach (głównie szczurach) w wielu laboratoriach na całym świecie (Wilson i wsp. 1980; King i Pusztai 1982, Weiser 1984, Nakata i Kimura 1985, Rea i wsp. 1985, Rouanet i wsp. 1985, Pusztai i wsp. 1986, Lafont i Rouanet 1988, Sjölander i Magnusson 1988, Oliveira i wsp. 1989) wykazały, że wspomniane już lektyny: PHA (z *Phaseolus vulgaris*), konkanawalina A (z *Canavalia ensiformis*) oraz WGA (z zarodków pszennych) są szczególnie groźne dla przewodu pokarmowego zwierząt i ludzi. Surowa lub częściowo tylko ugotowana fasola wywołuje ciężkie zapalenie jelit u człowieka już po jednorazowej dawce. Natomiast szczury karmione dietą zawierającą surową fasolę padały w ciągu kilku dni. Należy podkreślić, że toksyczność ta jest spowodowana głównie przez PHA.

Obecnie coraz częściej uważa się, że choroba trzewna – celiakia, rozległe zaburzenia trawienno-absorbcyjne w organizmie ludzkim, jest w swych początkach związana z obecnością lektyny w glutenie. Lektyna ta wiąże się łatwo z anormalną powierzchnią komórek nabłonka jelitowego (co uwarunkowane jest genetycznie), powodując uszkodzenia struktury komórek, a następnie reakcją odpornościową nadwrażliwości, powodującą dalsze uszkodzenie jelita. Lektynę glutenową utożsamia się właśnie z WGA.

Okazało się, na szczęście, że obecna w pomidorach lektyna nie wykazuje toksycznego działania – bowiem nie powoduje widocznych zmian strukturalnych w jelicie, pomimo wiązania się z komórkami nabłonka. Badania przeprowadzone na szczurach dowiodły, że jest ona oporna na trawienie. Pewne obserwacje dokonane na ludziach dały analogiczne rezultaty. Spożywanie tej lektyny mogłoby być zatem wykorzystane dla celów terapeutycznych. Ta nietoksyczna lektyna mogłaby modyfikować rozwój objawów klinicznych poprzez konkurencyjne wiązanie się z kosmkami jelitowymi – dotyczyłoby to głównie choroby trzewnej. Lektyna z pomidorów jest znana ponadto z tego, że posiada pewne właściwości immunosupresyjne *in vivo*. Przyjmowanie doustne lektyny mogłoby przynosić korzyść ludziom z chorobami na tle autoagresji. Wydaje się, że omówione powyżej własności lektyny z pomidorów motywują dalsze badania nad jej potencjalnym działaniem *in vivo*, zwłaszcza, że jest ona chętnie spożywana przez ludzi. Lektyny tego typu mogą być również wykorzystywane w żywieniu ludzi chorych na cukrzycę, ponieważ osłabiają szybkość trawienia węglowodanów (skrobi) oraz zwalniają wchłanianie węglowodanów w przewodzie pokarmowym.

Pewne lektyny mogą stać się przyczyną tak częstych u ludzi chorób alergicznych – bowiem odkryto, że w pyłkach traw są zawarte m.in. alergeny lektynowe.

## **Co wiemy o biologicznej roli lektyn w organizmach**

Pomimo iż upłynęło ponad 100 lat badań nad lektynami, wiele pytań nadal pozostaje bez odpowiedzi. Trzeba niestety również przyznać, że obecnie niewiele jest konkretnych danych odnośnie roli lektyn w roślinach wyższych, gdzie tak obficie występują, a także u bezkręgowców.

Znane są jednakże pewne informacje dotyczące roli lektyn u bakterii i kręgowców. I tak np. bakteryjne powierzchniowe lektyny mogą być związane z zapoczątkowaniem infekcji, czego dowodem może być fakt hamowania infekcji *Escherichia coli* u myszy specyficznym dla lektyny inhibitorem cukrowym. Z kolei w 1974 r. odkryto pierwszą lektynę ssaków, tj. białko związane z wątrobą (a specyficzne dla D-galaktozy) i wykazano, że może ono być zaangażowane w wychwytywanie pewnych glikoprotein z systemu krążenia. Z kolei lektyny inne mogą być odpo-

wiedzialne za usuwanie bakterii z krwi (Sharon i Lis 1987, Ofek i Sharon 1990).

Wydaje się, że dalszy intensywny rozwój badań nad lektynami pozwoli ostatecznie odpowiedzieć na wiele pytań oraz zdefiniować rolę lektyn w żywych organizmach.

## Literatura

- Agrawal B.B.L., Goldstein I.J., 1971, *Protein – carbohydrate interaction. VI. Isolation of Concanavalin A by specific adsorption on cross – linked dextran gels* Biochim. Biophys. Acta. 147, 262–271
- Aub J.C., Tieslau C., Lankester A., 1963, *Reactions of normal and tumour cell surfaces to enzymes. I. Wheat germ lipase and associated mucopolysaccharides.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA 50, 613–619
- Aub J.C., Sanford B.H., Wang L., 1965b, *Reactions of normal and leukemic cell surfaces to a wheat germ agglutinin* Proc. Natl. Acad. Sci. USA 54, 400–402
- Aub J.C., Sanford B.H., Cote M.N., 1965a, *Studies on reactivity of tumor and normal cells to a wheat germ agglutinin.* Proc. Natl. Acad. sci. USA 54, 396–399
- Barker B.E., Farnes P., LaMarche P.H., 1966, *Peripheral blood plasmacytosis following systemic exposure to Phytolacca americana (pokeweed).* Pediatrics 38, 490–493
- Boyd W.C., Shapleigh E., 1954, *Diagnosis of subgroups of blood group A and AB by use of plant agglutinins (lectin).* J. Lab. Clin. Med. 44, 235–237
- Franz H., Ziska P., Mohr J., 1982, *Lectins – definition and classification.* Acta Histochem., 71, 19–21
- Goldstein I.J., Hughes R.C., Monsigny M., Osawa T., Sharon N., 1980, *What should be called a lectin?* Nature 285, 66
- Horejsi V., Kocourek J., 1974, *Studies on phytohemagglutinin XVIII. Affinity electrophoresis of phytohemagglutinins.* Biochim. Biophys. Acta 336, 338–343
- King T.P., Pusztai A., 1982, *Kidney bean (Phaseolus vulgaris) lectin – induced lesions in rat small intestine.* J. Comp. Path. 92, 337–373
- Kocourek J., Horejsi V., 1981, *Defining a lectin* Nature 290, 181
- Lafont J., Rouanet J.M., 1988, *Duodenal toxicity of dietary Phaseolus vulgaris lectin in the rat: an integrative assay digestion,* 41, 83–93
- Nakata S., Kimura T., 1985, *Effect of ingested toxic bean lectin on the gastrointestinal tract in the rat.* J. Nutr. 115, 1621–1629
- Langkilde N.C., Wolf H., Orntoft T.F., 1989, *Binding of wheat and peanut lectins to human transitional cell carcinomas. Correlation with histopathologic grade, invasion, and DNA ploidy.* Cancer 64, 849–853



- Nowell P.C., 1960, *Phytohemagglutinin: an initiator of mitosis in culture of normal human leukocytes*. *Cancer Res.* 20, 462–466
- Ofek I., Sharon N., 1990, *Current Top. Microbiol. Immunol.*, 151, 91–112
- Oliveira A.C., Vidal B.C., Sgarbier V.C., 1989, *Lesions of intestinal epithelium by ingestion of bean lectins in rats*. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 35, 315–322
- Pusztai A., Grant G., Oliveira J.T.A., 1986, *Local (gut) and systemic responses to dietary lectins*. *IRCS med. Sci.* 14, 205–208
- Rea R.L., Thompson L.U., Jenkins D.J.A., 1985, *Lectins in foods and their relation to starch digestibility*. *Nutr. Res.* 5, 919–929
- Rouanet J.M., Lafont J., Chalet M., Creppy A., Besançon P., 1985, *Effects of dietary kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) lectins in growing rats*. *Nutr. Rep. Int.* 31, 237–244
- Sharon N., Lis H., 1987, *A century of lectin research (1888–1988). Reflections on biochemistry*. *TIBS* 12, 488–491
- Sjölander A., Magnusson K.E., 1988, *Effect of wheat germ agglutinin on the cellular content of filamentous actin in intestine 407 cells*. *Europ. J., Cell. Biol.* 47, 32–35
- Weiser M.M., 1984, *Dietary lectins and the possible mechanism whereby they induce intestinal injury* *Chronic Diar. Child. Diarrhea in Children*, ed. E. Lebenthal, Nestlé, Vevey, Raven Press. New York, 279–287
- Wilson A.B., King T.P., Clarke E.M.W., Pusztai A., 1980, *Kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) lectin – induced lesions in rat small intestine. 2. Microbiological studies*. *J. Comp. Path.* 90, 597–601

*Stanisław Zaremba*

## The Lectins in Biology and Medicine

### S u m m a r y

The article contains the most important information about lectins – their occurrence, methods of purification and definition. The possibility of application in various fields of biology and medicine was also considered. Different aspects of lectin actions were described. The most important of which are: their agglutination and mitogenic activities and their destructive effect on the human and animal digestive tract. Attempts were also made to throw some light on the biological significance of lectins in the plant and animal organisms.