

## Lectinas: Obtención, Estructura Química, Propiedades y Aplicaciones Diagnósticas y Farmacológicas

HORACIO ALEJANDRO MICUCCI\* y ELENA CAMPS

*Cátedra de Farmacognosia, Departamento de Ciencias Biológicas,  
Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata,  
Calles 47 y 115, La Plata 1900, Argentina*

**RESUMEN.** En razón de que las lectinas ofrecen amplias perspectivas como herramientas de diagnóstico y uso terapéutico, se efectuó una recopilación de los conocimientos actuales sobre las mismas y sus potenciales aplicaciones.

**SUMMARY.** "*Lectins: Obtainment, Chemical Structure, Properties and Diagnostic and Pharmacological Applications*". As lectins show great possibilities as tools of diagnostic and therapeutic use a compilation was made of their present knowledge and potential applications.

### INTRODUCCION

El término *lectina* define en la actualidad una amplia gama de proteínas de origen vegetal y animal capaces de unirse en forma más o menos específica a moléculas de azúcares, formando uniones muy similares a las de las enzimas con sus sustratos y los anticuerpos por sus respectivos antígenos<sup>1</sup>.

Esta similitud en la forma de unión con enzimas y anticuerpos llevó a algunos autores a agrupar estos diversos tipos de moléculas bajo la denominación genérica de "afinitinas"<sup>2</sup>. De esta manera la clasificación de las lectinas como uno de los grupos de las "afinitinas" es coherente con el establecimiento de una rama

independiente de estudio que podríamos definir como lectinología, que no debe ser considerada como una pseudo-inmunología sino que, junto a la inmunología y a la enzimología, constituirían ramas de la *afinitología*.

Esta concepción es coherente con la hipótesis de Vasta, Marchalonis<sup>3</sup> y otros respecto a la existencia de una superfamilia de moléculas de reconocimiento que habrían evolucionado desde un gen precursor ancestral común.

De este precursor ancestral derivarían diversas clases de moléculas, tales como inmunoglobulinas, proteína C-reactiva, componentes del complemento, productos de complejo mayor de histo-

\* Dirigir correspondencia a: Castro Barros 107, 1824 Lanús, Argentina

**PALABRAS CLAVE:** Lectinas; Fitoheмоaglutininas; Carbohidratos; Marcadores tumorales; Glicoesfingolípidos; Receptores celulares.

**KEY WORDS:** *Lectins; Phytohemagglutinins; Carbohydrates; Tumor markers; Glycosphingolipids; Cell receptors.*

compatibilidad, receptor de linfocitos-T, lectinas vegetales, bacterianas y animales<sup>3, 4</sup>.

Como decíamos más arriba, cada lectina se une de una manera más o menos específica a una determinada molécula o a un determinado grupo de moléculas de azúcar. Debido a esta propiedad las lectinas pueden precipitar glicoconjugados e incluso aglutinar células que los posean en su superficie. Precisamente en mérito a esta característica Boyd les asignó en 1954 el nombre de lectinas, derivado del latín *legere*: escoger, elegir.

El primer informe sobre lectinas data de 1888. En ese año Stillmark<sup>5</sup> publica una conferencia sobre la toxina y aglutinina de la semilla del ricino (*Ricinus communis*). El extracto de esta semilla era capaz de aglutinar eritrocitos animales.

Esta propiedad de aglutinar hematíes fue confirmada en diversos trabajos (en los veinte años siguientes) en extractos de distintas semillas. Esta aptitud hemoaglutinante dio lugar a que las moléculas responsables del fenómeno fueran designadas como hemoaglutininas o fitohemoaglutininas (dado su origen vegetal) hasta que Boyd y Shapleigh<sup>6</sup> acuñaron el término lectina utilizado hasta nuestros días.

En las primeras décadas posteriores al trabajo de Stillmark se creía que las lectinas aglutinaban inespecíficamente a hematíes de todos los grupos sanguíneos. Esto era cierto para el extracto de ricino, que aglutinó con similar intensidad eritrocitos de todas las especies animales frente a los cuales fue estudiado, aparentando entonces ser relativamente inespecífico<sup>7</sup>.

En 1949 Boys y Reguera<sup>8</sup> descubrieron que el extracto de *Phaseolus lunatus* aglutinaba selectivamente eritrocitos hu-

manos tipo A. Por su lado Renkonen<sup>9</sup> informó que el extracto de semillas de *Lotus tetragonolobus* contenía una lectina específica para los hematíes humanos de Grupo 0. Recientemente Goldstein aisló una lectina de especificidad B en *Bandeiræa simplicifolia*<sup>1</sup>.

La hipótesis de que la hemoaglutinación y su especificidad eran debidas a una reacción de las lectinas con carbohidratos presentes en la membrana del hematíe fue confirmada por Watkins y Morgan<sup>10</sup> en 1952 al añadir algunos azúcares sencillos capaces de inhibir la aglutinación de hematíes.

Al principio el término lectina se refería solamente a las aglutininas de origen no-inmune presentes en extractos de semillas de distintos vegetales. El descubrimiento posterior de sustancias análogas en bacterias, hongos, líquenes, anguilas, moluscos e incluso mamíferos hizo extensiva esa denominación a toda proteína de origen no-inmune capaz de unirse con cierta especificidad a moléculas de carbohidratos, independientemente de su origen y ubicación.

De los últimos descubrimientos efectuados sobre las lectinas, uno de los más impactantes fue la comprobación de que las lectinas podían diferenciar células cancerosas de las normales<sup>11-14</sup>, por lo que surgió inmediatamente la posibilidad de su uso terapéutico. Investigaciones posteriores abrieron posibilidades sobre su aplicación potencial en diversas afecciones: alergia, diabetes e incluso obesidad. También se destaca su posible uso como herramienta de diagnóstico.

En cuanto a su estructura química, como se verá más adelante, difieren de las inmunoglobulinas e incluso muestran una considerable diversidad.

La función fisiológica en los seres vivos permanece aún en discusión; no obs-

tante, en algunos casos se han obtenido ciertas conclusiones, que se tratarán posteriormente.

#### ORIGEN DE LAS LECTINAS

##### *Lectinas de origen vegetal*

Las lectinas parecen estar ampliamente distribuidas entre los vegetales: de las 3.000 especies examinadas en los últimos años, en casi 1.000 de ellas se han hallado lectinas<sup>1</sup>. En las Leguminosas, las lectinas son particularmente abundantes. Pueden llegar a representar de un 1,5 a un 3% del contenido proteico de la semilla de soja, por ejemplo.

La mayor parte del medio centenar de lectinas que se han podido purificar e identificar, en cuanto a su estructura química, son de origen vegetal.

La capacidad de aglutinar glóbulos rojos incentivó la búsqueda de lectinas capaces de diferenciar distintos tipos de hematíes humanos y, en efecto, esto se logró en un número de ellas.

Además de la lectina obtenida de *Phaseolus lunatus* (capaz de aglutinar a los eritrocitos humanos Grupo A), de la lectina de la semilla de *Lotus tetragonolobus* (específica para eritrocitos humanos Grupo 0) y de la lectina de la semilla de *Bandeiraea simplicifolia* (específica para los hematíes humanos Grupo B) ya mencionados, se han descubierto otras lectinas con especificidad de grupo, que se indican a continuación.

El extracto de semilla de *Ulex europæus* ha sido utilizado ampliamente en los laboratorios como un reactivo para tipificar eritrocitos tipo 0, para determinar subgrupos de A y AB y para identificar el carácter secretor de ciertos individuos (presencia de sustancia H en saliva).

La lectina obtenida de la semilla de *Dolichos biflorus* reacciona más intensa-

mente con los glóbulos rojos del tipo A<sub>1</sub> que con los del tipo A<sub>2</sub> y esta circunstancia ha permitido su uso diagnóstico, para identificar individuos del primer grupo.

Otras lectinas de origen vegetal tienen una especificidad menos definida: los extractos de *Euonymus europæus* contienen anti-B y anti-H<sup>7, 15, 16</sup>, los de *Sophora japonica* aglutinan sangre del Grupo B más intensamente que la del Grupo A, en tanto que *Marasmius oreades* suministra extractos anti-B<sup>7</sup>.

Ciertas lectinas vegetales también poseen especificidad para otros sistemas de grupos sanguíneos humanos: extractos de *Bauhinia purpurea* y *Vicia graminea* poseen actividad anti-N<sup>7, 17</sup>.

También se ha comprobado la actividad de ciertos extractos de semillas frente a hematíes animales. Uno de nosotros (H.A.M.) ha participado en trabajos en los cuales se comprobó que las lectinas de semillas de *Dolichos biflorus* y *Phaseolus vulgaris* (anti-AB<sub>0</sub>) reaccionaban frente a hematíes de cerdo, mientras que lectinas de *Ulex europæus* y *Phaseolus lunatus* no lo hacían. Ninguna de las cuatro era capaz de diferenciar los dos grupos en que se pueden dividir los hematíes de cerdo: O<sup>P</sup> y A<sup>P</sup>, estrechamente relacionados con el sistema AB<sub>0</sub> humano<sup>18</sup>.

En 1952 Watkins y Morgan establecieron la relación entre los azúcares y la especificidad de grupo sanguíneo<sup>10</sup>. Consiguieron demostrar que la N-acetilgalactosamina es el azúcar que mejor inhibe la aglutinación de los hematíes del Grupo A humano por la lectina del haba de Lima, quedando demostrado que este azúcar es el responsable de la especificidad para este grupo sanguíneo. Se demostró también que la fucosa es la responsable de la especificidad para el Grupo 0 en el

caso de la lectina de *Lotus tetragonolobus*. Más tarde<sup>1</sup> se descubrió que la lectina de soja es específica para la N-acetilgalactosamina pero en menor grado que en el caso del haba de Lima: la lectina de soja se une a la N-acetilgalactosamina tanto si las moléculas están unidas en posición alfa como si lo están en posición beta (la lectina del haba de Lima sólo reconoce a las moléculas de N-acetilgalactosamina en posición alfa). La lectina de soja de una también a la galactosa y por lo tanto también provoca la precipitación de glicoproteínas en solución que, como en el caso del colágeno, tienen una galactosa terminal.

La lectina obtenida de la semilla de trigo es específica para los oligosacáridos formados por unidades de N-acetilgalactosamina y de ácido siálico.

Estas especificidades de las lectinas permiten separar polisacáridos y glicoproteínas entre sí y de mezclas con otras sustancias.

La especificidad (mayor o menor) de distintas lectinas por distintos carbohidratos permite explicar, a la luz del actual conocimiento de las moléculas involucradas en los distintos sistemas de grupo sanguíneo, la capacidad hemoaglutinante de las lectinas. Los antígenos de grupo sanguíneo, de importancia clínica fundamental en transfusiones y trasplantes, son glicosfingolípidos (es decir moléculas constituidas por una porción lipídica anclada en la membrana plasmática (la ceramida) y una porción glucídica variable que sobresale de la membrana. Incluso existe una relación estructural de los antígenos del sistema ABO y P humanos a partir de un glicosfingolípidos precursor común.

La concanavalina A es una de las más notables de las lectinas de origen vegetal. Fue aislada y cristalizada por Summer y

Howell<sup>20, 21</sup> a partir de la semilla de *Canavalia ensiformis*. Tiene una serie importante de propiedades: ha sido usada como herramienta de identificación de carbohidratos en solución y en la superficie celular, también como mitógeno para algunos linfocitos e incluso es capaz de diferenciar células malignas de células normales, de donde deriva su uso como agente anticancerígeno<sup>22, 23</sup>. La concanavalina A acoplada a sefarosa ha sido usada para aislar glicoproteínas de membranas, enzimas, receptores de la superficie celular y glicoproteínas virales, todos los cuales poseían oligosacáridos que reaccionaban con la concanavalina A.

A pesar de la difusión que tienen las lectinas en vegetales no está totalmente claro el papel fisiológico que cumplen en ellos. Varias hipótesis se han tejido a este respecto<sup>24</sup>: Janzen *et al.*<sup>25</sup> encontraron que existe cierta especie de escarabajo que no tolera las semillas de ciertas leguminosas debido a su contenido en lectinas y propusieron que las lectinas podrían cumplir la función de proteger a las semillas de ser comidas por insectos (función también atribuida a los alcaloides). Otros autores sugieren que las lectinas protegen a las jóvenes plantas de la infección por hongos<sup>26</sup>.

Otra hipótesis (por cierto discutida) establece que las lectinas podrían acelerar la división celular en las plantas de la misma manera que ejercen efectos mitogénicos en células animales<sup>27</sup>, en tanto que Hankins y Shannon<sup>28</sup> han sostenido que las lectinas podrían actuar como enzimas en su medio natural.

En los primeros estudios sobre lectinas se sugirió la idea de que las lectinas representarían un sistema de defensa de las plantas (en base a la aparente similitud de las lectinas con los anticuerpos, hoy totalmente desechada). Sin embar-

go, aunque las lectinas no se pueden asimilar a anticuerpos, podrían ser responsables de la incompatibilidad entre polen y estigma para prevenir autofertilización<sup>24, 29</sup>.

En lo que hace a las lectinas de Leguminosas, varios autores sugieren que existe una interacción entre la planta huésped y la bacteria del género *Rhizobium*. Se han encontrado, en efecto, interacciones entre lipopolisacáridos de distintas bacterias de este género y lectinas de la raíz de Leguminosas.

Las bacterias del género *Rhizobium* son capaces de infectar las raíces de las Leguminosas originándose un nódulo en el cual el nitrógeno atmosférico es fijado por la bacteria como amonio. El proceso "infeccioso" está restringido a combinaciones definidas de *Rhizobium* y Leguminosa<sup>30, 31</sup> y estas restricciones estarían ligadas a la presencia de lectinas en las raíces de las Leguminosas que son específicas para receptores de determinados géneros de *Rhizobium*. Estos resultados son, sin embargo, cuestionados por otros autores<sup>32, 33</sup>.

#### *Lectinas de origen animal*

La existencia de las lectinas en animales ha sido conocida desde el descubrimiento de una aglutinina<sup>34</sup> en la hemolinfa del merostomado *Limulus* sp. en 1903. Así se inició la búsqueda de lectinas en invertebrados. Entre 1912 y 1920 se descubrió una aglutinina "natural" que aglutinaba hematíes de conejo, cordero y bacterias, presente en los crustáceos *Eupagurus prideauxi*, *Eupagurus bernhardus* y *Maia squinado*. Estos primeros trabajos se hicieron intentando investigar la evolución del sistema inmune. El descubrimiento de estas aglutininas hizo creer que se trataba de anticuerpos. No obstante hoy está claramente demos-

trado que estas sustancias proteicas (a las cuales incluso Prokop *et al.* llamaron "protectinas"<sup>35, 36</sup>, al igual que las lectinas de origen vegetal no se parecen a las inmunoglobulinas de los mamíferos en cuanto a su estructura y peso molecular ni en cuanto a su estabilidad.

En 1964, Johnson descubrió la primer hemoaglutinina no-inmune<sup>37</sup>, grupo específica, de origen no vegetal: se trataba de una proteína anti-A<sub>1</sub> obtenida de la hemolinfa de la almeja *Saxidomus giganteus*. Esta lectina, al igual que las lectinas anti-A<sub>1</sub> vegetales, era específica para la N-acetilgalactosamina. Un año más tarde Boyd y Brown<sup>38</sup> y Prokop *et al.*<sup>39</sup> informaron simultáneamente sobre el hallazgo de lectinas grupo específicas anti-A en la glándula del albumen de ciertos caracoles (*Otala lactea* y *Helix hortensis*, respectivamente).

Posteriormente se estudiaron la mayor parte de las clases de invertebrados, pero sin duda corresponde a los moluscos, gastrópodos y pelecípedos el mayor número de especies investigadas. En el extenso trabajo de Vasta<sup>7</sup> puede encontrarse una detallada lista de las especies estudiadas, la localización de la lectina y su actividad. Como allí se indica, la mayor parte de los trabajos han sido realizados sobre extractos salinos del cuerpo entero de los animales malaxados en mortero, en extractores de jugos o en prensas. Otros se han efectuado sobre hemolinfa u otros fluídos. También se investigaron órganos como la glándula del albumen del aparato reproductor de los helícidos. El hallazgo de lectinas en las ovadas de estas especies concuerda con sus orígenes en la glándula del albumen y sustenta la hipótesis de su función protectora que dio origen al nombre de "protectinas".

En cuanto a la actividad, es diversa.

Se ha detectado poder aglutinante contra hematíes de distintas especies animales e incluso especificidad anti-A, anti-B, anti-N y anti-ABO humanos. Vasta<sup>7</sup> estudió nueve especies de moluscos dulceacuícolas y mariscos y encontró actividad anti-A, anti-(A+B), anti-A<sub>1</sub> y anti-H.

En un trabajo conjunto con Vasta y Palatnik uno de nosotros (H.A.M.) estudió la reactividad serológica de extractos de la glándula del albumen de *Otala lactea* y *Helix aspersa* frente a hematíes O<sup>P</sup> y A<sup>P</sup> de cerdo. La primera demostró reactividad poco intensa frente a O<sup>P</sup> y A<sup>P</sup>; en cambio la última es muy activa frente a ambos antígenos. El extracto de *Helix aspersa* fue absorbido repetidamente con hematíes O<sup>P</sup> hasta hacerla prácticamente específica frente a A<sup>P</sup>. La lectina así obtenida era selectivamente anti-A<sub>1</sub> humano, quedando demostrada la posibilidad de obtener un reactivo anti-A<sub>1</sub> humano, barato y aceptable<sup>40</sup>.

En cuanto a la especificidad de estas lectinas frente a distintos carbohidratos, a pesar de que al principio se consideró que las existentes en la glándula del albumen de ciertos caracoles eran monoespecíficas anti-carbohidrato, pronto se descubrió que no era así y que las lectinas (tanto vegetales como animales) poseían una cierta flexibilidad en la conformación de las áreas de combinación. Por ejemplo, si bien la lectina de *Helix pomatia* detecta la  $\alpha$ -N-acetil-D-galactosa terminal no reductora, también es fuertemente inhibida por la N-acetil-D-glucosa, polímeros de la  $\alpha$ -D-glucosa o estructuras  $\alpha$ -1 $\rightarrow$ 6-galactosa<sup>41</sup>.

También en el caso de los invertebrados (al igual que en vegetales) se ha discutido el rol biológico de las lectinas y al respecto se han tejido varias hipótesis<sup>7</sup>.

a) Se ha considerado a las lectinas de invertebrados como transportadoras de

glúcidos. Esta función es factible en invertebrados y particularmente moluscos, ya que en general son herbívoros y deben digerir, transportar y almacenar diversos azúcares incorporados de vegetales.

b) Prokop<sup>42</sup> ha explicado la presencia de lectinas en huevos de peces como constituyentes de un mecanismo de captura de sustancias importantes para el crecimiento del propio organismo y su nutrición. También podrían capturar bacterias con el mismo propósito y adicionalmente cumplir una función protectora. Otros postulan una función similar entre los caracoles.

c) Se ha sugerido también que las lectinas de algunos invertebrados podría ser utilizada para el transporte de iones calcio para ser depositados en la conchilla. Esta hipótesis se basa en el papel fundamental del Calcio en el mantenimiento de la integridad de las lectinas o en su poder aglutinante<sup>43</sup>.

d) La hipótesis más aceptada es la que le asigna funciones defensivas como opsoninas, sustancias inmovilizantes de parásitos, citolíticas, bactericidas, antivirales y tóxicas<sup>7, 44</sup>.

También se han encontrado lectinas en los vertebrados. Algunas de ellas se detectan en el desarrollo de los embriones de los mismos<sup>45</sup>. En nuestro país Fink *et al.* han detectado lectinas en extractos embrionarios de *Bufo arenarum* que podrían cumplir una función importante entre los factores involucrados en las interacciones celulares durante el desarrollo embrionario<sup>46, 47</sup>.

En el caviar del salmón *Salmo salar* existe una potente aglutinina anti-B sólo detectable con hematíes tripsinizados o papainizados. En el mismo género se demostró una aglutinina anti-B en la trucha arco iris *Salmo irideus*<sup>48-50</sup>.

En este punto es preciso aclarar que

las lectinas pueden ser subdivididas en base a si se hallan o no integradas a la membrana celular. Las lectinas integradas a la membrana, o *endolectinas*, sólo pueden solubilizarse mediante el uso de detergentes. Las otras, *exolectinas*, no lo requieren. Es posible que esta subdivisión refleje diferentes funciones. Las lectinas integradas a la membrana atraparían glicoconjugados circulantes "adhiriéndolos" a la membrana a veces como paso previo a su internalización a la célula. Las lectinas solubles se moverían libremente en el compartimiento acuoso interaccionando con los glicoconjugados solubles y los adheridos a las membranas plasmáticas.

En un caso particular, descrito por Ashwel en 1974, una lectina de la membrana de las células hepáticas, la hepatolectina, parece servir de medio para eliminar glicoproteínas envejecidas que circulan en las sangre; las fija y las transporta a la célula donde son destruidas<sup>51</sup>. Esta proteína de los mamíferos es específica para los beta-galactósidos. También se han detectado lectinas hepáticas y retículo-endoteliales que reconocen manosa, N-acetilglucosamina y fucosa<sup>52, 53</sup>.

Otra lectina soluble se ha encontrado en músculo de embrión de pollo, específica para la N-acetil-galactosamina. Además un grupo de lectinas de bajo peso molecular fue aislado de diversas fuentes como la anguila eléctrica<sup>53</sup>. Este grupo de lectinas es específico para los beta-galactósidos. Se la ha denominado electrolectina y se encuentra en varias clases de cordados, desde teleósteos a pájaros y mamíferos, incluyendo el hombre. La lectina hepática pertenecería a este grupo<sup>54</sup>.

En el caso de la anguila *Electrophorus electricus*, la electrolectina ha sido aislada de su órgano eléctrico.

Por último no podemos dejar de destacar la lectina presente en suero de anguila, de especificidad anti-H frente a hematíes humanos, cuyo poder aglutinante es inhibido por la L-fucosa<sup>10</sup>.

Estudios realizados sobre la capacidad inhibitoria de los metil-L-fucopiranosidos y metil-L-fucofuranósidos demostraron que la estructura  $\alpha$ -L-fucopiranosil brindaba la unión más estrecha con la aglutinina de anguila.

Para terminar, como ya hemos dicho anteriormente, se considera hoy lectinas a ciertas proteínas presentes en humanos, tales como la proteína-C-reactiva y la fibrocetina.

La proteína C-reactiva es una beta globulina que se encuentra en suero de pacientes con diversas enfermedades inflamatorias. Se fija a diversas bacterias y promueve su fagocitosis por los polimorfonucleares<sup>55</sup>. Esta lectina parece identificar al polisacárido C presente en las membranas de varias bacterias (*Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*).

La fibronectina es una proteína de elevado peso molecular. Cuando está presente en las superficies de las células epiteliales de la orofaringe es capaz de cubrir los receptores para bacterias en la célula epitelial, impidiendo la adhesión de los agentes patógenos. Pero esta parece ser sólo una de sus funciones. Su nombre, del latín *fibra* (fibra) y *nectere* (unir, conectar) refleja la más obvia de sus funciones: sirve de cable y conector, uniendo células entre sí o con otras clases de fibras de la matriz extracelular<sup>56</sup>. En el tejido normal la fibronectina actúa en conjunto con otras proteínas adhesivas y mantiene a las células en su lugar regulando la migración. La alteración de este mecanismo regulador produciría la metástasis en el cáncer. La fibronectina

se encuentra en forma soluble en la sangre (formando junto a otras proteínas como la ya mencionada proteína C-reactiva el grupo de proteínas de fase aguda) y en otros fluidos extracelulares como el líquido amniótico, el líquido sinovial y el cerebro-espinal y en forma insoluble en la superficie celular siendo el mayor componente no colágeno del estroma de los órganos<sup>57</sup>.

#### *Lectinas en bacterias, hongos y virus*

Se ha encontrado que también las bacterias producen lectinas. Algunas de estas lectinas bacterianas tienen un importante papel en la patogenicidad bacteriana e incluye exotoxinas y proteínas de superficie que están implicadas en la exaltación de la adhesión específica de la célula bacteriana a la célula eucariótica.

La mayoría de las lectinas de superficie (adhesinas o factores de colonización) parece reconocer oligosacáridos complejos de la superficie de la célula eucariótica<sup>58</sup>.

La superficie de las bacterias puede presentar flagelos que son órganos locomotivos y otros filamentos más cortos y gruesos conocidos como fimbrias o pelos. Las lectinas bacterianas se han descubierto en estos últimos órganos así como en la misma superficie bacteriana.

Se ha estudiado con bastante atención, por ejemplo, las fimbrias o pelos de *Escherichia coli*. En las fimbrias tipo I (que tienen un diámetro de 7,0 nm y 100 nm de largo y de los cuales hay unos 100 a 200 por bacteria) se ha encontrado evidencia de múltiples sitios de unión (con capacidad hemoaglutinante) a lo largo del órgano<sup>59</sup>.

El estudio de la especificidad a distintos monosacáridos de las lectinas bacterianas ha ofrecido resultado diverso. Las lectinas de *Escherichia coli*, *Vibrio*

*cholerae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhimurium* eran específicas para la D-Manosa. Sin embargo en *Vibrio cholerae* se ha encontrado especificidad para la L-fucosa.

En *Streptococcus pyogenes*, *Fusobacterium nucleatum* y *Actinomyces viscosus* la especificidad es para la D-galactosa, en cambio para la *Pseudomonas aeruginosa* es para la N-acetilgalactosamina y la D-galactosa. La especificidad para el ácido siálico se encuentra en *Mycoplasma pneumoniae* y en *Neisseria gonorrhoeae*<sup>58</sup>.

Es importante destacar que aunque algunas especies y razas producen un solo tipo de fimbrias, es creciente la evidencia de que una raza puede producir distintas clases de fimbrias con diferente especificidad<sup>58</sup>.

Se ha estudiado el caso de *Escherichia coli* que produce infecciones del tracto urinario y pielonefritis y se ha descubierto que sus fimbrias interactúan con un glicoesfingolípido del grupo de los globósidos y que esta interacción es probablemente el primer paso en la infección<sup>60</sup>. El hecho notable es que la lectina bacteriana se une a los tres primeros azúcares ligados al lípido ceramida (anclado en la membrana) y no a los azúcares terminales. Es decir que la lectina bacteriana esta preparada para reconocer cortas secuencias internas que pueden ser mostradas por el glucoesfingolípido insertado en la membrana de la célula huésped (nótese que en este caso el receptor de la lectina es un glicoesfingolípido, así como son glicoesfingolípidos las moléculas responsables de los grupos sanguíneos y, como vemos más adelante, ciertos marcadores de las células tumorales.

Un hecho interesante es que algunos componentes de la flora intestinal nor-

mal compiten por los mismos receptores con bacterias patógenas. Por ejemplo *Propionibacterium* sp. tiene una lectina capaz de unirse con un glicosfingolípido llamado lactosilceramida el cual es un precursor del glicosfingolípido que identifica la lectina de *Escherichia coli*.

La cara externa de la membrana de *Neisseria gonorrhoeae* también contiene una proteína, llamada Proteína II, que es un instrumento de adhesión de la bacteria. Con dicha denominación se designa una familia de proteínas de peso molecular entre 27.500 y 29.000<sup>61</sup>. La presencia de Proteína II en la membrana de *Neisseria gonorrhoeae* aumenta la adhesividad a células de la mucosa bucal.

En el caso de la *Pseudomonas aeruginosa* (que es una de las bacterias patógenas más importantes del hombre) se han descubierto dos lectinas, lo que explica su especificidad a los monosacáridos de que hablamos más arriba: la lectina PA-I es específica para la D-galactosa y sus derivados y la lectina PA-II lo es para la L-fucosa y la D-manosa en menor proporción. La producción de estas lectinas parece ligada a la producción de proteasas, hemolisina y pirocianina por la bacteria y se ha sugerido que esto se debe a que las lectinas están involucradas en la organización o la producción, transporte o secreción de los tres factores extracelulares mencionados<sup>62</sup>.

Hace ya unos treinta años se tuvo evidencia de que un gangliósido<sup>60</sup> (un tipo de esfingolípido) interactuaba con la toxina tetánica. Posteriormente se confirmó que el mismo gangliósido era receptor de la toxina del cólera (esta toxina actúa afectando la permeabilidad de la membrana). Nuevas investigaciones han demostrado que los gangliósidos interactúan con importantes sustancias como la toxina botulínica, serotonina, in-

terferón, interleuquina, hormonas y virus.

Una lectina acomplejada con la toxina botulínica puede ser responsable de una más estrecha asociación entre el sitio activo de la molécula de la toxina y su receptor. Actuaría entonces como un agente de unión<sup>63</sup>. Un mecanismo similar se ha descrito para virus, para las toxinas abrina y ricina y para las toxinas del cólera y tetánica<sup>64-66</sup>.

Para finalizar, constituyen un ejemplo interesante de lectinas en hongos, aquellas que existen en hongos nematófagos.

Los nematodos son habitantes comunes del suelo, algunos de los cuales se alimentan de bacterias y hongos, y otros son parásitos de plantas. Los hongos nematófagos comprenden un grupo taxonómicamente heterogéneo pero con la propiedad común de poder utilizar nematodos como alimento<sup>67</sup>. Estos hongos capturan sus presas mediante redes, brazos o anillos adhesivos<sup>68</sup> y la especificidad de esta adhesión se debe a la presencia de lectinas, que se unen a residuos carbohidratos de la superficie del nematode (aparentemente N-acetilgalactosamina). La unión de la lectina con el carbohidrato constituiría un primer paso que permitiría posteriormente la penetración de la cutícula del nematode y su posterior digestión.

#### AISLAMIENTO Y PURIFICACION DE LAS LECTINAS

Hace algo más de una década que las lectinas han podido purificarse con una pureza verificable por métodos fisicoquímicos e inmunoquímicos<sup>15</sup>.

En 1936 Summer y Howell cristalizaron la lectina concanavalina A, pero no pudieron eliminar completamente los carbohidratos contaminantes.

El aislamiento de una lectina comienza con una extracción con solución sali-

na (o buffer) del material de la cual se obtiene. Nosotros hemos obtenido un extracto de *Dolichos biflorus* moliendo la semilla en un molinillo de café, extrayendo con solución fisiológica y centrifugando posteriormente. El extracto así obtenido, convenientemente diluído, poseía una aceptable actividad anti A<sub>1</sub> humano.

A veces se emplea una extracción previa con un solvente orgánico (metanol o éter etílico) para remover los lípidos.

El fraccionamiento con sulfato de amonio, posterior centrifugación y redisolución del precipitado brinda un líquido que contiene lectinas.

En la actualidad los esquemas de purificación de lectinas emplean la cromatografía de afinidad que aprovecha la capacidad de unirse a azúcares (más o menos específicamente) de la lectina.

Básicamente un carbohidrato (con el cual la lectina actúa) es insolubilizado uniéndolo a Sephadex, Sepharosa, etc.<sup>69</sup>. Luego se pone en contacto con el extracto a purificar. La lectina se fijará y podrá ser posteriormente eluída. Esta elución se puede hacer con un azúcar que compite por la lectina con el carbohidrato insolubilizado o alterando las condiciones en las cuales la lectina se halla fijada (disminuyendo el pH, incrementando la fuerza iónica o mediante desnaturalizantes).

Ultimamente se han descrito métodos para purificar lectinas que utilizan fantasmas de glóbulos rojos (los restos de membranas de hematíes hemolizados)<sup>70</sup>. En algunos métodos estos fantasmas de glóbulos rojos son polimerizados previamente a su uso; en otros se usan sin polimerizar<sup>71-73</sup>.

Es interesante establecer mecanismos de control de calidad de las lectinas ya purificadas. Riikola y Weber<sup>74</sup> han realizado una serie de determinaciones para

evaluar la calidad de las lectinas de *Phaseolus vulgaris* que se obtienen en el comercio.

Las preparaciones comerciales fueron examinadas de acuerdo a las siguientes propiedades:

a) Se comprobó visualmente la solubilidad de las preparaciones después de disolverlas de acuerdo a las instrucciones de cada fabricante.

b) El contenido proteico fue determinado midiendo la absorción a 280 nm, considerando una absorción específica de 1,14/cm para una solución de 1 g/l de proteína.

c) Electroforesis de acuerdo al método de Reisfeld *et al.*<sup>75</sup>.

d) La esterilidad fue chequeada por incubación de las muestras disueltas a 37 °C durante 48 hs en tubos con tioglicolato y a 37 °C durante 24 hs en agar chocolate.

e) Se determinó la capacidad leucoaglutinante y critroaglutinante y la capacidad de estimular la actividad de linfocitos.

Dado el uso creciente de las lectinas, sería de interés ir estableciendo métodos de control de calidad para cada una de ellas.

#### ESTRUCTURA DE LAS LECTINAS

Cuando se comenzó a estudiar las lectinas se las consideró como anticuerpos vegetales. Hoy se sabe que esta hipótesis no es cierta por varias razones<sup>1</sup>:

a) Los anticuerpos son el producto del sistema inmune de los animales superiores (no existen anticuerpos propiamente dichos en los invertebrados) que responden al estímulo de una sustancia extraña para cada individuo produciendo dichos anticuerpos. Las lectinas se encuentran presentes como proteínas constituyentes del organismo (y en muchos

casos en organismos que, como las plantas, bacterias o invertebrados son incapaces de generar respuesta inmune.

b) La especificidad de los anticuerpos es más amplia que la de las lectinas. Estas sólo se unen a carbohidratos en tanto que los anticuerpos se unen además a otros compuestos.

c) En cuanto a su estructura química, mientras que los anticuerpos tienen una estructura similar, la de las lectinas no guarda ninguna relación con lo que hoy podríamos llamar la superfamilia de las inmunoglobulinas e, incluso, difieren mucho entre sí. El estudio de la composición de aminoácidos, del peso molecular y de otras propiedades moleculares de distintas lectinas pone de manifiesto que poseen pocas características comunes, excepto la de que todas ellas son proteínas.

No obstante lo anterior, trataremos de sintetizar algunos de los estudios estructurales efectuados sobre las lectinas.

Los estudios de extractos purificados de lectinas de leguminosas revelaron la existencia de dos grupos de proteínas:

1. Compuestos de un solo tipo de cadena polipeptídica.
2. Compuestos de dos tipos de cadena, una liviana (A) y otra pesada (B)<sup>76</sup>.

En el caso de la concavalanina-A (Con-A) se encontró que estaba compuesta de subunidades dispuestas asimétricamente, de peso molecular 25.500, unidas como dímeros, tetrámeros y formas de alto peso molecular dependientes del pH: a pH inferior a 5,6 Con-A existe como dímero en solución (PM = 55.000) a pH 5,6 forma un tetrámero (PM = 112.000), y a pH 7 está como agregados de alto peso molecular<sup>12</sup>. Cada subunidad posee un sitio de unión y además un átomo de  $Mn^{+2}$  y uno de  $Ca^{+2}$ .

Cada cadena posee una secuencia de

238 aminoácidos, y la molécula de Con-A adquiere una estructura globular.

La toxina de *Ricinus communis* tiene un peso molecular de 60.000 y consiste en dos cadenas distintas unidas por puentes disulfuro. La subunidad A tiene peso molecular 28.000 y la B 32.000. La composición aminoácida de ambas unidades ha sido determinada y muestran una gran similitud. Esta toxina se une a un carbohidrato de la membrana celular de las células eucarióticas por medio de la subunidad B mientras que la subunidad A inhibe la síntesis de proteínas. De esto surge su toxicidad: primero se une a la célula y luego (ingerida por ésta) produce efectos tóxicos. La subunidad B es una lectina con especificidad hacia la galactosa<sup>77</sup>.

La lectina de la lenteja (*Lens culinaris*) está compuesta por dos cadenas livianas (A) y dos pesadas (B)<sup>76</sup>.

En *Viscum album* se han aislado tres lectinas. La lectina I es una glicoproteína de PM 115.000 y consiste en dos subunidades unidas en forma no covalente. Cada subunidad está formada por dos cadenas de PM 29.000 y 34.000 unidas por puentes disulfuro<sup>78</sup>. Esta lectina I ha sido estudiada por sus efectos citotóxicos sobre algunas células tumorales<sup>79</sup>.

En cuanto a las lectinas solubles aisladas de vertebrados, capaces de unirse a beta-galactósidos, las mejores estudiadas son el grupo de proteínas diméricas encontradas en la anguila eléctrica, pollos, ratas y hombre<sup>80</sup>. Estas lectinas son similares en el peso molecular de sus subunidades y en su estructura dimérica y también en que requieren un agente reductor para mantener su capacidad de unirse a un carbohidrato.

Otro grupo de lectinas de vertebrados capaces de unirse a beta-galactósidos puede ser aislado como monómeros. La

que fue examinada con más detalle fue purificada de un intestino de pollo y designada como Lactosa-lectina II. Esta difiere de la Lactosa-lectina I en que se trata de un monómero, en el punto isoeléctrico, en su composición aminoacídica y en que es inmunológicamente distinta.

Otra lectina aislada de la anguila *Anguilla rostrata*, es multimérica (12 unidades).

Para terminar, la ya mencionada fibronectina consiste en dos unidades similares unidas por un par de uniones disulfuro. La acción de enzimas proteolíticas revela que cada unidad está subdividida en dominios, con lo cual la proteína está estrechamente plegada y se hace resistente a la degradación<sup>56</sup>.

#### ALICACIONES DIAGNOSTICAS Y FARMACOLOGICAS

##### *Aplicaciones diagnósticas*

Hemos mencionado ya la capacidad de diferenciar grupos sanguíneos humanos por parte de distintas lectinas vegetales y animales. Esta circunstancia las convierte en un reactivo diagnóstico de relativamente fácil obtención y bajo costo para el país. Además implica la necesidad de profundizar el estudio de vegetales y animales argentinos para obtener fuentes propias de dichos reactivos potenciales.

La reactividad de la lectina de *Helix aspersa* frente a hematíes A<sup>P</sup> de cerdo y A<sup>1</sup> humanos a que hemos hecho mención<sup>40</sup> es importante por razones obvias en el caso de hematíes humanos y, en el caso de los hematíes A<sup>P</sup> de cerdo, porque se ha descubierto que las mujeres embarazadas cuyos hijos sufren una enfermedad hemolítica por incompatibilidad A presentan anticuerpos anti-A<sup>P</sup>. La tipificación de los hematíes A<sup>P</sup> de cerdo es un paso previo a su utilización como reactivo diagnóstico en dicha enferme-

dad y ese era el sentido de nuestro trabajo.

Además, aprovechando que las lectinas son proteínas capaces de reconocer estructuras glucídicas, pueden ser utilizadas para la caracterización de glicoconjugados solubles, celulares y tisulares, en individuos normales y con patologías diversas.

Esto exige el desarrollo de métodos de estudio de las interacciones entre lectinas y estructuras glucídicas suficientemente rápidos y sensibles<sup>81</sup>. Diferentes técnicas generalmente adaptadas a la inmunología y la inmunoquímica podrían ser utilizadas, usando lectinas en su estado nativo o modificadas.

Un "screening" regular *in vitro* de membranas solubilizadas enfrentadas a una batería de lectinas por difusión en gel de agar o por otras técnicas más refinadas podría ayudar a identificar y aislar receptores de membrana que son elementos que confieren individualidad a las células, determinando su comportamiento social.

No podemos dejar de mencionar en este punto el ampliamente difundido uso de algunas lectinas como activadoras o estimuladoras de los linfocitos cumpliendo lo que se ha dado en llamar una función mitogénica. La activación linfocitaria es un término que se refiere a un fenómeno que ocurre *in vitro*, pero que seguramente se corresponde con funciones que *in vivo* tienen que ver con procesos que ocurren cuando un antígeno interactúa con linfocitos específicos<sup>55</sup>. La activación linfocitaria es una técnica *in vitro* comúnmente usada para evaluar la inmunidad celular en enfermos con inmunodeficiencias, autoinmunidad, cáncer, etc. Una multitud de fenómenos bioquímicos ocurren después de la incubación con mitógenos (sustancias que estimulan un

gran número de linfocitos y no requieren huésped sensibilizado alguno): aumento de la síntesis de fosfolípidos, aumento de la permeabilidad a los cationes divalentes, elevación del AMP-cíclico intracelular, síntesis de ARN, proteínas y finalmente ADN y por último la división celular. Todo esto tal vez tenga que ver con recientes estudios sobre cómo los receptores de membrana transmiten mensajes (a través de otras sustancias llamadas "segundo mensajero") al interior de las células provocando muy distintos efectos. Existen, según Berridge<sup>82</sup>, dos rutas de transmisión: una utiliza como segundo mensajero al AMP-cíclico, en tanto que la otra utiliza un grupo de sustancias: iones  $Ca^{+2}$ , trifosfato de inositol y diacetilglicerol.

Aunque pueden existir otras formas de activación, en el caso de la división celular se ha postulado que la señal externa (en nuestro caso la lectina) activaría de alguna manera la segunda vía de "segundos mensajeros": el trifosfato de inositol inmovilizaría el calcio intracelular, el diacetilglicerol activaría la quinasa C, la cual por su parte activa el mecanismo de intercambio de iones unidos a la membrana. Por esta vía se extraen protones de la célula y aumenta el pH. La activación de calcio y el aumento de pH contribuyen a la síntesis de ARN, proteínas y ADN.

La fitohemoaglutinina (PHA), lectina de la semilla de *Phaseolus vulgaris* y la concaivalina-A (Con-A, lectina de *Canavalia ensiformis*) son predominantemente mitógenos para los linfocitos T mientras que la lectina de *Phytolacca americana* estimula principalmente a las células B<sup>55</sup>.

El uso de las lectinas como activadores linfocitarios permitió dar un gran salto en el estudio de la respuesta inmune y los estudios cromosómicos, ya que los

antígenos sólo podían estimular la proliferación en cultivos de un pequeñísimo número de linfocitos (1 de cada 1.000).

Por otra parte el descubrimiento relativamente reciente de que por lo menos algunas lectinas pueden diferenciar células malignas de células normales las convierte en una potencial herramienta de diagnóstico en casos de cáncer. Este descubrimiento fue realizado en 1963 por Aub<sup>14</sup> trabajando con la lectina del germen de trigo y desde entonces se inició una nueva era en la investigación de las lectinas. Posteriormente Sachs e Inbar del Weizman Institute of Science de Israel utilizaron con el mismo fin concaivalina-A<sup>13</sup>.

Por lo general las células malignas se aglutinan con bajas concentraciones de lectina (10 a 15  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) mientras que las células normales necesitan una concentración 10 a 20 veces mayor. Y es interesante destacar que las lectinas se unen en igual proporción a ambas clases de células, pero sólo las malignas aglutinan. En las células normales las lectinas fijadas se distribuyen uniformemente en la superficie, mientras que en las malignas se agrupan en manchas o parches, lo que facilita su aglutinación. Es más, se pudo demostrar que aún en el caso de células normales un pequeño número aglutina y estas son las que están en proceso de división.

Es como si las membranas de las células en proceso de división activa (y las células malignas lo están) fueran más fluidas o móviles, lo que permitiría el agregado en parches de las lectinas fijas. Esto recuerda el fenómeno de "capping" o cofia que producen los antígenos (y la antigammaglobulina humana) cuando interactúan con las inmunoglobulinas de superficie de los Linfocitos B como paso previo a su endocitosis, hecho clave para

el desarrollo de la respuesta inmune mediada por anticuerpos.

Más profundos estudios de estos aspectos permitirían no sólo utilizar lectinas para diagnóstico sino conocer más sobre la relación entre las transformaciones de la membrana plasmática y las alteraciones malignas, así como sobre el papel de la membrana plasmática sobre el comportamiento "social" de la célula tumoral invasiva a diferencia de la normal.

Un uso diagnóstico potencial surge también de estudios realizados en nuestro país sobre receptores para lectinas en la superficie de epimastigotes de *Trypanosoma cruzi*<sup>83</sup>. En ellos se afirma que el empleo de las lectinas puede ser un método valioso para estudiar cambios en la superficie del parásito que pueden estar relacionados con la adhesión y penetración celular, así como para diferenciar distintas especies y estadios del mismo.

Cabe mencionar además el uso de lectina de *Ulex europæus* para determinar el carácter H-secretor de una población de Indios Tobas de Fortín Lavalle (Chaco) efectuado por Etcheverry *et al.*<sup>84,85</sup>.

Por último las lectinas pueden ser usadas para purificar gran variedad de glicoconjugados (enzimas, hormonas, interferón y varios antígenos).

Existen en el comercio productos importados para realizar cromatografía de afinidad que podrían ser fabricados aquí, lo cual requiere la profundización de la investigación de nuevas fuentes de lectinas en el país, la purificación de las mismas y el desarrollo de métodos adecuados de control de calidad de los productos obtenidos.

#### *Aplicaciones farmacológicas*

Aun cuando las aplicaciones terapéuticas están todavía en su fase experimen-

tal, queremos nombrar algunas de ellas con el objeto de poner de manifiesto su posiblemente muy amplia capacidad de utilización:

a) La esclerosis en placa o esclerosis múltiple es una afección inflamatoria del sistema nervioso central frecuente en zonas templadas. En el sistema nervioso central se desarrollará un proceso inmunopatológico, con aumento de inmunoglobulinas en líquido cefalorraquídeo y en el parénquima cerebral. Existen anticuerpos en sangre circulante que posiblemente posean actividad tóxica con respecto al sistema nervioso central ya sea destruyéndolo, desmielinizándolo o bloqueando procesos fisiológicos vinculados a la transmisión del flujo nervioso. Los linfocitos de la sangre parecen tener efectos citotóxicos frente a las células nerviosas<sup>86</sup>. Con el objeto de conocer más sobre las causas de esta enfermedad se ha desarrollado una afección autoinmune experimental: la Encefalitis Alérgica Experimental (EAE), producida en animales susceptibles, por inyección del tejido del sistema nervioso central o mielina en coadyuvante completo de Freund<sup>87,88</sup>.

Aparentemente la enfermedad la producen linfocitos T citotóxicos sensibilizados frente a la mielina. Investigaciones realizadas en EAE sobre el efecto de concanavalina-A (un mitógeno policlonal de linfocitos T como ya se dijo) previos a la inyección de cordón espinal de bovino, demostraron una disminución de los síntomas posiblemente por la activación de linfocitos T supresores que deprimirían la actividad de los linfocitos T citotóxicos.

Tal vez en el futuro el uso de lectinas podría incidir positivamente sobre los mecanismos regulatorios del sistema inmune en este tipo de enfermedades de autoagresión.

b) La rinitis alérgica, así como muchas clases de asma y eczema, son enfermedades mediadas por anticuerpos IgE. La fijación de IgE a los mastocitos (por su Fc) y a los alérgenos causa la degranulación de dichas células y la liberación de agentes vasoactivos como la histamina, provocándose así la inflamación local.

Se ha observado que tanto la PHA (*Phaseolus vulgaris*) como la concaavalina-A y la lectina de *Ricinus communis* pueden estimular también la degranulación del mastocito. Por el contrario la degranulación es inhibida por las lectinas del *Ulex europæus* y de *Sophora japonica*<sup>89, 90</sup>. Se ha observado también que, cambiando las circunstancias, lectinas que producen degranulación, la inhiben. Un caso interesante es que la lectina de *Viscum album* inhibe la liberación de histamina en los basófilos de pacientes con asma bronquial alérgico son pretratados con dicha lectina.

Se sabe que la IgE contiene 10,7-12,1% de carbohidratos en la porción Fc de la molécula. Según afirman Schrt y Luther<sup>91</sup> la lectina galactosa-específica de *Viscum album* se unirá a dichos carbohidratos de la IgE provocando una alteración estérica en la molécula que impide la formación de puentes alérgeno-IgE sobre la superficie del mastocito, paso previo a la formación de "parches" y de la endocitosis posterior por la célula, que luego se degranulará. Los mismos autores sostienen que otra explicación posible es que la lectina se una a la membrana del basófilo, causando estabilización y evitando, por esta vía, la formación de "parches" Ig-E-alérgeno.

De todos modos la demostración de propiedades anti-alérgicas de la lectina de *Viscum album* podría explicar el efecto positivo de preparaciones de dicha planta en la medicina tradicional, en casos de

asma.

Más aún, hasta aquellas lectinas que como concaavalina-A desatan la liberación de histamina podrían usarse médicamente en enfermedades como la fibrosis quística o mucoviscidosis. Esta es una enfermedad hereditaria de los niños causada por una alteración enzimática que produce una secreción particularmente viscosa y adherente. La causa primaria no es conocida pero tiene efectos altamente perjudiciales. El mucus no puede ser eliminado de las membranas del tracto respiratorio (fenómenos análogos se producen en el intestino en el síndrome ileo meconial y en el páncreas en la fibrosis quística del páncreas), se producen bloqueos en los tubos y sobrevienen infecciones. La infección incentiva la producción de mucus y el fenómeno se recicla. La mayoría de los pacientes mueren antes de llegar a la edad adulta.

Según Freed<sup>92, 93</sup>, la inhalación o ingestión de concaavalina-A podría ayudar a la expulsión de mucus, ya que el plasma exudado por sus efectos alérgicos disminuiría la viscosidad del mismo.

c) La adición de PHA a la dieta de animales jóvenes retarda su tasa de crecimiento reduciendo la absorción intestinal de glucosa en un 50% y causando un balance nitrogenado negativo<sup>94, 95</sup>. La ingestión de "lectinas" podría ser utilizada en casos de obesidad.

Se ha reportado también el uso de lectinas en casos de diabetes<sup>96, 97</sup>. En efecto, en casos de diabetes insulina dependientes moderadas (menos de 30 unidades de insulina por día) una dieta adecuada de leguminosas permitió eliminar el uso de la hormona. La adición de la lectina obtenida de *Phaseolus vulgaris* o de concaavalina-A a la dieta podría ser capaz de producir efectos semejantes.

d) El caso mencionado más arriba, de

los hongos nematófagos demuestra que en este grupo se pueden encontrar promisorios candidatos como agentes de control biológico de nematodos fitopatógenos<sup>98</sup>.

e) Hemos mencionado ya que las bacterias, virus y toxinas como la botulínica se unen por medio de lectinas a receptores de la superficie de las células.

Se ha explorado la posibilidad de que lectinas de la superficie bacteriana convenientemente purificadas sean usadas para bloquear los receptores de las células que pueden ser atacadas. Se ha experimentado con ratones a los que se les administró oralmente lectina del cólera purificada, y de esta manera quedaron protegidos frente a ataques posteriores del agente patógeno. En otros casos se ha usado receptor purificado que compite por la lectina bacteriana con el receptor celular. Estas experiencias se hicieron en ratones con *Escherichia coli* en el tracto urinario<sup>99, 100</sup>.

Estas investigaciones sobre lectinas y sus receptores específicos para encontrar nuevos mecanismos terapéuticos se corresponde con el concepto farmacológico de que si una droga actúa sobre receptores especializados propios de tipos específicos de células, sus efectos son más específicos. La droga ideal hipotética ejercería su efecto terapéutico en virtud de estos tipos de acción, con efectos secundarios mínimos<sup>101</sup>.

f) Ya hemos mencionado la capacidad de las lectinas de aglutinar células malignas y su potencial uso como elemento diagnóstico derivado de esta circunstancia.

Queremos detenernos, para terminar, en algunas experiencias que ponen de manifiesto su uso potencial como elemento terapéutico en esta enfermedad.

Las lectinas acopladas a drogas o en-

zimas podrían proveer una nueva terapéutica destinada a producir un efecto localizado, concentrado y más durable sobre la célula maligna blanco<sup>102, 103</sup>. Con este criterio se han hecho ya experiencias en otras afecciones. En efecto, en cultivos de fibroblastos provenientes de pacientes con la enfermedad de Fabry se ha usado concanavalina-A como vehículo para introducir en las células las galactosidasas cuya deficiencia provoca el trastorno (la angioqueratosis difusa de Fabry es una enfermedad ligada al cromosoma X que se caracteriza por la acumulación de trihexosilceramidas y digalactosilceramidas en distintos órganos y tejidos).

Reisner<sup>104</sup> recomienda el uso de lectinas para remover células malignas antes del trasplante de médula ósea en pacientes que sufren de neuroblastoma o leucemia. Este mismo autor ha empleado lectinas para eliminar timocitos inmaduros presentes en la médula ósea del dador y que intervienen activamente en los casos de reacción injerto contra el huésped, en dichos trasplantes.

Se ha afirmado también que la extraordinaria resistencia de las lectinas a la acción de enzimas proteolíticas las convertirían en un elemento terapéutico de elección para el tratamiento de tumores del tracto gastrointestinal<sup>105</sup>.

Ciertas lectinas han demostrado su capacidad de inhibir el desarrollo de las células tumorales *in vivo* o *in vitro*.

La lectina de *Ricinus communis* y del germen de trigo han manifestado esta propiedad *in vivo*<sup>11, 106-108</sup>.

Recientemente Sachs, del Instituto Weizmann de Ciencias de Israel, ha estudiado el crecimiento, diferenciación y remisión de células tumorales, investigando la acción de factores de crecimiento y de diferenciación en procesos normales y

patológicos, utilizando como modelo a células sanguíneas normales y leucémicas. El autor ha llegado a la conclusión que las células cancerosas pueden conservar las bases genéticas que permitan su diferenciación y que adecuadamente estimuladas lleguen a completar la sucesión normal de crecimiento.

En su trabajo ha establecido que en un grupo de células malignas estudiadas podría inducirse la diferenciación por otros medios distintos del factor de diferenciación normal. Entre estos medios incluye a las lectinas<sup>109</sup>.

Se encuentra también en fase experimental el uso de lectinas (PHA) para estimular el desarrollo *in vitro* de linfocitos T citotóxicos frente a tumores, que luego son reinyectados en pacientes en los cuales ha fracasado toda otra terapia<sup>110</sup>. Previamente a estas experiencias en humanos, se hicieron otras con éxito en ra-

tones y en humanos con melanoma cutáneo metastásico, inyectando los linfocitos activados directamente en los nódulos tumorales<sup>111, 112</sup>.

Por último, la disminución de la fibronectina, lectina a la que ya mencionamos, en la membrana de las células tumorales metastásicas y la elevación de la misma en el plasma de portadores tumorales serían pautas útiles para agregar en el seguimiento del enfermo bajo tratamiento, por lo que su estudio podría aportar nuevos agentes en la terapia del cáncer<sup>56, 57</sup>.

A nuestro entender todos estos elementos justifican el apoyo a las investigaciones que se realizan en nuestro país sobre lectinas y el desarrollo de otras nuevas, ya que estas sustancias pueden ser importantes elementos de diagnóstico y terapéutica.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Sharon, N. (1977) *Investigación y Ciencia* 11: 90-100
2. Franz, H. y P. Ziska (1981) en "*Lectins. Biology, biochemistry, clinical, biochemistry*". Ed. Walter de Gruyter. Berlin. New York. Vol. I: 17-21
3. Marchalonis, J.J., G.W. Warr, G.R. Vasta y B.E. Ledford (1983) "*Receptors in Biological Systems*" Ed. R. Gorkzynski, Marcel Dekker, New York
4. Vasta, G. y J. Marchalonis (1983) en "*Lectins. Biology, biochemistry, clinical biochemistry*". Ed. Walter de Gruyter. Berlin. New York. Vol. 3: 461-8
5. Stillmark, H. (1888) "*Über Rizin, ein giftiges Ferment aus dem Samen von Ricinus communis L. und einigen anderen Euphorbiaceen*". Inaug. Diss., Dorpat.
6. Boyd, W.C. y E. Shapleigh. (1954) *Science* 119: 419
7. Vasta, G. (1978) "*Lectinas en moluscos marinos y dulce-acuícolas*". Tesis. Facultad de Ciencias Exactas. Universidad Nacional de La Plata
8. Boyd, W.C. y R. Reguera (1949) *J. Inmud.* 62: 333-9
9. Renkonen, K.O. (1948) *Ann. Med. Exp. Biol. Fenn.* 26: 66-72
10. Watkins, W.M. y W.T. Morgan (1952) *Nature* 169: 825-6
11. Lis, H. y N. Sharon (1973) *Ann. Rev. Biochem.* 42: 541-74
12. Nicolson, G.L. (1974) *Int. Rev. Cytol.* 39: 89-90
13. Inbar, M. y L. Sachs (1969) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 63: 1418-25
14. Aub, J.C., C. Tieslau y A. Lankester (1963) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 50: 613-9
15. Goldstein, I. y E. Colleen (1978) *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* 35: 127-340
16. Schmidt, G. (1957) *Immunitätsforsch.* 111: 432

17. Boyd, W.C., D.L. Everhart y M.H. Mc Master (1958) *J. Immunol.* 81: 414
18. Micucci, H., G. Vasta y M. Palatnik (1974) en "Resúmenes de comunicaciones, 2da. Reunión Anual de la Sociedad Argentina de Genética". La Pampa. Argentina
19. Sen-itiroh, H. (1986) *Scientific American* 254: 32-41
20. Summer, J.B. (1919) *J. Biol. Chem.* 37: 137-42
21. Summer, J.B. y S.F. Howell (1936) *J. Bacteriol.* 32: 227-37
22. Lin, H., W.R. Bruce y M.J. Walcroft (1975) *Cancer Chemother. Rep.* 59: 319-26
23. Shoham, J., M. Imbar y L. Sachs (1970) *Nature* 227: 1244-6
24. Rüdiger, H. (1981) en "*Lectins. Biology, biochemistry, clinical biochemistry*". Ed. Walter de Gruyter. Berlin. New York. Vol. I: 1-10
25. Janzen, D.H., H.B. Juster y I.E. Liener (1976) *Science* 192: 795-6
26. Mirelman, D., E. Galun, N. Sharon y R. Lotan (1975) *Nature* 256: 414-6
27. Howard, J., L. Shannon, L. Oki y T. Murashiga (1977) *Exp. Cell. Res.* 107: 448-50
28. Hankins, C.N. y L.M. Shannon (1978) *J. Biol. Chem.* 253: 7791-7
29. Golynskaya, E.L., N.V. Bashkirova y N.N. Tomchuk (1976) *Fisiol. Rast.* 23: 88-97
30. Van der Schaal, I., J. Kijne, C. Díaz y F. Van Iren (1983) en "*Lectins. Biology, biochemistry, clinical biochemistry*". Ed. Walter de Gruyter. Berlin. New York. Vol. III: 531-8
31. Kijne, J., I. Van der Schaal, C. Díaz y F. Van Iren (1983) en "*Lectins. Biology, biochemistry, clinical biochemistry*". Ed. Walter de Gruyter. Berlin. New York. Vol. III: 521-9
32. Pull, S.P., S.G. Pueppke, T. Hymowitz y J.H. Orf (1978) *Science* 200: 1277-9
33. Dazzo, F.B., M.R. Urbano y W.J. Brill (1979) *Current. Microbiol.* 2: 15-20
34. Nogucchi, H. (1903) *H. Centr. F. Bakt. Orig.* 34: 286 (Citado por Huff, C.G. (1940) *Physiol. Rev.* 20: 68)
35. Prokop, O. y A. Rackuritz (1965) *Acta Biol. Med. Germ.* 15: 191
36. Prokop, O., G. Uhlenbruck y W. Kohler (1968) *Dtsch. Gesundh. Wes.* 23: 318
37. Johnson, H.M. (1964) *Science* 146: 548
38. Boyd, W.C. y R. Brown (1965) *Nature* 208: 593
39. Prokop, O., A. Rackwitz y D. Schelesinger (1965) *J. Forens. Med.* 12: 108
40. Vasta, G.R., H.A. Micucci y M. Palatnik (1974) en "Resúmenes de comunicaciones, 2da. Reunión Anual de la Sociedad Argentina de Genética". La Pampa. Argentina
41. Prokop, O., G. Uhlenbruck y W. Koehler (1968) *Vox Sang.* 14: 321
42. Prokop, O. (1969) *Klin. Wschr.* 47: 605
43. Palatnik, M., G.R. Vasta, N.E. Fink y M.E. Chiesa (1975) "Immunologic Phylogeny" (W.H. Hildeman y A.A. Benedict, eds.) Plenum Press, New York, pág. 19
44. Uhlenbruck, G., V. Reilenberg y M. Hegge (1970) *Z. Immun. Forsch.* 139: 486
45. Neufeld, E.F. y G. Ashwell (1980) *The biochemistry of glycoproteins and proteoglycans* (W. Lennarz, ed.) Academic Press (Citado por La Recherche, ed. española (1982) 17: 886)
46. Fink de Cabutti, N. M.T. Elola y J. Herkovits (1983) *Medicina* 43: 815
47. Fink de Cabutti, N., M.T. Elola y J. Herkovits (1985) *Acta Embryol. Exper.* 5: 169-76
48. Prokop, O., D. Schlesinger y G. Geserick (1967) *Z. Immunit. Forsch.* 132: 491
49. Uhlenbruck, G. y O. Prokop (1967) *Vox Sang.* 12: 465
50. Javosch, K., S. Schnitzler, O. Prokop y G. Uhlenbruck (1957) *Z.F. Aertzl. Fortbildg.* 61: 758
51. Bowels, D. (1982) *La Recherche* (versión española) 17: 886
52. Briles, E., W. Gregory, P. Fletcher y S. Kornfeld (1979) *The Journal of cell biology* 81: 528-37
53. Ashwell, G. y G. Morell (1977) *Trends Biochem. Sci.* 2: 76-8
54. Levi, G. y V. Teichberg (1983) *Immunology Letters* 7: 35-9
55. Stiles, D., J. Stobo, H. Fudenberg y J. Wells (1986) *Inmunología básica y clínica*. Ed. El manual moderno. 5ta. edición. México
56. Hynes, R. (1986) *Scientific American* 254: 32
57. Sacerdote de Lustig, E. (1983) *Medicina* 43: 217-21
58. Wadström, T., T.J. Trust y D. Brooks (1983) en "*Lectins. Biology, biochemistry, clinical biochemistry*". Ed. Walter de Gruyter. Berlin. New York. Vol. III: 479
59. Sweeney, G. y J.H. Freer (1979) *J. Gen. Microbiol.* 112: 321-9

60. Sen-itiroroh, H. (1986) *Scientific American* 254: 32-41
61. Lambden, P.R., J.E. Heckels, L.T. James y P.J. Watt (1979) *J. Gen. Microbiol.* 114: 305-10
62. Gilboa-Garber, N. (1983) en "*Lectins. Biology, biochemistry, clinical biochemistry*" Ed. Walter de Gruyter. Berlin. New York. Vol. III: 495-501
63. Boroff, D.A., S. Nyberg y S. Hoghind (1972) *Infect. Immun.* 6: 1003-7
64. Andrews, P. (1964) *Biochem. J.* 91: 222
65. Van Heyningen, W.E. (1974) *Nature* 249: 415
66. Haberman, E. (1976) *Arch. Pharmacol.* 293: 1-9
67. Nordbring-Hertz, B., E. Friman, P.A. Johansson y B. Mattiasson (1981) en "*Lectins. Biology, biochemistry, clinical biochemistry*". Ed. Walter de Gruyter. Berlin. New York. Vol. I: 72-7
68. Barron, G. (1977) "*The Nematode-Destroying Fungi*" Topics in Mycobiology Nº 1 - Canadian Biological Publications Ltd. Guelph. Ontario. Canada
69. Lis, H., R. Lotan y N. Sharon (1974) *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 234: 232-8
70. Faure, A. y J. Debieu (1983) en "*Lectins. Biology, biochemistry, clinical biochemistry*". Ed. Walter de Gruyter. Berlin. New York. Vol. III. 661-8
71. Lawny, F., M.H. Bot, E. Lentwojt y E. Segard (1978) "*Affinity Chromatography*" (O. Hofman Ostenhof, M. Breintenbach, F. Koller, D. Kraft, O. Scheiner, eds.). Pergamon Press, pág. 299-303
72. Faure, A., M. Caron, M.H. Leroy, D. Duval y E. Segard (1979) "*Separation of cells and sub-cellular elements*". (J. Peeters ed.) Pergamon Press. Oxford, pág. 99-102
73. Caron, M., J. Ohanessian, A. Faure y M. Felon (1981) *C.R. Acad. Sc. Paris.* 22: 292
74. Riikola, L. y T. Weber (1982) en "*Lectins. Biology, biochemistry, clinical biochemistry*". Ed. Walter de Gruyter. Berlin. New York. Vol. II: 643
75. Reisfeld, R.A., V.J. Leius y D.E. Williams (1962) *Nature* 195: 281-3
76. Kolberg, J. y T. Michaelsen (1981) en "*Lectins. Biology, biochemistry, clinical biochemistry*". Ed. Walter de Gruyter. Berlin. New York. Vol. I: 111-7
77. Casellas, P. y P. Gros. (1982) *La Recherche* (versión española) 2: 369-71
78. Ziska, P., H. Franz y A. Kindt (1978) *Experientia* 34: 123-4
79. Luther, P., H. Franz, B. Haustein y K. Bergmann (1977) *Acta Biol. Med. Germ.* 36: 19-25
80. Barondes, S. (1984) *Science* 225: 1259-65
81. Caron, M. (1985) *Bio-Sciences* 4: 135-7
82. Berridge, M. (1985) *Investigación y Ciencia* 111: 112-22
83. Katzin, A., E. Del Pino, R. Cunio, J. Raisman, J. Olmos, S. Lajmanovich y S. González Cappa (1979) *Medicina* 39: 76-84
84. Etcheverry, S., N. Fink de Cabutti y M. Palatnik (1982) *Sangre* 27: 1003-10
85. Etcheverry, S., M. Palatnik (1982) *Rev. Brasil. Genet.* 4: 793-805
86. Hamburger, J. y P. Godeau (1985) *Tratado de Medicina*. Tomo 2. Ed. El Ateneo. Bs. As., pág. 1829
87. Nagasawa, K. y R. Mqri (1977) *Int. Archs. Allegru Appl. Immunol.* 55: 332-42
88. Nagasawa, K. y R. Mori, S. Kondo y K. Hisatsune (1979) *J. Neurol. Sci.* 42: 417-27
89. Hook, W.A., S.F. Dougherty y J. Oppenheim (1974) *Infect. Immun.* 9: 903-8
90. Bach, M.K. y J. Brashler (1975) *Immunol.* 29: 371-86
91. Luther, P., I. Shert, K. Ch. Bergmann y H. Reutjen (1978) *Acta Biol. et Med. Germ.* 37: 1623-8
92. Freed, D. (1982) en "*Lectins. Biology, biochemistry, clinical biochemistry*". Ed. Walter de Gruyter. Berlin. New York. Vol. II: 33-45
93. Shier, W. (1976) "*Concanavalina-A as a tool*" (H. Bitiger y H.P. Shnebli, eds.) John Wiley and Sons, Londres, págs. 573-9
94. Jaffe, W. (1960) *Arzneim. Forsch.* 12: 1012 (Citado por Liener, I. (1974) *I. Agric. Food. Chem.* 22: 17-22
95. Puzstai, A., E.M. Clarke, T.P. King y J. Stewart (1979) *J. Sci. Food. Agric.* 30: 843-8
96. Jenkins, D., T. Wolever, R.H. Taylor, H.M. Barker y H. Fielden (1980) *Br. Med. J.* 281: 578-80
97. Anderson, J.W. y K. Ward (1979) *Amer. J. Clin. Nutr.* 32: 2312-21
98. Mankan, R. (1980) *Ann. Rev. Phytopathol.* 18: 415-40

98. Mankan, R. (1980) *Ann. Rev. Phytopathol.* 18: 415-40
99. Wadström, T., A. Faris, M. Undahl, S. Hjerten y B. Agerup (1981) *Scand. J. Infect. Dis.* 13: 129-32
100. Aronson, M., O. Medalea, L. Schori, D. Mirelman, N. Sharon y I. Ofek (1979) *I. Infect. Dis.* 139: 329-32
101. Goodman Gilman A., L. Goodman, T. Rall y F. Murad (1986) "Las bases farmacológicas de la terapéutica". 7ma. edición. Ed. Panamericana, págs. 19-77
102. Barker, S.A., A. Giblin, C.J. Gray, W.H. Brown (1974) *Carbohydr. Res.* 35: 23-33
103. Grenby, T. (1975) *Chem. Ind.* 6: 167-71
104. Reisner, Y. (1983) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 80: 6657-61
105. Uhlenbruck, G., U. Reitenberg y O. Prokop (1971) *Acta Biol. Med. Germ.* 27: 455
106. Shoham, J., M. Imbar y L. Sachs (1970) *Nature* 227: 244
107. Robinson, E., T. Mekori (1972) *Isr. J. Med. Sci.* 7: 83
108. Nicolson, G., J. Blainstein (1972) *Biochem. Biophys. Acta* 226: 543
109. Sachs, L. (1986) *Investigación y ciencia* 114: 24-32
110. Mazumder, A., T. Eberlein, E. Grimm, D. Wilson, A. Keenan, R. Aamodt y S. Rosemberg (1984) *Cancer* 53: 896-905
111. Cheema, A.R. y E. Hersh (1972) *Cancer* 29: 982-6
112. Frenster, J. y W. Rogoway (1970) *Proc. 5th. Leucocyte Culture Conference* (J.E. Harris, ed.), págs. 359-73