

Laboratorios BETERA

APLICACIONES DE LAS LECTINAS

Lic. Patricia Hernández Díaz, Lic. Odalys Martín González, Lic. Yoryelín Rodríguez de Pablos Vélez y Dr. C. Félix A. Ganem Báez

RESUMEN

Las lectinas constituyen un interesante grupo de proteínas de origen no inmune que comparten en común la propiedad de enlazarse de forma específica y reversible a carbohidratos, ya sean libres o que formen parte de estructuras más complejas. Contienen al menos 2 sitios de unión, de ahí que puedan enlazarse en primer lugar a un azúcar específico y en forma secundaria a una molécula glicosilada. Poseen interesantes propiedades que convierten a esta clase de proteínas en herramientas invaluableles en los laboratorios biológicos, por lo que se utilizan en numerosas investigaciones que incluyen: estudio de la estructura de las membranas, detección de transformaciones malignas, purificación de glicoconjugados, estudios citogenéticos, así como también en ensayos histoquímicos, enzimáticos y en el tipaje de grupos sanguíneos.

Descriptor DeCS: LECTINAS.

El estudio de las lectinas fue iniciado por *Stillmark* en 1888 al describir el fenómeno de hemaglutinación con extractos de semillas de castor (*Ricinus communis*). La proteína responsable de la aglutinación de los eritrocitos la denominó Ricina.^{1,2} Más tarde, *Hellin*² descubrió que el extracto tóxico de semillas de *Abrus precatorius* también producía aglutinación de las células rojas, la proteína responsable se denominó Abrina.

A fines de los años 40 *William C. Boyd* y *Rose M. Reguera*^{2,3} reportaron que ciertas semillas contenían aglutininas específicas para antígenos de los grupos sanguíneos humanos.

La primera lectina que fue obtenida en forma cristalina fue la concanavalina A del frijol *Canavalia ensiformis* en 1919 por *James B. Sumner*.³

El término lectinas fue introducido por *Boyd* y otros en 1954.⁴ Su interpretación no ha sido uniforme debido al desconocimiento acerca de las funciones fisiológicas de éstas. Existen diferentes proposiciones para definir las, pero la más aceptada es la siguiente: las lectinas son proteínas o glicoproteínas de origen no inmune, fijadoras de carbohidratos con capacidad para aglutinar células y precipitar glicoconjugados.⁵

Cualquier definición deberá tener en cuenta los aspectos siguientes:⁶

1. Las lectinas son glicoproteínas.
2. No son de origen inmunológico.
3. La relación de las lectinas con varias glicoproteínas que contienen sitios de combinación.

Las lectinas están presentes en casi todo lo vivo, pues se han encontrado en el reino vegetal, animal y en microorganismos. En las plantas se han detectado, principalmente en los cotiledones y endospermos de las semillas y constituyen del 2 al 10 % del total de las proteínas de éstas. En el reino animal se han encontrado en invertebrados, tales como cangrejos, camarones, caracoles, lombrices y moluscos. Están presentes fundamentalmente en la hemolinfa y órganos sexuales.^{1,3}

La gran importancia de las lectinas se debe fundamentalmente a sus propiedades biológicas, tales como aglutinación de eritrocitos y otras células como linfocitos, espermatozoides, plaquetas y bacterias, inducción de mitosis en linfocitos, efectos citotóxicos sobre linfocitos, aglutinación de virus y otras.²⁻⁴

APLICACIONES

Las lectinas se consideran armas valiosas en el campo de la Genética, la Biomedicina y la Inmunología. Su utilidad está basada en la propiedad que tienen de combinarse con varios tipos de gliconjugados presentes en las superficies celulares y fluidos corporales.

Sus propiedades mitogénicas permiten que se utilicen en estudios que tienen como base la proliferación de linfocitos en cultivos, como son:

- La evaluación de la producción de citoquinas (interferón e interleuquinas) y la expresión de sus receptores en sobrenadantes de cultivos de linfocitos provenientes de pacientes con enfermedades de alto impacto social como el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), la tuberculosis y la leishmaniasis, entre otras.⁷⁻¹²

- La caracterización de algunos aspectos relacionados con la respuesta inmune y fenómenos asociados con ellas como la inmunosupresión.^{13,14}
- La interacción entre virus, como por ejemplo entre el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) y el virus de la hepatitis B, así como la susceptibilidad y resistencia a éstos.¹⁵⁻¹⁸
- Evaluación de la efectividad de terapias antirretrovirales de acuerdo con la respuesta de los linfocitos a la estimulación con las lectinas antes y después de la terapia, como por ejemplo en terapias contra el VIH.¹⁹
- Análisis de funciones linfoproliferativas y citotóxicas en células mononucleares causadas por algunas drogas.²⁰
- Estudios acerca de la influencia nutricional en la proliferación de linfocitos y su cinética de proliferación.^{12,21}
- La inducción de genes en linfocitos.²²
- La detección de anomalías cromosómicas.²³

Actualmente se han estudiado en detalle 9 lectinas con efecto mitogénico sobre los linfocitos, entre las que se destacan las provenientes de *Phaseolus vulgaris* (PHA), *Canavalia ensiformis* (Con A), *Pisum sativum* (PSA) y *Fitolaca americana* (PWM).

Estos mitógenos pueden activar de forma diferente los linfocitos T y B, por ejemplo la PHA y Con A inducen mitogenicidad en células T, mientras que el mitógeno de carmín (PWM) estimula ambos tipos de células. No se conoce lectina alguna que estimule sólo a los linfocitos B humanos.^{2,3,12,16,19}

Las lectinas forman parte de conjugados como lectina-lectina, lectina-enzimas y lectina-anticuerpos, lo que ha permitido el desarrollo de técnicas cromatográficas como la cromatografía de afinidad para la

purificación de glicoproteínas. Ejemplo de ellas es la purificación de IgG utilizando anti-IgG acoplada a la Con A-Sepharose y la purificación de IgM usando Con A-Sepharose,²⁴ así como también la purificación de enzimas y de las propias lectinas.

Las interacciones de estas proteínas con células pueden ser inhibidas en muchos casos por azúcares, por lo que se ha llegado a la conclusión de que ellas se enlazan a sacáridos de la superficie celular, lo que ha provisto a los científicos de útiles marcadores para emplearlos en técnicas histoquímicas y en la microscopia electrónica para estudiar la estructura y función de la membrana plasmática. Generalmente se utilizan lectinas conjugadas con marcadores fluorescentes como la biotina y las más usadas para estos fines son la PHA-L, PHA-E y las provenientes de *Pisum sativum* (PSA), *Triticum vulgare* (WGA), *Solanum tuberosum* (STL), *Arachis hypogae* (PNA), *Datura stramonium* (DSL), *Lens culinaris* (LCA) y de *Griffonia simplicifolia* (GSL).¹

Dentro de los estudios de membrana se ha reportado en la literatura el uso de lectinas para estudiar cambios estructurales en los glicoconjugados presentes en las superficies celulares²⁵ y en ocasiones de esta forma detectar cambios morfológicos ocurridos, para analizar la distribución subcelular de epítopes y terminales glicoproteicos,²⁶⁻²⁸ además para detectar alteraciones en la expresión de moléculas presentes en la superficie celular.²⁹⁻³¹

Otra área importante en la cual se emplean las lectinas es la detección de transformaciones malignas en células, a través de la aglutinación preferencial que muestran las lectinas con células transformadas. Además se han realizado investigaciones para utilizar las lectinas y polímeros sintéticos enlazados a ellas como agentes anticancerígenos *in vivo* e *in vitro*, ya que se ha visto que disminuyen el crecimiento de las células tumorales. Se utilizan también para la inmunización contra virus productores de inmunodeficiencia y algunos tumores³²⁻³⁴ y como medicamentos para prevenir metástasis.³⁵ Las propiedades citotóxicas de algunas lectina como la Ricina y Abrina hacen también que éstas brinden interés como potenciales armas terapéuticas en el tratamiento del cáncer humano.³⁵

Las lectinas se emplean igualmente en la caracterización de grupos sanguíneos humanos, así como en la identificación de nuevos grupos sanguíneos.

Algunas de las lectinas son específicas en sus reacciones con los grupos sanguíneos ABO, MN, A₁ y A₂ de humanos,² por esto han sido utilizadas en la determinación del tipo de sangre de los individuos. La mayoría de las lectinas aglutinan los eritrocitos de todos los grupos sanguíneos en humanos y actúan a similares concentraciones, éstas son lectinas no específicas (no significa que no sea específica a los azúcares); el resto son lectinas específicas.

SUMMARY

Lectins are an interesting group of proteins of nonimmune origin that have the common property of binding in a specific and reversible way to carbohydrates, whether they are free or part of more complex structures. They have at least 2 binding sites that allow them to bind first to a specific sugar and then to a glycosylated molecule. They have interesting properties that turn this type of proteins into very valuable tools for biological laboratories, since they may be used in several investigations including the study of membrane structure, the detection of malignant transformations, the purification of glycoconjugates and

the cytogenetic studies. They are also utilized in histochemical and enzymatic assays and in blood typing.

Subject headings: LECTINS.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hartmut F. *Advances in lectin research*. Vol 1, Berlín: Spring-Verlag, 1988.
2. Sharon N, Lis H. Lectins cell agglutinating and sugar-specific proteins. *Science* 1972;177:949-58.
3. ——. *Lectins*. Chapman and Hall Press, Israel. 1980.
4. Boyd WC, Slapeigh E. Antigenic relations of blood group antigen as suggested by test with lectins. *Immunology* 1954;73:226.
5. Goldstein IJ. What should be called lectin. *Nature* 1980;285:66-8.
6. Frane H. Lectins definition and classification. *Acta Histochem* 1982;71:19.
7. Born J, Uthgenannt D, Dodt C, Nunnighoff D, Ringvol E. Cytokine production and lymphocyte subpopulation in aged humans. An assessment during nocturnal sleep. *Mech Ageing Dev* 1995;84(2):113-26.
8. Benyoucef S, Hober D, Shen L, Ajana F, Degroue D, Di Gerard Y, et al. INF alpha production by whole blood from HIV-1 infected patients. *Phatol Biol (Paris)* 1996;44(5):393-6.
9. Erickson KL, Dimolfetto L, Wells RS, Reidarson T, Stott JL, Ferrick DA. Development of an interleukin-2 receptor expression assay and its use in evaluation of cellular immune response in bottlenose dolphin *Tursiops truncatus*. *J Weil Disc* 1995;31(2):142-9.
10. Jurgens JB, Gartland LA, Du Passquier L, Hurton JD, Gobel TW, Cooper MD. Identification of a candidate CD₅ homologue in the amphobian *Xenopus laevis*. *Vis J Immunol Method* 1995;155(9):4218-23.
11. Mantovani G, Maccio A, Bianchi A. Megestrol acetate in neoplastic-anorexia/cahexia: clinical evaluation and comparison with neoadjuvant chemotherapy. *Int J Clin Lab Res* 1995;25(3):135-41.
12. Itichi S, Yamano Y, Osame M, Hall WW. A kinetic comparative study on lymphocyte responses to superantigen and phytohemagglutinin: reciprocal presentation of superantigen on surface of activated lymphocytes. *Cell Immunol* 1996;173(2):312-6.
13. Baveja UK, Basack S, Thusoo TK. A study of immune profile in human hydatid diseases. *J Commun Disc* 1995;27(2):61-6.
14. Segerson EC. Immunosuppressive activity of a porcine high molecular weight uterine macromolecule is associated with transforming growth factor-beta. *J Reprod Immunol* 1995;29(1):47-60.
15. Cisterna R, Campelo C, Gorrino T, Malera C, Sarria L. Association between HIV and another DNA virus in vitro. *Eur J Clin Microb Infect Disc* 1995;14(7):591-6.
16. Garbuglia AR, Salvi R, Caro A, Montella F, Disura F. Peripheral lymphocytes of clinically non progressor patients harbor inactive and uninducible HIV proviruses. *J Med Virol* 1995;46(2):116-21.
17. Pernthaner A, Stankiewicz M, Bisset SA, Jonas WE, Cabaj W, Piulford HD. The immune responsiveness of Romey sheep selected for resistance or susceptibility to gastrointestinal nematodes. Lymphocyte blastogenic activity, eosinophilia and total white blood cell counts. *Int J Parasitol* 1995;25(4):523-9.
18. Pinkston P, Pellieter N, Arena C, Schick J, Garland R, Rose RM. Quantitative culture of HIV-1 from bronchialveolar cells. *Am J Respir Care Med* 1995;152(1):2454-9.
19. Casseb JC, Bernand G, Saito R, Brigido LF, Joaquim ES, Duarte AJ. The value of the lymphocyte proliferation test with phytohemagglutinin in the immune evaluation of Brazilian HIV-infected patients. *J Invest Allergy Clin Immunol* 1995;5(6):347-9.
20. Lebec H, Rober R, Blot C, Burlesun GR, Buhon, Pallardy M. Immunotoxicological investigation using pharmaceutical drugs. In vitro evaluation of immune effects using rodent or human immune cells. *Toxicology* 1995;96(2):147-56.
21. Lahfa FB, Dahmani Y, Trouthaud D, Deshaux D. Nutritional influences on in vitro splenic lymphocyte proliferation in *Psammomys obesus* (Rodentia gerbilliadae). *Cell Mol Biol Res* 1995;41(5):387-90.
22. Schwarz H, Valbracht J, Tuckwell J, Kempis J, Kotz M. ILA, the human 4-IBB homologue, is inducible in lymphoid and other cell lines. *Cancer Lett* 1995;107(2):285-91.

23. Tomassetti P, Cometa G, Del Vecchio E, Baserga M. Chromosomal instability in multiple endocrine neoplasia type 1. Cytogenetic evaluation with DEB test. *Cancer Genet Cytogenet* 1995;79(2):123-6.
24. Kong ZL, Chiang LC, Fang F, Shinohara K, Pan P. Immune bioactivity in shell fish toward serum-free cultured human cell lines. *Biosci Biotechnol Biochem* 1997;61(1):24-8.
25. Peel S, Bulmer JC. Lectins histochemistry of pregnant rat uterine tissues. *J Anat* 1996;188(Pt 1):197-205.
26. Franceschini V, Lazzari M, Ciani F. Identification of surface glycoconjugates in the olfactory system of turtle. *Brain Res* 1996;725(1):81-7.
27. Qi X, Guy J. Localization of NADPH diaphorase/nitric oxide synthase in the optic nerve of the normal guinea pig: a light and electron microscopic study. *J Comp Neurol* 1996;370(3):396-404.
28. Yao Z, Fanslow WC, Seldin MF, Rousseau AM, Painter SL, Comeau MR, et al. Herpes-virus saimiri encodes a new cytokine. IL-17 which binds to a novel cytokine receptor. *Immunity* 1995;3(6): 811-21.
29. Kato H, Kogure K, Araki J, Itoyama Y. Graded expression of immunomolecules on activated microglia in the hippocampus following ischemic tolerance. *Brain Res* 1995;694(1-2):85-93.
30. Zschabitz A, Krahn V, Gabius HJ, Weiser H. Glycoconjugate expression of chondrocytes and perichondrium during hyaline cartilage development in the rat. *J Anat* 1995;187(1):67-83.
31. Zschabitz A, Weiser H, Stofft E, Krahn V, Gabius HJ. Characterization of glycoconjugated expression during development of Meckel cartilage in the rat. *Anat Embriol Ber* 1995b;191(1):47-9.
32. Brotchi J, Danguy A, Kiss R. Lectin histochemistry of astrocytic tumors and in vitro characterization of lectin-induced modifications on the proliferation of SW1088, U373 and U87 human astrocytic cell lines. *J Neuro Oncol* 1997;34(2):111-22.
33. Hochstenbach SL, Ciriello J. Medullary pathways mediating depressor responses from Na⁺ sensitive sites in nucleus of the solitary tract. *Am J Physiol* 1997;272(1-2):126-33.
34. Kiss R, Camby I, Duckworth D, De-Deker R, Salmon I. In vitro influence of *Phaseolus vulgaris*, *Griffonia simplicifolia*, Concanavalin A, wheat germ and peanut agglutinins on HCT-15, LoVo and SW 837 human colorectal cancer cell growth. *Gut* 1997;40(2):253-61.
35. Tanda N, Mori S, Nose M, Saito T, Song ST, Sato A, et al. Expression of *Phaseolus vulgaris* leucoagglutinin-binding oligosaccharides in oral squamous cell carcinoma: possible association with the metastatic potential. *Pathol Int* 1996;46(9):639-45.

Recibido: 15 de diciembre de 1998. Aprobado: 15 de enero de 1999.

Lic. *Patricia Hernández Díaz*. Laboratorios BETERA. Marianao, Ciudad de La Habana, Cuba.