



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA DE MEDICINA

Proyecto de Investigación previo a la obtención del título de Médico General

TRABAJO DE TITULACIÓN:

“Actividad biológica de las lectinas obtenidas de semillas del achotillo (*Nephelium lappaceum*) y uvilla (*Physalis peruviana*), Riobamba, 2019 - 2020”

AUTOR(ES):

Castro Cabrera Jocelyne Ángela
Naspud Villafuerte Margarita Alexandra

TUTOR:

Dr. Pablo Djabayan Djibeyan, PhD

RIOBAMBA – ECUADOR

2020

ACEPTACION DEL TRIBUNAL

Mediante la presente los miembros del TRIBUNAL DE GRADUACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN con título: “**Actividad biológica de las lectinas obtenidas de semillas del achotillo (*Nephelium lappaceum*) y uvilla (*Physalis peruviana*), Riobamba, 2019 - 2020**”, realizado por las estudiantes Castro Cabrera Jocelyne Ángela y Naspud Villafuerte Margarita Alexandra; dirigido por el Dr. Pablo Djabayan Djibeyan.

Una vez escuchada la defensa oral y revisado el informe final del proyecto de investigación con fines de graduación en el cual se ha constatado el cumplimiento de las observaciones realizadas, remite la presente para uso y custodia en la biblioteca de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de Chimborazo.

Para constancia de lo expuesto firman:

Dr. Patricio Vásquez Andrade
PRESIDENTE DELEGADO DEL DECANO

FIRMA

Dr. Carlos Valarezo García
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

FIRMA

Dr. Guillermo Valdivia Salinas
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

FIRMA

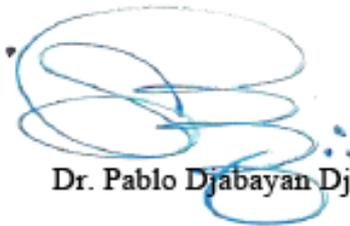
Dr. Pablo Djabayan Djibeyan
TUTOR

FIRMA

CERTIFICADO DE TUTORÍA

Yo, Pablo Djabayan Djibeyan, con CI: 1757202773, en calidad de tutor del proyecto de investigación titulado “Actividad biológica de las lectinas obtenidas de semillas del achotillo (*Nephelium lappaceum*) y uvilla (*Physalis peruviana*), Riobamba, 2019 - 2020”, propuesto por las estudiantes Castro Cabrera Jocelyne Ángela y Naspud Villafuerte Margarita Alexandra; de la Carrera de Medicina de la Facultad de Ciencias de la Salud, luego de haber revisado su trabajo y realizadas las pertinentes correcciones, **CERTIFICO** que se encuentra apto para la defensa pública.

Atentamente:



Dr. Pablo Djabayan Djibeyan, PhD

CI: 1757202773

AUTORIA

Nosotras, Castro Cabrera Jocelyne Ángela con CI: 1600465106 y Naspud Villafuerte Margarita Alexandra con CI: 0302408919, autores del presente trabajo de investigación titulado “Actividad biológica de las lectinas obtenidas de semillas del achotillo (*Nephelium lappaceum*) y uvilla (*Physalis peruviana*), Riobamba, 2019 - 2020”, declaramos que el contenido basado en las ideas, expresiones, pensamientos y concepciones tomados de varios autores se han previamente interpretado y analizado para enriquecer el estado del arte, resultados, conclusiones y recomendaciones que son absolutamente de nuestra autoría.

De la misma manera concedemos los derechos de autor a la Universidad Nacional de Chimborazo, según lo establecido por la ley de propiedad intelectual.

Atentamente:



Castro Cabrera Jocelyne Ángela

CI: 1600465106



Naspud Villafuerte Margarita Alexandra

CI: 0302408919

DEDICATORIA

Dedico de manera especial esta tesis, a las mujeres de mi vida, mi madre Faviola Cabrera y abuelita Elvia Cabrera, quienes han sido el principal pilar para la formación de mi vida profesional, han puesto en mi las bases de responsabilidad y deseos de superación, gracias por su amor, apoyo incondicional, he podido culminar mi carrera y seguir adelante cumpliendo mis objetivos.

Jocelyne Castro.

El presente estudio de investigación dedico a mi principal guía, mi madre Rosa Villafuerte, quien, con su amor, sacrificio y constancia, sembró en mí valores inquebrantables, gracias por ser mi luz al final del túnel, por ser mi esperanza, éste y todos mis logros son suyos, porque luchó para que los consiguiera, porque jamás dio el brazo a torcer, por ser mi más grande inspiración. A mi padre, por hacer que este sueño se haga realidad. A mi amado esposo Diego Paredes, por llegar a mi vida en la etapa académica más difícil y afrontar este duro camino conmigo, gracias por su amor y paciencia; finalmente a Jack, mi hijo, gran amigo y compañero de largas noches de estudio.

Margarita Naspud.

AGRADECIMIENTO

Agradezco primero a Dios, quién ha guiado mi camino, mis pasos, me ha brindado la fuerza y fortaleza necesaria para seguir adelante, por permitirme tener una familia maravillosa que me ha apoyado siempre en cada decisión que he tomado. Agradezco a todas las personas que me han apoyado siempre de una y otra manera para realizar este trabajo.

Jocelyne Castro.

Mi infinito agradecimiento a Dios, por todas las puertas que abrió para que pueda llegar hasta aquí, y por cerrar otras para protegerme. A mi familia por ser mi fortaleza y mi sostén, porque con ustedes lo tengo todo, gracias por la fe que depositaron en mí, y creer de lo que soy capaz. En este camino conocí personas maravillosas, quienes compartieron sus conocimientos y consejos, que forjaron en mí una mujer valiente, humana y solidaria, mil gracias por todo.

Margarita Naspud.

ÍNDICE GENERAL

ACEPTACION DEL TRIBUNAL	I
CERTIFICADO	II
AUTORIA	III
DEDICATORIA	IV
AGRADECIMIENTO	V
RESUMEN	IX
ABSTRACT	X
INTRODUCCIÓN	- 1 -
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	- 2 -
JUSTIFICACIÓN	- 3 -
OBJETIVOS	- 5 -
OBJETIVO GENERAL	- 5 -
OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	- 5 -
CAPITULO I	- 6 -
1. MARCO TEORICO.....	- 6 -
1.1 Definición	- 6 -
1.2 Antecedentes	- 6 -
1.3 Estructura.....	- 6 -
1.4 Achotillo	- 7 -
1.5 Uvilla.....	- 8 -
1.6 Actividad hemoaglutinante	- 8 -
1.7 Actividad antiviral.....	- 9 -
1.8 Actividad antibacteriana	- 9 -

1.9 Aplicaciones biológicas y funcionales de las lectinas	- 9 -
CAPITULO II.....	- 11 -
2. METODOLOGÍA.....	- 11 -
2.1 Tipo de investigación:.....	- 11 -
2.2 Población y muestra:.....	- 11 -
2.2.1. Población:.....	- 11 -
2.2.2. Muestra:	- 11 -
2.3 Variables de estudio.....	- 11 -
2.3.1. Variable dependiente (VD): Actividad hemoaglutinante, anticoagulante y antimicrobiana.	- 11 -
2.3.2. Variable independiente (VI): Las frutas exóticas seleccionadas para el presente estudio.	- 11 -
2.4 Operacionalización de las variables:.....	- 11 -
2.5 Materiales y métodos	- 13 -
2.5.1. Materiales.....	- 13 -
2.5.2. Método de Estudio	- 13 -
2.6 Técnicas y procedimientos	- 13 -
5. Actividad Antimicrobiana con método de difusión agar: se utilizó la técnica de Kirby Bauer (Bauer, 1966) por medio del siguiente procedimiento:	- 18 -
2.7 Procesamiento estadístico	- 18 -
2.8 Consideraciones éticas	- 19 -
2.9 Consentimiento informado	- 19 -
CAPITULO III.....	- 20 -
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	- 20 -
3.1 RESULTADOS.....	- 20 -
3.2 DISCUSIÓN	- 23 -
CONCLUSIONES	- 25 -
RECOMENDACIONES.....	- 26 -

ANEXOS.....	- 27 -
Anexo N° 1	- 27 -
Anexo N° 2 Selección de las frutas	- 32 -
Anexo N° 3 Preparación y filtrado de los extractos de semillas <i>Nephelium lappaceum</i> y <i>Physalis peruviana</i>	- 32 -
Anexo N°4 Almacenamiento de los extractos	- 33 -
Anexo N°5 Centrifugación de los extractos y almacenamiento en tubos de Eppendorf - 33 -	
Anexo N°6 Resultados de la acción hemoaglutinante	- 34 -
Anexo N°7 Resultados de la acción anticoagulante	- 34 -
Anexo N° 8 Resultados de la acción antibacteriana del extracto <i>Nephelium lappaceum</i> frente a <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>E. faecalis</i>	- 34 -
Anexo N°9 Resultados de la acción antibacteriana del extracto <i>Physalis peruviana</i> frente a <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>E. faecalis</i>	- 35 -
BIBLIOGRAFÍA	- 36 -

RESUMEN

El presente proyecto de investigación planteó como principal objetivo determinar la actividad biológica de las fitoaglutininas (lectinas) obtenidas a partir de las semillas del achotillo (*Nephelium lappaceum*) y uvilla (*Physalis peruviana*) en Riobamba, de cada fruta se obtuvo el extracto por medio de disrupción mecánica adicionándole 15 ml de Solución Salina Fisiológica, fue sometido a incubación, posteriormente se filtró a través de un tejido de nylon fino y finalmente se centrifugó utilizando una centrifuga convencional para obtener un sobrenadante claro. La actividad biológica de las fitoaglutininas se determinó evaluando en el extracto acuoso de las frutas, la actividad hemoaglutinante con 0.1 ml de suspensión de eritrocitos de los grupos sanguíneos A, B y O, la actividad anticoagulante sobre el plasma pobre en plaquetas con la medición de TP y TTPa y finalmente la actividad antimicrobiana con método de difusión agar utilizando la técnica de Kirby Bauer sobre las cepas bacterianas *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*. Los resultados obtenidos de la hemoaglutinación demostraron una alta capacidad de las lectinas para aglutinar a los eritrocitos de los grupos sanguíneos A, B y O, por otro lado no se evidenció ningún efecto sobre las proteínas de la coagulación de la vía extrínseca medido a través del Tiempo de Protrombina (TP), sin embargo, la acción anticoagulante sobre las proteínas de la coagulación de la vía intrínseca medida a través del Tiempo Parcial de Tromboplastina activado (TTPa) reveló una prolongación altamente significativa en el extracto del achotillo, finalmente se evidenció la ausencia de actividad antimicrobiana por parte de ambos extractos sobre las cepas bacterianas evaluadas en este estudio.

Palabras claves:

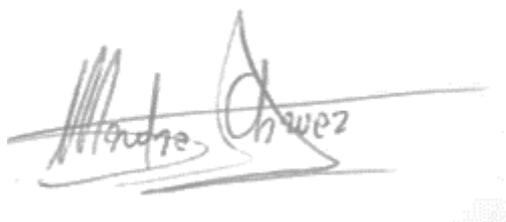
Lectinas, Semillas de frutas, Actividad Biológica, Actividad Antimicrobiana, Actividad Anticoagulante, Fitoaglutininas.

ABSTRACT

The main objective of this research project was to determine the biological activity of the phytoagglutinins (lectins) obtained from the seeds of achotillo (*Nephelium lappaceum*) and uvilla (*Physalis peruviana*) in Riobamba, the extract of each fruit obtained by means of mechanical disruption adding 15 mL of Physiological Saline Solution, it incubated, subsequently filtered through a fine nylon fabric and finally centrifuged using a conventional centrifuge to obtain a clear supernatant. The biological activity of the phytoagglutinins determined evaluating in the aqueous extract of the fruits, the haemagglutinating activity with 0.1 ml of suspension of erythrocytes of blood groups A, B and O, anticoagulant activity on platelet poor plasma with the measurement of TP and aPTT and finally antimicrobial activity with the agar diffusion method using the Kirby Bauer technique on the bacterial strains *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus faecalis*. The results obtained from haemagglutination demonstrated a high ability of lectins to bind red blood cells from blood groups A, B and O, on the other hand, there was no effect on the coagulation proteins of the extrinsic pathway measured through Prothrombin Time (TP) established, however, the anticoagulant action on the coagulation proteins of the intrinsic pathway measured through the activated Thromboplastin Partial Time (aPTT) revealed a highly significant prolongation with the achotillo extract, finally the absence of antimicrobial activity by both extracts on the bacterial strains evaluated in this study.

Keywords:

Lectins, Fruit seeds, Biological Activity, Antimicrobial Activity, Anticoagulant Activity, and Phytoagglutinins.



Reviewed by: Chávez, Maritza

Language Center Teacher

INTRODUCCIÓN

La medicina tradicional ha tenido grandes avances científicos, con el fin de aliviar, curar, prevenir y tratar enfermedades mediante el uso de plantas. El uso terapéutico de éstas plantas, como coadyuvantes y posibles sustitutos de los medicamentos farmacéuticos alopáticos, se aplica desde la antigüedad. (Terrerros, 2017). Según la OMS, los medicamentos tradicionales abarcan las hierbas, material herbario, preparaciones y productos que contienen como principios activos partes de plantas, frutos u otros vegetales, o combinaciones, y su uso está bien establecido y ampliamente reconocido como inocuo y eficaz. (Zurita, 2016).

A lo largo de los siglos, una de las principales causas de mortalidad y morbilidad a nivel mundial, son las enfermedades infecciosas, por ello el descubrimiento de los antibióticos revolucionó el mundo de la medicina, sin embargo el uso indebido de los mismos ha llevado a un incremento en los reportes de resistencia antimicrobiana, (OMS, 2016) por tal motivo existe un creciente interés por desarrollar nuevas estrategias para enfrentar este problema basándose en la evaluación de nuevas fuentes de compuestos naturales como alternativas para los tratamientos. (Manzano, 2019). El interés del estudio de las lectinas se debe a diversas actividades biológicas que pueden inducir, tales como actividad antimicrobiana, aglutinación de eritrocitos, de células malignas y actividad inmunosupresora. (Carpio, 2016).

La actividad hemoaglutinante, antimicrobiana y anticoagulante que pueden presentar los frutos de nuestro entorno, gracias a la presencia de lectinas, puede tener gran utilidad terapéutica para tratar enfermedades, proporcionando bienestar en el ser humano, por tal motivo resulta de gran interés determinar la actividad biológica que poseen.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Dado que existen pocos estudios sobre las lectinas presentes en las semillas de frutas, hemos decidido profundizar sobre este tema, debido a que sería muy relevante conocer los beneficios que nos ofrecen estas semillas, para la presente investigación hemos escogido el achotillo y la uvilla, frutas autóctonas de Ecuador y consumidas tradicionalmente por sus habitantes. (Clavijo, 2018) Una de las principales actividades biológicas que poseen las lectinas es su propiedad antimicrobiana frente a diversas bacterias causantes de diferentes enfermedades infecciosas, como se ha demostrado en estudios con leguminosas. (Vázquez-Luna, Rivadeneyra- Domínguez, & Díaz-Sobad, 2012)

Las fitoaglutininas o lectinas tienen un papel elemental en el reconocimiento de las glicoproteínas que se encuentran en la superficie celular, de ahí la relevancia de su estudio, además de establecer otras propiedades que poseen. (Clavijo, 2018) Son un grupo importante de proteínas, que, por lo general, no causan daño al ser humano, sino por el contrario, desarrollan una acción biológico – funcional que benefician a la salud de la persona, debido a que posee actividad tanto antibacteriana como antiviral y antifúngica. (Alonso, 2014)

Por lo tanto, es primordial realizar proyectos de investigación enfocándose en la biodiversidad botánica, con el fin de encontrar nuevos compuestos con actividad biológica que favorezca a la persona. (Cáceres-Huambo, 2017) El objetivo de este proyecto fue demostrar la presencia de lectinas en las semillas de las frutas seleccionadas y establecer su actividad biológica, estos compuestos bioactivos que podrían ayudar en el tratamiento de diferentes enfermedades de origen infeccioso, sean estas causadas por bacterias, hongos, entre otros. (Mengoni, 2016)

¿Tendrán las semillas de frutas seleccionadas fitoaglutininas (Lectinas) actividad biológica Hemoaglutinante, Anticoagulante y Antimicrobiana?

JUSTIFICACIÓN

En la actualidad, las investigaciones que se están realizando acerca de la medicina tradicional herbolaria, van adquiriendo cada vez mayor interés, a pesar de que aún no existe una igualdad en los criterios que emiten sobre su conceptualización. Este tipo de medicina es la representación más antigua de la asistencia sanitaria, por la utilización de plantas y extractos de estas, para fines curativos. (Lima López, 2019)

Esta medicina se ha determinado por tres escuelas de pensamiento: la herboristería China tradicional, la ayurvédica herboristería y la medicina herbaria occidental. La última continúa siendo parte de los tratamientos tradicionales, que en América Latina se da a conocer en las diferentes zonas, rurales, indígenas y urbanas, que se expresa en las mujeres, ya que ellas realizan su uso como remedios caseros. Además, se ha integrado en algunos sistemas de salud convencionales donde la ejercen los profesionales de la salud. (Jessica Marisol Yanchaguano Taco, 2019)

En nuestro país, Ecuador, existe una gran biodiversidad, que contribuye a la medicina tradicional y herbaria, ofreciendo grandes beneficios, como tratamiento de diferentes enfermedades, principalmente las agudas que predominan en la provincia de Chimborazo. A pesar del tratamiento convencional que se utiliza para tratar enfermedades bacterianas, parasitarias, micóticas, existe resistencia a estos microorganismos, parásitos, hongos; por lo tanto, es necesario investigar otros compuestos que coadyuven a tratar diversas patologías.

En la literatura, recomiendan el consumo de frutas y plantas comestibles, gracias al aporte nutricional que nos ofrecen, y las biomoléculas con actividad antioxidante, como los compuestos flavonoides y fenólicos. Asimismo, existen unos compuestos bioactivos importantes llamados lectinas, estas son un grupo de proteínas de origen no inmune, además poseen una actividad biológica funcional con un gran beneficio para la salud, por su actividad antibacteriana, antiviral y antifúngica. (Vázquez-Luna, Rivadeneyra-Domínguez, & Díaz-Sobad, 2012)

Se han realizado experimentos in vitro con las lectinas, donde se ha evidenciado que también presenta una actividad citotóxica y bloqueante de la propagación de las células cancerígenas, de igual forma actividad inmunomoduladora. De la misma manera, algunas

lectinas que están presentes en frutas y plantas consiguen aglutinar los eritrocitos de los diferentes grupos sanguíneos, por lo tanto, se les conoce también como fitohemaglutininas. (Rubio, 2014)

Estas fitoaglutininas están presentes en numerosas plantas comestibles, específicamente en tubérculos y semillas, asimismo en hojas, cereales, cáscaras y pulpas de frutas. (Vázquez-Luna, Rivadeneyra- Domínguez, & Díaz-Sobad, 2012) Por tal motivo, nos hemos planteado investigar la actividad biológica de estos compuestos en las semillas del Achotillo (*Nephelium lappaceum*) y Uvilla (*Physalis peruviana*), que se consumen con frecuencia en la ciudad de Riobamba.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Determinar la actividad biológica de las fitoaglutininas (lectinas) obtenidas a partir de las semillas del achotillo (*Nephelium lappaceum*) y uvilla (*Physalis peruviana*) en Riobamba.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Obtención de las lectinas a partir de los extractos acuosos de las semillas del (*Nephelium lappaceum*) y la uvilla (*Physalis peruviana*).
- Demostrar la actividad hemoaglutinante de los extractos que se obtengan de las semillas de las frutas seleccionadas, utilizando pruebas de laboratorio.
- Identificar la actividad anticoagulante y antimicrobiana de las lectinas que estas semillas de frutas poseen.

CAPITULO I

1. MARCO TEORICO

1.1 Definición

Las lectinas son proteínas que tienen gran capacidad de reconocer azúcares simples, con afinidad por biomoléculas complejas de la superficie celular, propiedad que le confiere un papel relevante para diversos procesos y múltiples aplicaciones. A nivel celular son sintetizadas, procesadas y transportadas como proteínas que se sintetizan en el retículo endoplásmico rugoso para luego ser almacenadas en vacuolas y organelos denominados vacuolas de almacenamiento de proteínas. (Vallejos, 2017). Por ello se sugiere que, dentro de la planta, estas proteínas pueden tener diferentes funciones tales como regulación fisiológica, defensa mecánica contra el ataque de microorganismos, almacenamiento de proteínas, transporte de carbohidratos, entre otros. (Río, 2019)

1.2 Antecedentes

En el trabajo presentado por Patnaik, Singh y Sarathi en el 2012, se describe una amplia información sobre la identificación de las lectinas, donde se detalla desde las primeras evidencias de la presencia de lectinas y de su actividad biológica, mismas que fueron observadas por Wander and Waddell en 1888, en el extracto de semillas de *Ricinus communis*, sin embargo, no fue hasta el año de 1919 en donde James B. Summer obtuvo la primera lectina en forma cristalina, descubierta a partir del frijol *Canavalia ensiformis* llamada concaavalina A1. (Hernández, 1999)

Posteriormente los investigadores Rose M. Reguera y William C. Boyd, en la década de los años 40 del siglo pasado, estudiaron en algunas semillas, el contenido de aglutininas específicas para antígenos de los grupos sanguíneos de los humanos. (Castillo, 2005)

Boyd en 1954 fue el primero en plantear el término lectina que significa “seleccionar”, al observar que algunas aglutininas obtenidas de semillas de plantas podían reconocer a un grupo sanguíneo específico y aglutinarlo. (Hidalgo, 2017)

1.3 Estructura

Están compuestas por una cadena polipeptídica por lo que pueden estar unidos o no a uno o varios residuos de carbohidratos, normalmente de 2 a 15 monosacáridos residuales, que pueden estar constituidos principalmente por dos o más azúcares como:

- D- Manosa
- D-galactosa
- D. Glucosa
- L-fucosa
- N-acetil-D-glucosamina
- N-acetil-D-galactosamina
- Ácido salicílico glucosamina
- Galactosamina. (Castillo, 2005)

1.4 Achotillo

El *Nephelium lappaceum* L. de nombre científico, comúnmente conocido en el Ecuador como Achotillo, es una fruta exótica que proviene del continente asiático, cultivado en climas tropicales, como los que existen en América Latina y el Caribe por ser zonas húmedas; el achotillo pertenece a la familia de la Sapindaceae, es un árbol perenne de tamaño medio, nativo de Asia, posee flores pequeñas de 2mm sin pétalos que dan frutos de pulpa blanca. (López, 2018)

Tiene una extraña apariencia de espinas suave en la cascara de color marrón rojizo con pulpa blanquecina translúcida de sabor dulce posee una similitud a la consistencia de la uva, con semilla no consumible de 1 a 2 cm de color café. Se producen a una humedad mayor a 80%, temperatura promedio de 25 a 32 °C. (López, 2018)

Existen una gran variedad a nivel del mundo, entre las más importantes se encuentran: Binjai, Rpih, Seechompoo y Leabarbudus, este último considerado como la mejor variedad, por poseer una mezcla de sabor entre dulce y ácido, el mismo que fue utilizado en el presente estudio. (Gómez, 2018)



Figura 1. Fruto *Nephelium lappaceum* L.

1.5 Uvilla

Physalis peruviana L. conocida como uvilla en Ecuador, fue descrita por Linneo en 1763, es considerada como una fruta exótica de origen andino, se generan en zonas de clima frío, con alto recurso fitogenético de gran valor nutricional, sin embargo, su potencial es desconocido por el escaso estudio que se le ha realizado. (Gómez, 2018)

Es una fruta redonda, de color amarillo, pequeña, con un diámetro entre 1-2 cm, crece en zonas ubicadas entre 1800 y 3600 metros sobre el nivel del mar, a temperaturas entre los 13-18 °C, en un estudio titulado “Fruits of warm climates” menciona que fue cultivada antes de 1807, originaria de América del Sur. (Tapia, 2018)



Figura 2. Fruto *Physalis peruviana* L.

1.6 Actividad hemoaglutinante

Las lectinas pueden causar hemaglutinación y presentan diferente especificidad para los eritrocitos humanos, van a ser inhibidas eficientemente por azúcares monosacáridos, por lo tanto, cuando es específica para el eritrocito del grupo sanguíneo humano tipo A, puede ser inhibida por la N - acetil - D galactosamina, cuando es específica para el eritrocito tipo O, es inhibida potentemente por la L – fucosa, mientras que para el eritrocito tipo B es inhibida por la D – galactosa, y para los eritrocitos tipo AB puede ser inhibida por la D – galactosa, N – acetil – galactosamina y D – galactosa. Por otra parte, las lectinas que son no específicas para los glóbulos rojos tipo A, B, O, pueden presentar especificidad para otros monosacáridos u oligosacáridos. (Hernández, 1999)

1.7 Actividad antiviral

Las lectinas poseen propiedades antivirales, frente a diversos virus que afectan a animales y vegetales. En estudios realizados en chícharos (*Pisum sativum*), se observó la actividad antiviral de las lectinas frente al Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH), en fracciones proteicas hemoaglutinantes. De igual manera, en el plátano *Mussa acuminata*, las lectinas mostraron tener actividad inhibitoria frente al virus del VIH – 1. (Torres, 2017)

Últimamente se planteó que las lectinas presentes en suero y fluidos pulmonares, pueden reconocer y destruir el virus de la influenza, a manera de un mecanismo de inmuno - modulación innata. (Fuentes, 2017)

1.8 Actividad antibacteriana

Se ha encontrado que en la superficie celular de los microorganismos, se encuentran diferentes carbohidratos que pueden ser reconocidos por la lectinas, a pesar de eso, existen estructuras llamadas ácidos teicoicos, que contiene en uno de sus extremos la N – acetil – glucosamina, y dependiendo del tipo de bacteria puede cambiar dicho extremo por la N – acetil – galactosamina, ya sean lectinas específicas a los carbohidratos o lectinas no específicas, van a tener la capacidad de aglutinar o inhibir el crecimiento de estas bacterias, por la acción ejercida en los carbohidratos de la membrana bacteriana o fúngica. (Mendoza, 2013)

En estudios realizados sobre la lectina V–2 de las semillas de arveja (*Pisum sativum*), demostró tener actividad antibacteriana frente a los microorganismos *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. (Cáceres-Huambo, 2017)

1.9 Aplicaciones biológicas y funcionales de las lectinas

Las lectinas son de gran importancia por el potencial amplio que posee, principalmente como agente terapéutico de origen biológico para prevenir y retardar la manifestación de las diversas patologías. Su función se basa en la capacidad de combinarse con varios tipos de glicoconjugados que se encuentran en las superficies de las células y fluidos corporales. (Reyes, 2008)

Los campos de aplicación biológica funcional colocan a las lectinas en diversos campos de investigación, entre estos están:

1. La evaluación de la producción de citoquinas (interferón e interleuquinas) y la expresión de sus receptores en cultivos de linfocitos provenientes de pacientes con enfermedades de alto impacto social como el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), la tuberculosis y la leishmaniosis.
2. La actividad antiviral de lectinas frente al VIH y el virus de la hepatitis B, así como la susceptibilidad y resistencia que éstos puedan desarrollar frente a lectinas.
3. 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.
4. En el campo de la glicoterapia y de la glicobiotecnología. (Vázquez-Luna, Rivadeneyra- Domínguez, & Díaz-Sobad, 2012)

CAPITULO II

2. METODOLOGÍA

2.1 Tipo de investigación:

El presente trabajo corresponde a una investigación de tipo exploratoria, descriptiva, de diseño experimental, de corte transversal, y de acuerdo con la cronología de los hechos es de carácter prospectivo.

2.2 Población y muestra:

2.2.1. Población:

Estará constituida por las frutas inventariadas que se expenden en los mercados del Cantón Riobamba: (Santa Rosa, La Merced, Condamine, San Alfonso, San Francisco y Mayorista).

2.2.2. Muestra:

Se seleccionarán frutos exóticos y en base a sus propiedades se estudiarán dos de ellos.

2.3 Variables de estudio

Se utilizará el siguiente sistema de variables:

2.3.1. Variable dependiente (VD): Actividad hemoaglutinante, anticoagulante y antimicrobiana.

2.3.2. Variable independiente (VI): Las frutas exóticas seleccionadas para el presente estudio.

2.4 Operacionalización de las variables:

VARIABLES	TIPO	ESCALA	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES
Acción hemoaglutinante	Cualitativa	Controlada	Se utiliza con el fin de valorar la presencia de las lectinas en un extracto, y la especificidad por ciertas moléculas de carbohidratos	Aglutina No aglutina

			<p>presentes en la superficie de la membrana de los eritrocitos, formando un complejo que tiene la propiedad de aglutinar células. (Boyd, 2003)</p>	
<p>Acción Anticoagulante</p>	Cuantitativa	Controlada	<p>Es el resultado de la acción de una sustancia endógena o exógena que tiene capacidad de disminuir la formación de fibrina a partir de la inhibición en la generación de la trombina, creando un estado antitrombótico. (Trejo, 2004)</p>	<p>Medir TP Medir TTP</p>
<p>Acción Antimicrobiana</p>	Cuantitativa	Controlada	<p>Es el efecto de una sustancia o fármaco con acción inhibitoria de la síntesis de la pared bacteriana, de tal manera alteran la integridad de la membrana citoplasmática e</p>	<p>Sensibilidad Resistencia</p>

			impiden su multiplicación o desarrollo. (Calvo, 2009)	
--	--	--	---	--

2.5 Materiales y métodos

2.5.1. Materiales

1. Las frutas exóticas evaluadas fueron seleccionadas del inventario realizado en los mercados del Cantón Riobamba (Santa Rosa, La Merced, Condamine, San Alfonso, San Francisco y Mayorista).
2. Las muestras de sangre de las cuales se obtuvieron los eritrocitos de los grupos sanguíneos A, B, O y el plasma citratado fueron obtenidas de los miembros del equipo de investigación, previo la autorización por medio de su consentimiento informado.
3. Los químicos y estándares del más alto grado de pureza fueron obtenidos de empresas distribuidoras de las Compañías: Sigma Aldrich, Merk, Becton Dickinson and Company (BD) y Pacific Hemostasis.
4. Bacterias ATCC: Bacterias gram negativas (-): *Escherichia coli*, Bacterias gram positivas (+): *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus fecalis*.
5. El presente trabajo se realizó en las instalaciones de los laboratorios de la Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Chimborazo.

2.5.2. Método de Estudio

El método de estudio será empírico puesto que se observará y medirá la actividad de hemoaglutinación de los extractos sobre los glóbulos rojos, el efecto anticoagulante de los extractos sobre la coagulación sanguínea y la acción antimicrobiana de los extractos sobre bacterias Gram positivas, Gram negativas y levaduras.

2.6 Técnicas y procedimientos

1. Se realizó un inventario de las frutas que se expenden en los mercados del Cantón Riobamba, se identificó taxonómicamente las especies inventariadas y se seleccionó el achotillo (*Nephelium lappaceum*) y la uvilla (*Physalis peruviana*), por ser frutas exóticas.

2. Se preparó las frutas seleccionadas para obtener adecuadamente las semillas de manera intacta, posteriormente se realizó la extracción por disrupción mecánica utilizando un mortero y pistón de porcelana, al triturarlo se adicionó 15mL de (Solución salina fisiológica) SSF, con el objetivo de obtener el extracto para posteriormente someterlo en incubación por técnica de infusión en frío, luego se filtró a través de un tejido de nylon fino para eliminar partículas grandes. (Djabayan, 2018)

El filtrado se centrifugó a 6.000 r.p.m. durante 10 minutos utilizando una centrífuga convencional, con el fin de eliminar las partículas microscópicas, el sobrenadante fue recolectado en tubos plásticos cónicos, previamente identificados y congelados a -20°C hasta realizar los ensayos de actividad biológica.

3. Preparación de las suspensiones de eritrocitos y evaluación de la actividad biológica.

- a) Se obtuvo 5mL de sangre de los grupos sanguíneos A, B y O respectivamente, los mismos fueron diluidos con 10mL de SSF, se centrifugó a 4.000 r.p.m. durante 5 minutos y el sobrenadante se descartó, este proceso se realizó tres veces con el objetivo de eliminar cualquier interferente que se encuentre en el plasma sanguíneo, hasta obtener una suspensión de eritrocitos al 5% aproximadamente.
- b) La actividad hemoaglutinante se determinó mezclando 0.1mL de cada extracto de las frutas con 0.1mL de cada suspensión de eritrocitos en tubos de ensayo de vidrio, se agitó suavemente y se incubó a temperatura ambiente por 10 minutos con el objetivo de permitir que la reacción de unión tenga lugar, posteriormente fueron centrifugados a 4.000 r.p.m. por 1 minuto.
- c) Se registró de acuerdo con el esquema de grado de aglutinación propuesto por Boorman y colaboradores: 4+ una masa grande y compacta de eritrocitos; 3+ una masa grande y varias masas medianas de eritrocitos aglutinados; 2+ varias masas pequeñas de eritrocitos aglutinados y células libres; 1+ una apariencia granular fina de eritrocitos aglutinados ½ una apariencia granular muy fina de eritrocitos aglutinados y 0+ suspensión de eritrocitos no aglutinados. (Boorman, 1977)

4. Actividad Anticoagulante:

- a) Elaboración del Pool de Plasma Citratado: para determinar la actividad de hemoaglutinación, se utilizaron suspensiones de eritrocitos humanos, estos fueron preparados a una concentración final del 5% en SSF. La prueba de

hemoaglutinación se realizó mezclando 0.1 mL de cada extracto de las frutas con 0.1 mL de cada suspensión de glóbulos rojos en tubos de ensayo de vidrio, 13x100, hallándose secos y limpios. Luego de realizar una suave agitación, se incubó por 10 minutos los tubos de ensayo a una temperatura ambiente, con el fin de que la reacción de unión se dé. Posteriormente, se centrifugó los tubos a 4.000 r.p.m durante 1 minuto en una centrifuga convencional (Centrifuga Rotofix 32A Hettich Zentrifugen CD-78532 Tuttlingen - Germany).

- b) Tiempo de Protrombina (TP) del Pool de Plasma Citratado: El estudio de este, se procedió de acuerdo a las indicaciones del fabricante. Se incubó en un tubo de ensayo (13 x 75) 1 mL del reactivo de tromboplastina a una temperatura de 37 °C por 3 minutos. A continuación, se colocó 0.1 mL del pool de plasma Citratado y se incubó por 1 minuto. Consecutivamente a este tubo de ensayo se le agregó 0.2 mL del reactivo de tromboplastina D (Pacific Hemostasis®) precalentado, cuidadosamente se mezcló a baño de maría de 37°C. Se activó el cronómetro al momento de añadir el reactivo al tubo de ensayo, se retiró este del baño de maría después de 6 segundos, observándose el punto final de la reacción, la aparición de la malla de fibrina, deteniendo simultáneamente el cronómetro, se registró el tiempo en segundos. La evaluación se realizó por triplicado.
- c) Extracto de las frutas escogidas + TP del Plasma Citratado: Para determinar la actividad de las fitoaglutininas presentes en los extractos crudos y precipitado/dializados/liofilizados de las frutas elegidas sobre las proteínas de la coagulación presentes en el pool de plasma citratado, se utilizó la técnica ya mencionada, donde se incluyó en esta prueba un tubo de ensayo mezclándose 0,1 mL del pool de plasma citratado con 0,1 mL de SSF con el propósito de corregir el efecto dilución. El valor que se obtuvo para el TP en esta prueba se tomó como valor de referencia, que sirvió para valorar el efecto anticoagulante de las lectinas. La evaluación se ejecutó por triplicado. La valoración del efecto anticoagulante de los extractos de las frutas escogidas sobre los factores de la coagulación presentes en el plasma citratado se desarrolló siguiendo lo establecido en la siguiente Tabla:

TP	x 3
100 uL de Plasma citratado + 200 uL de Tromboplastina D (37°C)	Tiempo en segundos sin dilución.
100 uL de Plasma + 100 uL SSF (37°C) 100 uL de la mezcla + 200 uL de Tromboplastina D (37°C)	Tiempo en segundos como valor de referencia control.
100 uL de Plasma + 100 uL del extracto de las frutas (37°C) 100 uL de la mezcla + 200 uL de Tromboplastina D (37°C)	Tiempo en segundos como valor que medirá el efecto anticoagulante.

Tabla 1. Técnica para evaluar el efecto anticoagulante de las lectinas (fitoaglutininas) presentes en los extractos precipitados y liofilizados obtenidos de las frutas escogidas sobre las proteínas de la coagulación de la vía extrínseca.

- d) Tiempo de Tromboplastina Parcial activado (TTPa) del Pool de Plasma Citratado: la evaluación de TTPa se ejecutó de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Se mezcló 0,1 mL del reactivo de ATTP-XL (Fosfolípidos) + ácido elálgico (Pacific Hemostasis®) con 0,1 mL del pool de plasma citratado, la misma se incubó en un tubo de ensayo 13 x 75 a una temperatura de 37 °C en baño de maría durante 3 minutos. Posteriormente, se colocó cierta cantidad de Cloruro de Calcio (CaCl₂) (Pacific Hemostasis Calcium Chloride Solution 0.02 M) en un tubo de ensayo para ser incubada, pasado el tiempo de incubación se añadió al tubo que contiene la mezcla de plasma y reactivo 0,1 mL de (CaCl₂), se activó el cronómetro y se mezcló bien por 19 segundos en baño de maría a 37 °C, posterior a esto, se retiró el tubo del baño de maría, observándose el punto final de la reacción, la aparición de la malla de fibrina, se registró el tiempo en segundos. La evaluación se efectuó por triplicado.
- e) Extracto de las frutas escogidas + TTPa del Plasma Citratado: Para determinar la actividad de las lectinas presentes en los extractos crudos y precipitado/dializados/liofilizados de las frutas escogidas sobre las proteínas de la

coagulación presentes en el pool de plasma citratado, se empleó la técnica ya mencionada, donde se incluyó en esta prueba un tubo de ensayo mezclándose 0,1 mL del pool de plasma citratado con 0,1 mL de SSF con el propósito de corregir el efecto dilución. El valor que se obtuvo para el TTPa en esta prueba, se tomó como valor de referencia, que sirvió para valorar el efecto anticoagulante de las lectinas. La evaluación se ejecutó por triplicado. La valoración del efecto anticoagulante de los extractos de las frutas escogidas sobre los factores de la coagulación presentes en el plasma citratado se desarrolló siguiendo lo establecido en la siguiente Tabla:

TTPa	x 3
100 uL de Plasma citratado + 100 uL de ATTP-XL+ ác. elágico (37°C) + 100 uL de CaCl ₂ (37°C)	Tiempo en segundos sin dilución.
100 uL de Plasma + 100 uL SSF (37°C) 100 uL de la mezcla + 100 uL de ATTP-XL+ ác. elágico (37°C) + 100 uL de CaCl ₂ (37°C)	Tiempo en segundos como valor de referencia control.
100 uL de Plasma + 100 uL del extracto de las frutas (37°C) 100 uL de la mezcla 100 uL de ATTP-XL+ ác. elágico (37°C) + 100 uL de CaCl ₂ (37°C)	Tiempo en segundos como valor que medirá el efecto anticoagulante.

Tabla 2. Técnica para evaluar el efecto anticoagulante de las lectinas (fitoaglutininas) presentes en los extractos precipitados y liofilizados obtenidos de las frutas escogidas sobre las proteínas de la coagulación de la vía extrínseca.

5. Actividad Antimicrobiana con método de difusión agar: se utilizó la técnica de Kirby Bauer (Bauer, 1966) por medio del siguiente procedimiento:

- a) Las cepas bacterianas (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*) Se elaboró un inóculo bacteriano de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL a partir de cada una de las cepas bacterianas, el crecimiento bacteriano se ajustó a la turbidez del patrón 0.5 de McFarland. (NCCLS, 2003)
- b) Mediante un hisopo de algodón estéril se obtuvo la muestra bacteriana, introduciéndole en el tubo que contenía el inóculo bacteriano ya mencionado. Con el mismo se eliminará el exceso de líquido, rotando suavemente el hisopo contra las paredes del tubo.
- c) Posteriormente, con el hisopo humedecido se inoculó en tres o cuatro direcciones, toda la superficie de una placa con agar Mueller Hinton, girando continuamente la placa en ángulos de 90° . Se dejó secar el inóculo por unos minutos a temperatura ambiente.
- d) Se colocó con una pinza estéril en forma equidistante sobre la superficie del agar los discos estériles que se encontraban impregnados de los extractos crudos y precipitados/dializados/liofilizados obtenidos de los extractos de las frutas escogidas preparados a una concentración de 100 mg/mL en SSF estéril.
- e) En atmósfera aeróbica, se incubó las placas a 37°C de temperatura.
- f) Luego de 18 horas de incubación se procedió a la lectura de las placas. La aparición de halos de inhibición del crecimiento bacteriano o micótico alrededor de los discos permitió establecer si hubo o no actividad antimicrobiana. (Velazco, y otros, 2008)

2.7 Procesamiento estadístico

El presente proyecto no utilizará procesamiento de datos estadístico, los resultados se mostrarán mediante tablas y gráficos.

2.8 Consideraciones éticas

Al ser un proyecto de investigación que requiere actividad in vitro, no involucra el estudio en seres humanos u otros seres vivos.

2.9 Consentimiento informado

Al involucrar muestras de sangre del propio equipo de investigadores, se obtuvo previamente el consentimiento informado de los participantes, documento que se adjunta en el apartado de anexos.

CAPITULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 RESULTADOS

Resultado del proceso de extracción de las semillas de *Nephelium lappaceum* y *Physalis peruviana*.

Resultados de la Acción Hemoaglutinante.

Cuadro N°1: Hemoaglutinación de extractos obtenidos a partir de las semillas de *Nephelium lappaceum* y *Physalis peruviana* con distintos eritrocitos humanos.

EVALUACIÓN DE HEMOAGLUTINACIÓN CON GLÓBULOS ROJOS: A, B y O			Tiempos de Hemaglutinación 1 H			Tiempos de Hemaglutinación 24 H		
CÓDIGO	NOMBRE COMÚN	NOMBRE CIENTÍFICO	A	B	O	A	B	O
FT1	ACHOTILLO O RAMBUTÁN	<i>Nephelium lappaceum</i>	2	3	3	2	3	3
FT36	UVILLA O UCHUVA O AGUAYMANTO	<i>Physalis peruviana</i> L.	3	3	2	3	3	2

Leyenda: (1/2) = muy débil aglutinación, (1) = débil aglutinación, (2) = moderada aglutinación, (3) = fuerte aglutinación, (4) = muy fuerte aglutinación

En el Cuadro N°1 se reportan los resultados de la evaluación de hemoaglutinación de los extractos obtenidos a partir de las semillas de *Nephelium lappaceum* y *Physalis peruviana*. El extracto FT1 mostró tener una actividad aglutinante moderada de los glóbulos rojos del grupo A, mientras que de los grupos sanguíneos B y O reveló una fuerte aglutinación tanto a la primera hora como a las 24 horas. Entre tanto el extracto FT36 presentó fuerte actividad aglutinante para el grupo sanguíneo A y B, y moderada aglutinación para el grupo O tanto a la primera hora como a las 24 horas.

Resultados de la Acción Anticoagulante

Cuadro N°2: Tiempo de Protrombina (TP) y Tiempo de Tromboplastina Parcial (TTPa) de extractos obtenidos a partir de las semillas de *Nephelium lappaceum* y *Physalis peruviana*.

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTICOAGULANTE (TP Y TTPa)			Tiempo de Protrombina (TP) Segundos (seg)	Tiempo de Tromboplastina Parcial activado (TTPa) Segundos (seg)
CONTROL 100 ul + PLASMA + 100 uL SSF			15 +/- 1	67 +/- 2
CÓDIGO	NOMBRE COMÚN	NOMBRE CIENTÍFICO		
FT1	ACHOTILLO O RAMBUTÁN	<i>Nephelium lappaceum</i>	15	>300
FT36	UVILLA O UCHUVA O AGUAYMANTO	<i>Physalis peruviana L.</i>	15	70

En el Cuadro N°2 se presentan los resultados de la actividad anticoagulante de los extractos obtenidos a partir de las semillas de *Nephelium lappaceum* y *Physalis peruviana*, mediante la medición del Tiempo de Protrombina (TP) usando un pool de plasma citratado, al que se le añade tromboplastina y calcio, instante en el que se mide el tiempo que transcurre hasta activar la coagulación, en ambos extractos no se evidenció ningún efecto en relación al Tiempo de Protrombina, sin embargo en la medición del TTPa se utilizó un pool de plasma citratado más el reactivo, que tuvo como finalidad medir el tiempo que tarda en la formación del coágulo de fibrina, se reveló una prolongación altamente significativa en el extracto FT1, a diferencia del extracto FT36.

Resultado de la Actividad Antimicrobiana

Cuadro N°3: Medición de la actividad Antibacteriana de extractos obtenidos a partir de las semillas de *Nephelium lappaceum* y *Physalis peruviana*.

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA GRAM POSITIVOS Y GRAM NEGATIVOS	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212
CONTROL AMIKACINA	36 mm	-----	-----
CONTROL CIPROFLOXACINA	-----	30 mm	28 mm

FT1	ACHOTILLO O RAMBUTÁN	<i>Nephelium lappaceum</i>	0	0	0
FT36	UVILLA O UCHUVA O AGUAYMANTO	<i>Physalis peruviana</i> <u>L.</u>	0	0	0

El Cuadro N°3 muestra la ausencia de actividad antimicrobiana por parte de los extractos FT1 y FT36, sobre las cepas *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*, frente al grupo control de Amikacina, que presentó actividad antibacteriana con un halo de 36 mm para *E. coli*, y la Ciprofloxacina que mostró actividad para *S. aureus* y *E. faecalis*, con la formación de un halo de 30 mm y 28mm de diámetro respectivamente.

3.2 DISCUSIÓN

Varias investigaciones nos dan a conocer acerca de las lectinas o fitoaglutininas que se encuentran tanto en animales, como plantas, vegetales y frutas; desde hace varios años ya es mencionada por diversos autores. En nuestro país existen pocos estudios, sobre la actividad biológica que poseen las lectinas presentes en las semillas de las frutas, por tal motivo se ha procedido a la investigación de 2 futas seleccionadas, el achotillo (*Nephelium lappaceum*) y uvilla (*Physalis peruviana*), mediante los resultados obtenidos se demuestra la actividad biológica que estas tienen. Los extractos acuosos obtenidos de estas semillas demostraron tener acción hemoaglutinante sobre los grupos sanguíneos A, B y O, siendo de moderada a fuerte aglutinación tanto en la primera hora como a las 24 horas. Desde finales del siglo XIX, ya se obtuvieron las primeras evidencias de la presencia de proteínas en extractos de plantas con la habilidad de aglutinar glóbulos rojos a las que se llamó hemaglutininas o fitohemaglutininas. (Vázquez-Luna, Rivadeneyra-Domínguez, & Díaz-Sobad, 2012)

En un estudio realizado por Reyes en el año 2008, demostró con extractos proteicos obtenidos de las hojas y cáscaras de mango no generaron aglutinación de eritrocitos para el tipo sanguíneo B, indicando que no existen los monosacáridos específicos para la unión lectinas carbohidrato y por tal razón no se desarrolla la hemaglutinación, mientras que para los grupos A y O si se dio esta acción. Con ello, se demuestra que las lectinas son glicoproteínas específicas, con el efecto de aglutinar al momento de ligarse a los eritrocitos. (Reyes, 2008)

Por otro lado, la acción anticoagulante de estos extractos fue determinada por el acortamiento o alargamiento de los tiempos de coagulación del plasma humano; para ambos extractos no se evidenció ningún efecto en relación al Tiempo de Protrombina (TP), mientras que en la medición del Tiempo de Tromboplastina Parcial activado (TTPa) se demostró una prolongación significativa para la formación del coágulo de fibrina con el extracto de semilla de *Nephelium lappaceum*. Existe escasa literatura científica sobre esta acción de las lectinas en frutas; en una investigación realizada en el 2008 por Torres y sus colaboradores, nos mencionan que la piña, ajo y cebolla tienen propiedades anticoagulantes, sin embargo, el mecanismo por el cual ejercen su efecto anticoagulante aún no está claro y son necesarios más estudios para identificar los componentes que tienen dicha actividad. (Constanza Torres U, 2008)

En otro estudio publicado en el año 2015, con zumo de frutas y hortalizas peruanas determinaron in vitro e in vivo los zumos de *Ananas comosus*, *Citrus limonun*, *Carica papaya* y *Allium cepa* tienen efecto anticoagulante, y los zumos de *Allium sativum* y *Zingiber officinale* tienen este efecto solo in vitro, por tal motivo se debe realizar más estudios con extractos obtenidos de las frutas. (Edwin Zarzosa Norabuena, 2015)

Para la acción antimicrobiana, se utilizó bacterias gram positivas ATCC y bacterias gram negativas ATCC, para determinar si existe esta actividad en los extractos obtenidos de las semillas de las frutas escogidas, sin embargo, mostró ausencia de actividad antibacteriana por ambos extractos, sobre las cepas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*. En cuanto al grupo control de Amikacina, mostró actividad antibacteriana con un halo inhibitorio de 36 mm para E. Coli, mientras que la Ciprofloxacina presentó actividad para *S. aureus* con un halo de 30mm y para el E. Fecalis con un halo de 28mm. En el estudio realizado con extractos de hojas y cáscaras de mango por Reyes (2008) difieren de los resultados obtenidos en nuestro estudio, en el cual se observó que estos extractos de mango injerto provocaron inhibición en *S. epidermidis* y *E. coli*. (Reyes, 2008) Existen pocas investigaciones sobre la actividad biológica de las lectinas en frutas, por tal motivo se necesita realizar más estudios sobre esta, con el fin de conocer a profundidad los beneficios que puedan brindar.

CONCLUSIONES

- Las frutas exóticas seleccionadas achotillo (*Nephelium lappaceum*) y uvilla (*Physalis peruviana*), demostraron tener actividad hemoaglutinante frente a los tres grupos sanguíneos A, B y O.
- La acción anticoagulante de los dos extractos de semillas de frutas no se evidenciaron ningún efecto en relación al TP, únicamente el extracto de *Nephelium lappaceum* mostró una prolongación significativa en relación al TTPa.
- Ambos extractos de semillas *N. lappaceum* y *P. peruviana*, demostraron no tener actividad antimicrobiana, frente a las cepas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar más estudios sobre las lectinas extraídas de frutas, debido a que existe escasa información sobre estas.
- Se recomienda caracterizar las lectinas presentes en las frutas exóticas *Nephelium lappaceum* y *Physalis peruviana*.
- Se recomienda estudiar a profundidad la actividad biológica de las fitoaglutininas en frutas, la acción hemoaglutinante, anticoagulante y antimicrobiana, para conocer sus beneficios.

ANEXOS

Anexo N° 1



CONSENTIMIENTO INFORMADO

Proyecto de investigación: Actividad biológica de las lectinas obtenidas de semillas del achotillo (*Nephelium lappaceum*) y uvilla (*Physalis peruviana*), Riobamba, 2019 - 2020

Fecha: 05/08/2019

Yo _____ con C.I. _____ con el fin de participar de manera consiente, voluntaria en el proyecto de investigación mencionado. Reconozco que he sido INFORMADO de forma clara, sencilla sobre los riesgos y beneficios de someterme a la toma de muestra de sangre.

Se me indica que, bajo medidas de asepsia y antisepsia, se me realizará la extracción de una muestra de sangre por medio de la punción venosa que se basa en la perforación de una vena visible y palpable con una aguja por vía transcutánea. Además, recibo información sobre los riesgos que conlleva este procedimiento entre los cuales están un leve sangrado, presencia posterior de hematomas, posible nueva punción en caso de que se presente una difícil extracción, este procedimiento tiene la finalidad de usarse para el análisis en el laboratorio, por este motivo firmo este consentimiento informado por mi libre voluntad.

Firma.



CONSENTIMIENTO INFORMADO

Proyecto de investigación: Actividad biológica de las lectinas obtenidas de semillas del achotillo (*Nephelium lappaceum*) y uvilla (*Physalis peruviana*), Riobamba, 2019 - 2020

Fecha: 05/08/2019

Yo, PABLO DJABAYAN DJIBEXAN con C.I. 1757202773

con el fin de participar de manera consiente, voluntaria en el proyecto de investigación mencionado. Reconozco que he sido INFORMADO de forma clara, sencilla sobre los riesgos y beneficios de someterme a la toma de muestra de sangre.

Se me indica que, bajo medidas de asepsia y antisepsia, se me realizará la extracción de una muestra de sangre por medio de la punción venosa que se basa en la perforación de una vena visible y palpable con una aguja por vía transcutánea. Además, recibo información sobre los riesgos que conlleva este procedimiento entre los cuales están un leve sangrado, presencia posterior de hematomas, posible nueva punción en caso de que se presente una difícil extracción, este procedimiento tiene la finalidad de usarse para el análisis en el laboratorio, por este motivo firmo este consentimiento informado por mi libre voluntad.

Firma.



A handwritten signature in blue ink is written over a horizontal line. The signature is stylized and somewhat illegible, appearing to be 'Pablo Djabayan Djibexan'.



CONSENTIMIENTO INFORMADO

Proyecto de investigación: Actividad biológica de las lectinas obtenidas de semillas del achotillo (*Nephelium lappaceum*) y uvilla (*Physalis peruviana*), Riobamba, 2019 - 2020

Fecha: 05/08/2019

Yo, Francisco Javier Vstainz Tajan con C.I. 175927940-7 con el fin de participar de manera consiente, voluntaria en el proyecto de investigación mencionado. Reconozco que he sido INFORMADO de forma clara, sencilla sobre los riesgos y beneficios de someterme a la toma de muestra de sangre.

Se me indica que, bajo medidas de asepsia y antisepsia, se me realizará la extracción de una muestra de sangre por medio de la punción venosa que se basa en la perforación de una vena visible y palpable con una aguja por vía transcutánea. Además, recibo información sobre los riesgos que conlleva este procedimiento entre los cuales están un leve sangrado, presencia posterior de hematomas, posible nueva punción en caso de que se presente una difícil extracción, este procedimiento tiene la finalidad de usarse para el análisis en el laboratorio, por este motivo firmo este consentimiento informado por mi libre voluntad.

Firma



CONSENTIMIENTO INFORMADO

Proyecto de investigación: Actividad biológica de las lectinas obtenidas de semillas del achotillo (*Nephelium lappaceum*) y uvilla (*Physalis peruviana*), Riobamba, 2019 - 2020

Fecha: 05/08/2019

Yo, Luisa Carolina González Ramírez con C.I. 175870692-1 con el fin de participar de manera consiente, voluntaria en el proyecto de investigación mencionado. Reconozco que he sido INFORMADO de forma clara, sencilla sobre los riesgos y beneficios de someterme a la toma de muestra de sangre.

Se me indica que, bajo medidas de asepsia y antisepsia, se me realizará la extracción de una muestra de sangre por medio de la punción venosa que se basa en la perforación de una vena visible y palpable con una aguja por vía transcutánea. Además, recibo información sobre los riesgos que conlleva este procedimiento entre los cuales están un leve sangrado, presencia posterior de hematomas, posible nueva punción en caso de que se presente una difícil extracción, este procedimiento tiene la finalidad de usarse para el análisis en el laboratorio, por este motivo firmo este consentimiento informado por mi libre voluntad.

Firma.



CONSENTIMIENTO INFORMADO

Proyecto de investigación: Actividad biológica de las lectinas obtenidas de semillas del achotillo (*Nephelium lappaceum*) y uvilla (*Physalis peruviana*), Riobamba, 2019 - 2020

Fecha: 05/08/2019

Yo. María Eugenia Lucena con C.I. 175849455-1
con el fin de participar de manera consiente, voluntaria en el proyecto de investigación mencionado. Reconozco que he sido INFORMADO de forma clara, sencilla sobre los riesgos y beneficios de someterme a la toma de muestra de sangre.

Se me indica que, bajo medidas de asepsia y antisepsia, se me realizará la extracción de una muestra de sangre por medio de la punción venosa que se basa en la perforación de una vena visible y palpable con una aguja por vía transcutánea. Además, recibo información sobre los riesgos que conlleva este procedimiento entre los cuales están un leve sangrado, presencia posterior de hematomas, posible nueva punción en caso de que se presente una difícil extracción, este procedimiento tiene la finalidad de usarse para el análisis en el laboratorio, por este motivo firmo este consentimiento informado por mi libre voluntad.

Firma.

María Eugenia Lucena

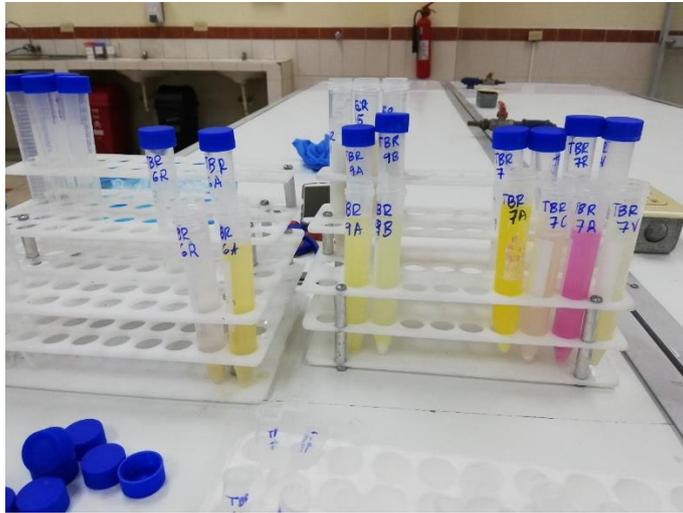
Anexo N° 2 Selección de las frutas



Anexo N° 3 Preparación y filtrado de los extractos de semillas *Nephelium lappaceum* y *Physalis peruviana*



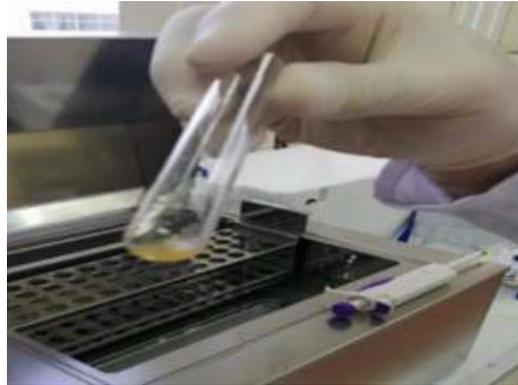
Anexo N°4 Almacenamiento de los extractos



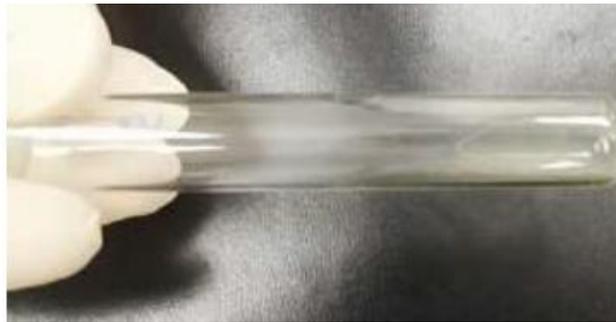
Anexo N°5 Centrifugación de los extractos y almacenamiento en tubos de Eppendorf



Anexo N°6 Resultados de la acción hemoaglutinante



Anexo N°7 Resultados de la acción anticoagulante



Anexo N° 8 Resultados de la acción antibacteriana del extracto *Nephelium lappaceum* frente a *S. aureus*, *E. coli*, *E. faecalis*



Anexo N°9 Resultados de la acción antibacteriana del extracto *Physalis peruviana* frente a *S. aureus*, *E. coli*, *E. faecalis*



BIBLIOGRAFÍA

- Alonso, M. R. (2014). Lectinas leguminosas: significación nutricional, toxicidad y aplicaciones. *Universidad de Valladolid España*.
- Bauer, A. W. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American journal of clinical pathology*, 493-496.
- Boorman, J. M. (1977). A latex agglutination test for the identification of blood-meals of *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae). *Bulletin of Entomological Research*, 305-311.
- Boyd, S. E. (2003). Specific precipitating activity of plant agglutinins (lectins). *Science*, 419.
- Cáceres-Huambo, A. (2017). Determinación de la estructura primaria de la lectina V-2 de semillas de arveja (*Pisum sativum* L.) y su efecto antibacteriano en *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. *Idesia (Arica)*, 11-18.
- Calvo, M. L. (2009). Mecanismos de acción de los antimicrobianos. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 44-52.
- Carpio, E. (2016). Aislamiento y caracterización bioquímica de proteínas Citotóxicas (Lectinas) de semillas de *Lupinus Mutabilis*. *Tarwi*.
- Castillo, V. A. (2005). Lectinas vegetales y sus efectos en el cáncer. *Revista de Investigación Clínica*, 55-64.
- Clavijo, F. (2018). Producción de lectinas de origen vegetal y fúngico y evaluación de su potencial antimicrobiano. *Universidad de la República Montevideo*.
- Constanza Torres U, L. G. (2008). Efecto antitrombótico, una característica poco conocida de las frutas y hortalizas. *Revista Chilena de nutrición*, 10-17.
- Djabayan, D. P. (2018). Cold Steeping Infusion, a Novel Lectin Extraction Technique for the Isolation, Purification and Partial Characterization of Lectins from the Green Venezuelan Marine Alga *Caulerpa serrulata*. *Natural Product Communications*, 13.
- Edwin Zarzosa Norabuena, B. L. (2015). Efecto sobre el sistema de la coagulación del zumo de frutas y hortalizas peruanas. *Horizonte Médico (Lima)*, 6-11.
- Fuentes, P. E. (2017). Evaluación de lectinas de origen algal como agentes inhibidores de la infección del virus dengue. *Instituto politécnico nacional centro interdisciplinario de ciencias marinas*, 1-80.

- Gómez, J. C. (2018). *Estudio farmacognóstico y fitoquímico de las hojas de dos variedades de achotillo (Nephelium lappaceum L)*. Obtenido de Universidad de Guayaquil. Facultad de Ciencias Químicas.
- Hernández, O. R. (1999). Aplicaciones de las lectinas. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia*, 91-95.
- Hidalgo, D. (2017). Detección, purificación y caracterización parcial de lectinas presentes en algas marinas colombianas. *Journal Article*.
- Jessica Marisol Yanchaguano Taco, J. I. (2019). Medicina convencional frente a medicina tradicional: preferencias de uso en una comunidad rural del Ecuador. *Revista Cuatrimestral "Conecta Libertad"*, 44-54.
- Lima López, Y. G. (2019). La medicina tradicional herbolaria en los sistemas de salud convencionales. *Humanidades Médicas*, 201-217.
- López, J. L. (2018). Percepción de la medicina ancestral y convencional en comunidades indígenas de la ciudad de Ambato. *Enfermería Investiga Investigación Vinculación Docencia y Gestión*, 180-185.
- Manzano, V. G. (2019). Eficiencia de lectinas como inmunoindicadores en *Litopenaeus vannamei*. *Malacostraca*.
- Mendoza, W. G. (2013). Estudios estructura y función de una lectina aislada de semillas de *Caesalpinia Spinosa* Kuntze (Tara). *Idesia (Arica)*, 49-58.
- Mengoni, A. (2016). Purificación y caracterización de una lectina de *Amaranthus hypochondriacus*, un compuesto antiproliferativo. *Innotec Laboratorio Technologic deal Uruguay*, 37-35.
- NCCLS. (2003). Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests (Approved Standard, M2-A5). *National Committee for Clinical Laboratory Standards*, Villanova.
- OMS. (24 de Julio de 2016). Medicina tradicional: definiciones. *WHO*.
- Reyes, H. P. (2008). Identificación y caracterización de la actividad biológica de lectinas aisladas de dos variedades de mango (*Mangífera indica* L). *Universidad Veracruzana Instituto de Ciencias Básicas*, 1-74.
- Río, V. M. (2019). Una lectina de girasol con propiedades biológicas de interés aplicado. *Journal Article*, 88.
- Rubio, M. G. (2014). Lectinas inactivadoras de ribosomas: aplicaciones y usos mas importantes. *Universidad de Valladolid*, 1-30.

- Tapia, Q. T. (2018). Evaluación del perfil de color, características fisicoquímicas y capacidad antioxidante de tres estados de madurez comercial del aguaymanto (*Physalis peruviana* L.). *Journal Article*.
- Terreros, M. (2017). Medicina Ancestral en el Sistema Nacional. *Journal Article*.
- Torres, M. A. (2017). Aproximación a la estructura primaria de lectinas específicas para el antígeno Tn e identificación de nuevas lectinas específicas para glucosa/manosa en semillas de *Salvia bogotensis* y *Lepechinia bullata*. *Universidad Nacional de Colombia*.
- Trejo. (2004). Anticoagulantes: Farmacología, mecanismos de acción y usos clínicos. *Cuadernos de Cirugía*, 83-90.
- Vallejos, H. C. (Enero de 2017). Expresión de inmunocitoquinas e inmunofenotipificación de células mononucleares de sangre periférica humana tratadas con la lectina de *Lupinus mutabilis* sweet (Tarwi). *Universidad Nacional mayor de San Marcos*.
- Vázquez-Luna, A., Rivadeneyra- Domínguez, E., & Díaz-Sobad, R. (2012). Lectinas en frutas y plantas comestibles: nuevas posibilidades de interacción entre la ciencia de los alimentos y la biomedicina. *CienciaUAT*, 60-66.
- Velazco, J., Araque, M., Araujo, E., Longa, A., Nieves, B., Ramírez, A., . . . Velazco, E. (2008). Manual práctico de Bacteriología Clínica. *Colección Temas Universitarios. Vicerrectorado Académico. Universidad de los Andes. Mérida. Venezuela.*, 27-28.
- Zurita, M. G. (2016). Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de a salud, en la población de Babahoyo, Ecuador. *Journal Article*, 327-332.