



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 lectinas obtenidas de Amaranto (*Amaranthus Caudatus*) y Chocho
(*Lupinus Mutabilis*). Riobamba, 2020.

AUTORES:

Lara Vizuete Jhonathan Ulises

Lema Balseca Carla Valeria

TUTOR:

Dr. Pablo Djabayan Djibeyan, PhD

Riobamba – Ecuador

Año 2020

CARTA DE ACEPTACIÓN MIEMBROS DEL TRIBUNAL

Mediante la presente los miembros del TRIBUNAL DE GRADUACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN con título: “**Actividad biológica de lectinas obtenidas de Amarantho (*Amaranthus Caudatus*) y Chocho (*Lupinus Mutabilis*). Riobamba, 2020**”, realizado por los estudiantes **Lara Vizuite Jhonathan Ulises** y **Lema Balseca Carla Valeria**; 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 Vásconez Andrade

PRESIDENTE DELEGADO DEL DECANO



FIRMA

Dr. Carlos Valarezo García

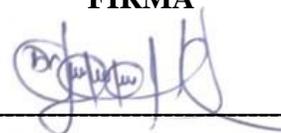
MIEMBRO DEL TRIBUNAL



FIRMA

Dr. Ángel Mayacela Alulema

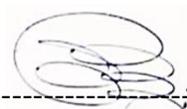
MIEMBRO DEL TRIBUNAL



FIRMA

Dr. Pablo Djabayan Djibeyan

DOCENTE TUTOR



FIRMA

CERTIFICADO DE TUTORÍA

Yo, Pablo Djabayan Djibeyan, docente de la carrera de Medicina en calidad de Tutor del trabajo de investigación titulado “**Actividad biológica de lectinas obtenidas de Amaranto (*Amaranthus Caudatus*) y Chocho (*Lupinus Mutabilis*). Riobamba, 2020**”, presentado por el estudiante Jhonathan Ulises Lara Vizuite, en legal forma certifico haber revisado el desarrollo del mismo, por lo que autorizo su presentación encontrándose apto para la defensa pública.

Es todo lo que puedo decir en honor a la verdad

Riobamba, 20 de septiembre del 2020

A handwritten signature in black ink, consisting of several overlapping loops and lines, positioned above the printed name of the tutor.

Dr. Pablo Djabayan Djibeyan, PhD.

CI: 1757202773

TUTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

DERECHO DE AUTORÍA

Nosotros, Lara Vizuite Jhonathan Ulises con CI: 0604125328 y Lema Balseca Carla Valeria con CI: 0604730747, autores del presente trabajo de investigación titulado “Actividad biológica de lectinas obtenidas de Amaranto (*Amaranthus Caudatus*) y Chocho (*Lupinus Mutabilis*). Riobamba, 2020”, declaramos que el contenido basado en las ideas y concepciones tomados de varios autores se han previamente interpretado para colaborar en el desarrollo de este proyecto de investigación que es absolutamente de nuestra autoría.

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

Atentamente:



Lara Vizuite Jhonathan Ulises

CI: 0604125328

Correo: jhonbullkid@gmail.com



Lema Balseca Carla Valeria

CI: 0604730747

Correo: cvlb2020@gmail.com

DEDICATORIA

Dedicamos el presente proyecto de investigación a nuestros padres **JUAN ANGEL LARA LEMA, IBELIA LUCIA VIZUETE CALDERON, FAUSTO RODRIGO LEMA DUCHI Y CECILIA NORMA BALSECA NOBOA**, quienes desde el principio de esta larga travesía y hermosa a la vez llamada Carrera de Medicina, nos acompañaron con su apoyo, motivación, enseñanzas, pero sobretodo con valores éticos y morales que nos han permitido hasta el día de hoy cumplir con nuestras metas en la vida de manera honesta.

Jhonathan Lara

Carla Lema

AGRADECIMIENTO

Agradecemos a Dios todo poderoso, por su infinita sabiduría Quien ha sabido guiarnos por el sendero del saber y sobre todo por su amor incondicional a pesar de nuestras imperfecciones.

A nuestros familiares quienes han sido el pilar fundamental de motivación para que día a día despertemos con el anhelo de esfuerzo, perseverancia y de ser mejores en bien de la sociedad.

Al Doctor Pablo Djabayan Djibeyan por su inmensurable paciencia, elocuencia, increíble sabiduría, conocimiento y sobre todo por su apoyo incondicional demostrando ser el mejor tutor, profesional y excelente ser humano que podríamos haber tenido en el presente proyecto.

Jhonathan Lara

Carla Lema

ÍNDICE GENERAL

CARATULA	I
ACEPTACIÓN DEL TRIBUNAL	II
CERTIFICADO.....	III
AUTORÍA.....	IV
DEDICATORIA.....	V
AGRADECIMIENTO	VI
ÍNDICE GENERAL	VII
ÍNDICE DE TABLAS.....	X
RESUMEN.....	XI
ABSTRACT	XII
INTRODUCCION.....	1
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	2
FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	3
JUSTIFICACIÓN	4
OBJETIVOS.....	5
OBJETIVO GENERAL	5
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	5
CAPÍTULO I.....	6
1. MARCO TEÓRICO.....	6
1.1. Historia de las Lectinas.....	6
1.2. Definición.....	8
1.3. Granos Andinos.....	9
1.4. Amaranthus Caudatus.....	10
1.5. Lupinus Mutabilis.....	11
1.6. Clasificación de las Lectinas.....	12
1.6.1. Basado en la localización subcelular.....	12
1.6.2. Basado en su estructura molecular.....	13
1.7. Familias de las lectinas.....	13

1.8. Aplicaciones de las lectinas.....	17
1.8.1. Aplicaciones en la agricultura.....	17
1.8.2. Lectinas como agentes insecticidas, antifúngicos, antibacterianos y antivirales, y su participación en las respuestas bióticas al estrés.....	17
1.8.3. Aplicaciones biomédicas de las lectinas vegetales.....	18
1.8.3.1. Terapia Oncológica.....	18
1.8.3.2. Terapia Antimicótica.....	19
1.8.3.3. Terapia Antibacteriana.....	19
1.8.3.4. Terapia Antiviral y Antiparasitaria.....	20
1.8.3.5. Terapia anticoagulante.....	20
CAPITULO II.....	22
2. METODOLOGÍA	22
2.1. Tipo de investigación	22
2.2. Población y muestra.....	22
2.2.1. Población	22
2.2.2. Muestra	22
2.3. Hipótesis.....	22
2.4. Variables de estudio:	22
2.4.1. Variable dependiente (VD):	22
2.4.2. Variable independiente (VI):	22
2.5. Operacionalización de las variables:	23
2.6. Materiales y métodos	24
2.6.1. Materiales.....	24
2.6.2. Método de Estudio.....	24
2.7. Técnicas y procedimientos.....	24
2.8. Procesamiento estadístico:	27
2.9. Consideraciones éticas:	27
2.10. Consentimiento Informado.....	27
CAPITULO III	28
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	28
3.1. RESULTADOS.....	28

3.1.1. Resultado de la Actividad Hemoaglutinante.....	28
3.1.2. Resultado de la Actividad Anticoagulante o Procoagulante.....	29
3.1.3. Resultado de la Actividad Antimicrobiana.....	30
3.2. DISCUSIÓN	31
CONCLUSIONES.....	34
RECOMENDACIONES	35
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	36
ANEXOS.....	47
Anexo N°1 Consentimiento Informado	47
Anexo N°2 Selección de granos andinos (amaranto y chocho).....	52
Anexo N°3 Obtención de extractos mediante disrupción mecánica con mortero.....	52
Anexo N°4 Obtención de extractos acuosos añadiendo solución salina fisiológica.....	53
Anexo N°5 Almacenamiento de extractos acuosos.....	53
Anexo N°6 Centrifugación y almacenamiento de los extractos acuosos en tubos de eppendorf.....	54
Anexo N°7 Resultado de la acción hemoaglutinante.....	54
Anexo N°8 Reunión mediante zoom con el Tutor Dr. Pablo Djabayan Djibeyan, PhD y el estudiante Mauricio Ulloa presidente del Semillero de investigación de la Universidad Nacional de Chimborazo para tutorías y revisión de proyecto de investigación.....	55

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N ^o 1 Clasificación de lectinas basado en su localización subcelular.....	12
Tabla N ^o 2 Clasificación de lectinas basado en su estructura molecular.....	13
Tabla N ^o 3 Clasificación de los dominios de las lectinas.....	16
Tabla N ^o 4 Técnica para evaluar el efecto anticoagulante de las fitoaglutininas (Lectinas) presentes en los extractos precipitados y liofilizados obtenidos de las especies vegetales seleccionadas sobre las proteínas de la coagulación de la vía extrínseca.....	25
Tabla N ^o 5 Técnica para evaluar el efecto anticoagulante de las fitoaglutininas (Lectinas) presentes en los extractos precipitados y liofilizados obtenidos de las especies vegetales seleccionadas sobre las proteínas de la coagulación de la vía intrínseca.....	26
Tabla N ^o 6 Hemoaglutinación de extractos obtenidos a partir de granos andinos <i>Amaranthus caudatus</i> (Amaranto) y <i>Lupinus mutabilis</i> (Chocho) con distintos eritrocitos humanos.....	28
Tabla N ^o 7 Tiempo de Protrombina (TP) y Tiempo de Tromboplastina Parcial activado (TTPa) de los extractos crudos acuosos obtenidos a partir de <i>Amaranthus caudatus</i> (Amaranto) y <i>Lupinus mutabilis</i> (Chocho).....	29
Tabla N ^o 8 Medición de la actividad Antibacteriana de extractos obtenidos a partir de granos andinos <i>Amaranthus caudatus</i> (Amaranto) y <i>Lupinus mutabilis</i> (Chocho).....	30

RESUMEN

El presente proyecto fue realizado en los laboratorios de la Universidad Nacional de Chimborazo campus Edison Riera. Se aisló lectinas de extractos acuosos de granos andinos autóctonos Amaranto (*Amaranthus caudatus*) y Chocho (*Lupinus mutabilis*) adquiridos en los mercados de Riobamba, de cada especie de grano se obtuvieron extractos acuosos por disrupción mecánica con mortero añadiendo solución salina fisiológica, después el triturado fue filtrado con una malla de nylon delgada, posteriormente se centrifugó para obtener un sobrenadante claro. La actividad biológica de las lectinas se precisó evaluando en los extractos acuosos, la acción hemoaglutinante sobre una suspensión de hematíes humanos al 5 % de grupos sanguíneos A, B y O, la acción procoagulante o anticoagulante sobre el plasma humano con ayuda de la medición de tiempos de coagulación TP y TTPa y la acción antibacteriana mediante la técnica de Kirby Bauer sobre tres cepas bacterianas *Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Los resultados de las pruebas de laboratorio con respecto a la hemoaglutinación demostraron que ambos extractos tienen una muy fuerte aglutinación para los tres grupos sanguíneos mencionados, así mismo se demostró actividad anticoagulante en el extracto de Chocho ya que logró prolongar significativamente ambos tiempos de coagulación, en cambio el extracto de Amaranto mostró actividad procoagulante al acortar el TTPa, finalmente no se evidenció acción antibacteriana por parte de los dos extractos sobre las cepas bacterianas utilizadas para el estudio en comparación con los antibióticos de control.

Palabras claves:

Lectinas, Granos andinos, Actividad Biológica, Hemoaglutinación, Anticoagulantes y Antimicrobianos.

ABSTRACT

This project was carried out in the laboratories of the National University of Chimborazo, Edison Riera campus. The lectins isolated from aqueous extracts of native Andean grains Amaranth (*Amaranthus caudatus*) and Chocho (*Lupinus mutabilis*) acquired in the markets of Riobamba, from each species of grain, aqueous extracts obtained by mechanical disruption with mortar adding physiological saline solution, the crushing filtered with a thin nylon mesh, subsequently it centrifuged to obtain a clear supernatant. The biological activity of the lectins determined by evaluating in the aqueous extracts, the hemagglutinating action on a suspension of human red blood cells at 5% of blood groups A, B and O, the procoagulant or anticoagulant action on human plasma with the help of the measurement of TP and aPTT coagulation times and antibacterial action using the Kirby Bauer technique on three bacterial strains *Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 and *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. The results of the laboratory tests with respect to hemagglutination showed that both extracts had a very strong agglutination for the three mentioned blood groups, likewise anticoagulant activity demonstrated in the extract of Chocho since it managed to significantly prolong both clotting times. On the other hand, the Amaranth extract showed procoagulant activity by shortening the aPTT, finally, no antibacterial action evidenced by both extracts on the bacterial strains used for the study in comparison with the control antibiotics.

Keywords: Lectins, Andean grains, Biological Activity, Hemagglutination, Anticoagulants and Antimicrobials.



Reviewed by: Chávez, Maritza

Language Center Teacher

INTRODUCCIÓN

Las lectinas son proteínas que se unen específicamente a carbohidratos libres y unidos a la superficie celular. Esta propiedad puede desencadenar varias respuestas celulares y confiere a estas proteínas varias actividades biológicas como son hemoaglutinante, anticoagulante y antimicrobiana, su estudio en un inicio se dio por Stillmark en 1888, se describió el fenómeno de hemaglutinación con extractos de semillas de castor (*Ricinus communis*). La proteína responsable de la aglutinación de los eritrocitos la denominó Ricina (Hernández et al. 1999).

En las plantas, se informa que las lectinas están involucradas en la defensa contra patógenos, herbívoros y depredadores. Este papel fisiológico ha estimulado la investigación de su potencial biotecnológico en el control de infecciones microbianas. Además, efecto vaso relajante, acción inmuno moduladora, así como las actividades citotóxicas y antitumorales son algunas propiedades entre la amplia gama de actividades biológicas descritas para las lectinas de plantas (Procopio et al. 2017).

La terminología de lectinas se dio en el año de 1954 por Boyd y Shapliegh en una publicación en The Journal of Immunology titulada “Antigenic Relations of Blood Group Antigens as Suggested by Test with Lectins”, (Boyd & Shapleigh 1954). La importancia del estudio de estas radica en que, debido al uso extensivo de agentes antimicrobianos en humanos, animales y plantas, se favoreció la aparición de microorganismos resistentes a estas drogas, lo cual es un problema de importancia mundial, por lo cual el interés en el aislamiento de nuevas sustancias antimicrobianas provenientes de fuentes naturales está en aumento (Breitenbach Barroso Coelho et al. 2018).

Las lectinas presentes en granos andinos autóctonos que se expenden normalmente en los mercados populares de Riobamba como son San Alfonso, la Merced, Mayorista, San Francisco, Condamine y Santa Rosa, gracias a su actividad hemoaglutinante, anticoagulante y antimicrobiana pueden ser una opción terapéutica complementaria viable en un futuro próximo a las terapias convencionales a base de antibióticos, antifúngicos y antimicrobianos en general, de ahí radica la importancia de la investigación de las mismas, mediante el aislamiento de sus principios activos y la posterior determinación de la actividad biológica de las mismas, con pruebas de laboratorio *in vitro*.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las enfermedades infectocontagiosas son un problema de salud pública a nivel mundial, esto es agravado aún más con los mecanismos de resistencia producidas por cierto tipo de bacterias, se estima que si no se toman medidas, las enfermedades resistentes a los medicamentos podrían causar 10 millones de muertes cada año para el año 2050 y daños a la economía tan catastróficos como la crisis financiera mundial de 2008-2009, y más recientemente la crisis del 2020, para 2030 la resistencia a los antimicrobianos podría llevar hasta 24 millones de personas a la pobreza extrema (OMS 2019).

Por otro lado, los medicamentos anticoagulantes que presenten menos efectos adversos son limitados, se estima que en la actualidad 700,000 personas mueren cada año debido a enfermedades resistentes a los medicamentos, incluidas 230,000 personas que mueren de tuberculosis resistente a múltiples medicamentos. Las enfermedades cada vez más comunes, incluidas las infecciones del tracto respiratorio, las infecciones de transmisión sexual y las infecciones del tracto urinario, son intratables, debidas a los mecanismos de resistencia de estos microorganismos patógenos. El problema es tal que la OMS emitió en el 2017 una lista de patógenos prioritarios, en las cuales figuran 12 familias de estas, la gran mayoría pertenecientes al grupo de las Gram negativas como por ejemplo la *Escherichia coli* (OMS 2017).

Es por eso que organizaciones mundiales incluidas la OMS recomienda a los países del mundo, en este caso Ecuador, priorizar los planes de acción nacionales para ampliar la financiación y apoyar proyectos de investigación sean estos básicos o de mayor complejidad, para la obtención de nuevos compuestos bilógicos con actividad antimicrobiana, en este caso las lectinas, para hacer frente a esta problemática (OMS 2019).

Por lo cual nace la necesidad del presente proyecto investigativo, cuyo fin es la determinación de la actividad biológica de las lectinas como hemoaglutinante, anticoagulante y antimicrobiana, mediante la extracción de los principios activos presente en granos andinos autóctonos que se expenden normalmente en los mercados de Riobamba como son San Alfonso, la Merced, Mayorista, San Francisco, Condamine y Santa Rosa, y su posterior comprobación *in vitro* mediante pruebas de laboratorio.

FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Las lectinas presentes en los granos autóctonos como *Amaranthus caudatus* (Amaranto) y *Lupinus mutabilis* (Chocho) tienen actividad hemoaglutinante, anticoagulante y antimicrobiana *in vitro*?

JUSTIFICACIÓN

Al pasar de los siglos la medicina ancestral a formado parte de la terapéutica utilizada para prevenir y tratar patologías humanas dando resultados efectivos en algunas ocasiones debido a su amplia gama de importancia farmacológica, sin embargo hay muy poca evidencia científica al respecto y más aún en nuestra localidad Provincia de Chimborazo, ciudad de Riobamba la cual es muy rica en cuanto a variedad de plantas medicinales pero paradójicamente muy pobre en estudios científicos que avalen el uso de dichas plantas (Morales et al. 2016).

La importancia del presente proyecto radica en la falta de conocimiento científico que hay sobre las plantas medicinales autóctonas de nuestra localidad, se seleccionó las lectinas como piedra angular de investigación ya que estas se encuentran ampliamente distribuidas en plantas y otros seres vivos. De esta manera se puede aprovechar la gran variedad de especies vegetales propias de nuestro entorno las cuales tienen lectinas, mismas que han atraído especial interés en la comunidad científica debido a sus múltiples aplicaciones sobre todo en el ámbito de la agricultura y en la biomedicina (Tsaneva & Van Damme, 2020).

Además, el conocimiento adquirido sobre lectinas presentes en plantas locales en este caso granos andinos a saber Amaranto (*Amaranthus Caudatus*) y Chocho (*Lupinus Mutabilis*) puede contribuir a solucionar la problemática de los microorganismos resistentes a los antibióticos tal y como lo plantea la OMS en un boletín en el 2017 con una lista de patógenos prioritarios, resistentes a múltiples antibióticos para los cuales se dificulta cada vez más su terapéutica y los costes sanitarios son inadmisibles (OMS 2017).

Otro tema de vital importancia en la práctica clínica en general es el uso de fármacos anticoagulantes para tratar diferentes dolencias, los cuales tienen efectos adversos severos como hemorragia mayor, esto es cierto en el caso de la Warfarina cuya incidencia puede alcanzar el 7,2 % anual, con el advenimiento de nuevos anticoagulantes orales estos efectos adversos han disminuido, pero es necesario encontrar otras alternativas, en tal sentido resulta interesante comprobar las propiedades hemoaglutinantes, anticoagulantes y antimicrobianas de las lectinas presentes en los granos andinos seleccionados (Amaraneni et al. 2017).

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Establecer la actividad biológica “*in vitro*” de las lectinas obtenidas a partir de los granos andinos autóctonos seleccionados, que tradicionalmente se expenden en los mercados populares del Cantón de Riobamba.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obtener las lectinas mediante extractos acuosos de las especies seleccionadas *Amaranthus caudatus* (Amaranto) y *Lupinus mutabilis* (Chocho).
- Determinar la actividad hemoaglutinante, de los extractos obtenidos de los granos andinos seleccionados mediante pruebas de laboratorio.
- Establecer la actividad anticoagulante o procoagulante de las lectinas extraídas de las especies de granos seleccionados mediante la valoración de los tiempos de coagulación.
- Identificar la acción antimicrobiana de los extractos obtenidos de los granos inventariados frente a bacterias Gram positivas y negativas, principalmente *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, mediante la comparación con antibióticos con efecto inhibitorio de crecimiento conocido para dichos patógenos.

CAPITULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1. Historia de las Lectinas

El estudio de las hemaglutininas (lectinas) como tal se remonta al año 1888, las primeras descripciones de las mismas fueron realizadas por Peter Hermann Stillmark microbiólogo báltico-alemán, en su Tesis doctoral "Über Ricin, ein giftiges Ferment aus den Samen von Ricinus comm. L. und einigen anderen Euphorbiaceen", que es una descripción del aislamiento de la ricina, hemoaglutinina extraída de semillas del ricino (*Ricinus communis*), compuesto químico altamente tóxico, el cual fue utilizado incluso como arma biológica (Hernández et al. 1999) (Moshiri et al.2016) (Sumner & Howell 1936).

Otro hito importante fue alcanzado en el año de 1919 donde Sumner y Howell aislaron una hemaglutinina pura por primera vez, esta se llamó concanavalina A obtenida a partir del frijol (*Canavalia ensiformis*) pero pasarían casi dos décadas para que los resultados de las investigaciones fueran publicados en 1936 en de Journal of Bacteriology, el artículo titulado, Identification of Hemagglutinin of Jack Bean with Concanavalin A, los resultados mostraron que la concanavalina A aglutina células como eritrocitos y levaduras y también precipita el glucógeno, ellos demostraron además que la hemaglutinación por concanavalina A fue inhibida por sacarosa, demostrando por primera vez la especificidad de las lectinas por los azúcares (Sumner & Howell 1936).

El término de lectinas, nombre con el que se les conoce actualmente a las hemaglutininas fue introducido por primera vez en el año de 1954 por Boyd y Shapleigh en una publicación The Journal of Immunology titulada "Antigenic Relations of Blood Group Antigens as Suggested by Test with Lectins", el término proviene del latín Lego que significa seleccionar, haciendo alusión al alto grado de especificidad exhibida por estas proteínas (Boyd & Shapleigh 1954).

Ya los primeros resultados obtenidos por Stillmark indicaron cierta selectividad en la ricina ya que inducía aglutinación de glóbulos rojos de diferentes animales. Esta observación fue corroborada y ampliada por Karl Landsteiner de la Universidad de Viena, el descubridor en 1901 de los grupos sanguíneos A, B y O. La década de 1940 vio el descubrimiento, realizado independientemente por William C. Boyd y por Karl O. Renkonen, de la especificidad de las hemaglutininas por los tipo de sangre humana, encontraron que extractos crudos del haba de lima (*Phaseolus limensis*), y la vicia copetuda (*Vicia cracca*), aglutinaban eritrocitos tipo A pero no las células del grupo sanguíneo B u O, mientras que un extracto del espárrago (*Lotus tetragonolobus*), aglutinaban específicamente eritrocitos del grupo sanguíneo O, se sabe que la base de estas diferentes especificidades de unión se debe a eritrocitos determinados genéticamente que expresan distintos carbohidratos complejos de superficie (Sumner y Howell 1936) (Boyd y Shapleigh 1954) (Farhud 2018).

Dos importantes descubrimientos hechos a principios de la década de 1960 fueron fundamentales para llevar las lectinas a un primer plano más allá de la hemaglutinación. El primero de ellos fue el de Peter C. Nowell (1960), quien encontró que la lectina del frijol rojo (*Phaseolus vulgaris*), conocido como fitohemaglutinina (PHA), es mitogénico, es decir, posee la capacidad de estimular a los linfocitos para que experimenten mitosis (Nowell, 1960). Este descubrimiento tuvo un revolucionario impacto en la inmunología porque rompió la visión, mantenida hasta entonces, de que los linfocitos son células sin la capacidad de dividirse o diferenciarse más. El segundo hecho por Joseph C. Aub hizo el segundo mayor descubrimiento, encontrando que la aglutinina de germen de trigo (WGA) tiene la capacidad de aglutinar preferentemente células malignas (Aub et al.1965).

Un resultado muy valioso de tales estudios fue el descubrimiento en la década de 1970 por Robert C. Gallo del factor de crecimiento de células T, ahora conocido como interleucina-2, en linfocitos humanos normales estimulados por PHA. (Morgan et al. 1976)

1.2. Definición

La comprensión y el concepto de lectinas evolucionaron gradualmente con el desarrollo del campo de la lectinología y la acumulación de nuevos hallazgos. En 1980, Goldstein publicó la primera definición que describe a las lectinas como “proteínas de unión a carbohidratos (o glicoproteínas) de origen no inmune que aglutinan células y / o precipitan glicoconjugados” (Goldstein et al. 1980).

Pero esta definición excluye las lectinas monovalentes, las lectinas no aglutinantes y las lectinas quiméricas (Dixon, 1981). Por tanto, Kocourek y Horejsi ampliaron el concepto: "Las lectinas son proteínas de naturaleza no inmunoglobulina capaces de reconocimiento específico y unión reversible a restos de carbohidratos de carbohidratos complejos sin alterar la estructura covalente de ninguno de los ligandos de glicosilo reconocidos" (Kocourek & Horejsi, 1983).

En 1988, Barondes describió las lectinas como "proteínas de unión a carbohidratos distintas de anticuerpos o enzimas", lo cual es algo contradictorio con los primeros hallazgos sobre lectinas (Barondes, 1988), ya que la ricina se compone de un dominio inactivante de ribosomas con actividad enzimática ligada a una unión de carbohidratos (Polito et al. 2019).

La definición más ampliamente aceptada en el mundo científico actual fue publicada en 1995 por Peumans y Van Damme, y define a las lectinas como “todas las proteínas que poseen al menos un dominio no catalítico, que se une reversiblemente a un mono u oligosacárido específico” (Peumans & Van Damme 1995). Según esta definición, la actividad de aglutinación ya no es un criterio para la clasificación de proteínas como lectinas, es por ello por lo que, la presencia de al menos un dominio que puede reconocer específicamente y unirse de forma reversible a la estructura de uno de los carbohidratos modificándolo, pero que no cambiará el resto de los carbohidratos es la característica más importante de las lectinas (Tsaneva & Van Damme, 2020).

Las lectinas existen en los virus y en todas las formas de vida, sin embargo, las más conocidas se extraen de las plantas, especialmente de las semillas, órgano de reserva, que es una fuente importante para obtener estas moléculas (Correia & Coelho, 1995). Se han purificado cientos de lectinas y se han identificado sus especificidades de azúcar, lo que ha permitido su desarrollo como herramientas poderosas para la purificación, separación y análisis estructural de glicoproteínas (Gemeiner et al. 2009), así como moléculas de reconocimiento dentro de las células, en las superficies celulares y en los fluidos fisiológicos (Reuter & Gabius, 1999). También han demostrado actividad inhibidora contra hongos y bacterias, insectos, virus y efectos citotóxicos contra líneas de células tumorales (Vaz et al. 2010) (Charungchitrak et al. 2011) (Sousa de Araújo et al. 2012) (Sato et al. 2011) (Wang et al. 2011).

1.3. Granos Andinos

Los granos andinos son un preciado bien natural en la Región, en Ecuador entre los granos más conspicuos se encuentran el *Lupinus mutabilis* (Chocho), el *Amaranthus caudatus* (Amaranto), la *Chenopodium quinoa* (Quinoa) y el *Amaranthus quitensis* (Ataco), con características agronómicas, nutricionales y como fuente de lectinas como la lectina Amaranthin presente en el *Amaranthus caudatus* (Amaranto). Los granos andinos son alimentos con altos contenidos nutricionales como proteína de alta calidad, libres de gluten y sirven para reducir los niveles de colesterol (Peralta et al. 2015) (Rinderle et al. 1989), en el caso del presente proyecto se inventarió múltiples granos andinos de los cuales se eligieron dos de los más comunes el *Lupinus mutabilis* (Chocho) y el *Amaranthus caudatus* (Amaranto), los cuales fueron adquiridos en mercados populares de la ciudad de Riobamba.

1.4. *Amaranthus caudatus*

Trigo Inca o amaranto es originario de las regiones de mayor altitud del norte de Bolivia, Perú y Ecuador, mientras que *Amaranthus cruentus* (Amaranto morado) y *Amaranthus hypochondriacus* (pluma del príncipe) son nativos de Guatemala y México. El nombre *Amaranthus* proviene del griego “ἀμάραντος” que significa siempre viva, refiriéndose a las brácteas de la inflorescencia que no se marchitan, pertenece al Reino Plantae, División Magnoliophyta, Clase Rosopsida, Subclase Caryophyllidae. Orden Caryophyllales. Familia Amaranthaceae. Género *Amaranthus*. Especie *Amaranthus caudatus*, Dicha especie fue cultivada por civilizaciones precolombinas, aztecas y tribus indígenas estadounidenses, pero en su mayoría han sido reemplazadas por cultivos de cereales (Fletcher, 2015), (Agudelo et al. 2008), (USDA, 2020).

Dependiendo de la especie, las semillas de amaranto en grano se germinan, secan, se tuestan, se muelen hasta convertirlas en harina, se hornean, se mezclan con azúcar para hacer artículos de confitería, se enrollan en bolas, se cocinan como papilla o se revientan, todas formas para el consumo de este preciado pseudocereal. El grano de amaranto ha experimentado un resurgimiento en los últimos años, especialmente a través del mercado de alimentos saludables, ya que su proteína cruda es alta (14-19%), con un alto contenido de lisina (hasta quizás un 6% de la proteína) y triptófano. Atrae al consumidor moderno ya que estos aminoácidos esenciales son bajos en cereales (Fletcher, 2015).

El almidón de amaranto (hasta el 69% del grano) es principalmente amilopectina; los gránulos son relativamente pequeños (1-3 μm) en comparación con los cereales (3-30 μm) y tienen una mayor solubilidad y temperatura de gelatinización, lo que da lugar a un gel distintivo. La semilla puede comprender hasta un 10% de aceite; este aceite contiene escualeno, que se utiliza en la fabricación de cosméticos, e incluso en la fabricación de vacunas contra patógenos de reciente origen como el SARS-COV-2, de hecho, las semillas de amaranto pueden ser un sustituto al escualeno obtenido del hígado de tiburones (Fletcher, 2015), (Bozorov et al. 2018), (Hozbor et al. 2020).

1.5. *Lupinus mutabilis*

Lupinus mutabilis (conocido comúnmente como altramuz en España, Tarwi en Quechua, chocho en Ecuador y al Norte de Perú, Tarhui al Sur de Perú y Bolivia), este grano andino pertenece al Reino Plantae, División Traqueofitas, Subdivisión Espermatofitina, Clase Magnoliopsida, Superorden Rosanae, Orden Fabales, Familia Fabaceae, Género *Lupinus*, Especies *Lupinus mutabilis* (NRC, 1989), (ITIS, 2005).

El género *Lupinus* incluye casi 300 especies, pero solo cuatro juegan un papel importante en la agricultura: *L. albus*, *L. angustifolius*, *L. luteus* y *L. mutabilis* (Gresta et al. 2017). Las tres primeras especies enumeradas son nativas de Europa y representan la mayoría de los altramuces cultivados en todo el mundo. Al mismo tiempo, a pesar de años de extensas investigaciones, el éxito de estas especies se ha visto obstaculizado por rendimientos inestables, bajo contenido de aceite y adaptación a un rango limitado de condiciones agroclimáticas. La cuarta especie enumerada, *L. mutabilis*, es una especie nativa de los Andes, y se cultiva solo en algunas partes de América del Sur y aún no hay una alta comercialización en Europa (Lucas et al. 2015).

Sin embargo, *L. mutabilis* se caracteriza por la mayor calidad de grano de todos los altramuces cultivados, con un contenido de aceite similar al de la soja, y está adaptada a la agricultura de bajos insumos en climas templados. La combinación de estas características hace que el *L. mutabilis* sea una alternativa potencialmente superior a las actuales fuentes vegetales de proteínas y aceite en Europa y otras regiones con climas templados (Gulisano et al. 2019).

Lupinus mutabilis se considera una de las cosechas perdidas de los incas. Sus semillas se caracterizan por un alto contenido de proteína y aceite (44% y 18%) respectivamente, superior al de cualquier otra especie de altramuz (Gulisano et al. 2019). Además, las semillas de altramuz están prácticamente desprovistas de almidón, y los principales carbohidratos encontrados son los oligosacáridos (principalmente estaquiosa y rafinosa) y los polisacáridos de almacenamiento de la pared celular (Trugo et al. 2003). La mayoría de los aminoácidos esenciales, en particular la lisina, también están presentes en las semillas junto con una cantidad sustancial de fibra dietética y ácidos grasos (Carvajal Larenas, 2013).

1.6. Clasificación de las Lectinas

Las lectinas son un nombre colectivo para la familia heterogénea de proteínas de unión a carbohidratos con diferentes estructuras moleculares, propiedades bioquímicas y biofísicas y, en consecuencia, muy probablemente con diversas funciones biológicas (Peumans et al. 1995) (Lannoo & Van Damme, 2010). Su presencia en todos los reinos de la vida y la capacidad de lectinas estructuralmente distintas para reconocer estructuras de carbohidratos iguales o similares complica la clasificación de las lectinas. Algunas lectinas como calnexinas, calreticulinas y malectinas son chaperonas involucradas en el plegamiento de proteínas en el retículo endoplásmico (RE) y están presentes en plantas, hongos y animales (Holle & Van Damme, 2019), (Opas et al. 1996), (Franck et al. 2018).

A pesar de que la mayoría de las lectinas en plantas y animales son muy diferentes, muchas lectinas en dichos organismos están involucradas en el reconocimiento de invasores formando así parte del sistema de defensa, por lo tanto, la presente descripción general resumida en la Tabla 1 se centrará en la diversidad entre las lectinas vegetales (Schutter & Van Damme, 2015).

1.6.1. Basado en la localización subcelular

Tipo de lectina	Características Representativas
Primer Grupo	Contiene todas las lectinas que se sintetizan en los ribosomas unidos al RE. En consecuencia, estas lectinas finalmente son transportadas a las vacuolas, depositadas en la pared celular o exportadas al espacio extracelular.
Segundo Grupo	Contiene lectinas que se sintetizan sin un péptido señal y, por lo tanto, las proteínas se traducen en los ribosomas libres del citoplasma. Después de la síntesis, estas lectinas permanecen en el citoplasma o pueden trasladarse al núcleo.

Tabla 1. Clasificación de lectinas basado en su localización subcelular.

Elaborado por: Jhonathan Lara y Carla Lema

Tomado de: (Lannoo & Van Damme, 2010).

1.6.2. Basado en su estructura molecular

Las lectinas vegetales representan un grupo grande y heterogéneo de proteínas con estructuras moleculares y pliegues tridimensionales muy diversos entre las cuales tenemos:

Tipo de lectina	Características Representativas
Merolectinas	Lectinas de pequeño tamaño que tienen un solo dominio que el reconocedor de carbohidratos no puede precipitar glicoconjugados o aglutinar las células.
Hololectinas	Consisten en moléculas con al menos dos dominios idénticos o bastante homólogos que se unen a los mismos carbohidratos o azúcares de estructuras muy similares.
Quimerolectinas	Tienen al menos dos dominios con diferentes actividades: una capaz de unirse a carbohidratos o glicoconjugados y a otro dominio distinto y bien definido, capaz de ejercer una actividad enzimática o cualquier otra actividad biológica.
Superlectinas	Corresponden a un tipo especial de quimerolectinas, donde al menos dos dominios son aglutinantes de carbohidratos, sin embargo, tienen especificidades diferentes.
Multilectinas	Tienen dos o más sitios de unión de azúcar idénticos, pero que pueden unirse a diferentes carbohidratos.

Tabla 2. Clasificación de lectinas basado en su estructura molecular.

Elaborado por: Jhonathan Lara y Carla Lema

Tomado de: (Peumans et al. 1995), (Barbosa, 2013).

1.7. Familias o dominios de las Lectinas

Según la secuencia y la estructura tridimensional del motivo de la lectina, las lectinas vegetales se pueden clasificar en 12 familias (Van Damme et al. 2008). Cada familia recibe el nombre de la proteína mejor estudiada para este grupo de lectinas. En la actualidad, la conformación tridimensional solo se ha resuelto para 10 lectinas, a saber, la aglutinina de *Agaricus bisporus* (ABA), el dominio de amarantina, la aglutinina relacionada con quitinasa (CRA), el dominio de cianovirina, la aglutinina de *Galanthus nivalis* (GNA), el dominio de Hevein, el dominio relacionado con Jacalina, el dominio de lectina de leguminosas, el dominio de Lys M y el dominio de ricina-B (Bonnardel et al. 2020). A continuación, se detallan las principales características de las 12 familias o dominios de las lectinas representadas en la Tabla 3.

Dominio	Características Representativas
<i>Agaricus bisporus</i> aglutinina (ABA)	El ABA se aisló por primera vez del hongo comestible <i>A. bisporus</i> , tiene un pliegue único con dos hojas β conectadas por un motivo hélice-bucle-hélice. Cada monómero ABA posee dos sitios de reconocimiento para GlcNAc (N-acetilglucosamina) y GalNAc (N-acetilgalactosamina) (incluida una fuerte afinidad por el antígeno T), ubicados en sitios opuestos del motivo hélice-bucle-hélice, respectivamente. ABA existe como un tetrámero y su reconocimiento del antígeno T conduce a la supresión de la proliferación de algunas líneas celulares de cáncer epitelial.
Dominio de amaranto	La amarantina se aisló por primera vez de las semillas de <i>Amaranthus caudatus</i> , el dominio de amarantina se dirige específicamente al antígeno T, esta propiedad se ha aplicado con éxito en estudios histoquímicos de cánceres de colon y cuello uterino. Aunque las amarantinas se han considerado únicas para la familia Amaranthaceae, las secuencias relacionadas con la amarantina están presentes en 34 de los 84 genomas de plantas seleccionadas, incluidos helechos, licófitos y gimnospermas.
Aglutinina relacionada con quitinasa de clase V	La lectina relacionada con quitinasa de clase V se caracterizó por primera vez a partir de la corteza de la acacia negra del árbol leguminoso (<i>Robinia pseudoacacia</i>) y mostró aproximadamente un 50% de identidad de secuencia con las quitinasas de plantas de la clase V, pero carecía de actividad quitinasa. Se demostró que la proteína se une a N-glicanos con alto contenido de manosa.
Dominio de cianovirina	La familia de lectinas cianovirina están distribuidas en algas verde azuladas, bacterias, hongos, helechos y licopsidos. La cianovirina se aisló por primera vez de la cianobacteria <i>Nostoc ellipsosporum</i> , la cianovirina es una proteína alargada, en gran parte de hoja β , que muestra una pseudosimetría interna doble. La lectina interactúa con los N-glicanos con alto contenido de manosa presentes en la superficie de la glicoproteína gp120 viral, bloqueando la entrada del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) en las células diana.
Dominio de lectina de <i>Euonymus</i>	En 1975, Pacak y Kocourek aislaron por primera vez una proteína hemaglutinante de los arilos del árbol fusiforme (<i>Euonymus europaeus</i>), una lectina que aglutinaba los eritrocitos sanguíneos del tipo B. Petryniak purificó

<p><i>europaeus</i> (EUL)</p>	<p>la proteína usando cromatografía de afinidad. Esta publicación confirmó la alta preferencia de <i>Euonymus europaeus</i> aglutinina hacia los oligosacáridos de tipo B sanguíneo y en menor grado a los de tipo H. Las secuencias relacionadas con EUL están presentes en el genoma de todas las plantas terrestres. La estructura cristalina para el dominio EUL aún no se ha resuelto, pero los estudios de modelado molecular sugieren un pliegue similar a la ricina B.</p>
<p>Aglutinina de <i>Galanthus nivalis</i> (GNA)</p>	<p>GNA es una lectina aislada de los bulbos de campanilla blanca (<i>Galanthus nivalis</i>), es un homotetrámero compuesto por monómeros de 12,5 kDa. Las lectinas relacionadas con el GNA se unen típicamente a la manosa y exhiben una alta afinidad por los oligomanósidos y N-glicanos con alto contenido de manosa. Este motivo de lectina se descubrió originalmente en especies de monocotiledóneas, pero también se informó en gimnospermas, hepáticas, dicotiledóneas, así como en algunas bacterias, hongos, peces e incluso en virus. Las proteínas similares a GNA se han estudiado extensamente y han demostrado diversidad en su localización celular y estructuras moleculares.</p>
<p>Dominio Hevein</p>	<p>Este dominio lleva el nombre de la lectina purificada del látex del árbol del caucho (<i>Hevea brasiliensis</i>), es una pequeña proteína monomérica que se une a los oligómeros GlcNAc y la quitina, y ejerce actividad antifúngica, este dominio tiene mayor afinidad hacia oligómeros GlcNAc más largos debido a la presencia de un sitio de unión extendido. El dominio de heveína puede aparecer como un solo dominio, como múltiples dispuestos en tándem (hasta 7) o parte de una quimerolectina en combinación con, por ejemplo, un dominio de quitinasa C-terminal. Las lectinas relacionadas con la heveína están en plantas y hongos.</p>
<p>Dominio relacionado con la Jacalina</p>	<p>La jacalina se aisló por primera vez de las semillas de la fruta del jurel (<i>Artocarpus integrifolia</i>) y es la proteína modelo para la familia ampliada de lectinas relacionadas con la jacalina. Esta familia de lectinas se puede dividir en dos grupos en función de su especificidad de unión a carbohidratos. Esta familia comprende dos subgrupos: lectinas de semillas de la familia Moraceae, específicas para N-acetilglucosamina y lectinas de la familia Convolvulaceae, específicas para manosa y maltosa.</p>

Dominio de lectina leguminosa	La familia de las lectinas de leguminosas tiene una característica particular la cual es que requiere iones Ca ²⁺ y Mn ²⁺ para una estructura adecuada, unión de sacáridos y actividades biológicas. La estructura cuaternaria de las lectinas de las leguminosas es muy variable como resultado de modificaciones como la glicosilación, aunque las estructuras primaria y secundaria de los monómeros son muy similares. El dominio de lectina de leguminosa puede unirse a una amplia gama de estructuras de carbohidratos dependiendo de la posición del bucle de unión a carbohidratos.
Dominio Lys M	El dominio Lys M se identificó inicialmente en bacterias, pero posteriormente también se informó como parte de las quinasas similares al receptor LysM que participan en la percepción de señales rizobianas y la formación de micorrizas arbusculares. Las proteínas que contienen LysM son bien conocidas como receptores de unión a quitina, pero también pueden interactuar con el peptidoglicano bacteriano y los lipopolisacáridos.
Agglutinina de <i>Nicotiana tabacum</i> (Nictaba)	Nictaba se aisló por primera vez de hojas de tabaco (<i>Nicotiana tabacum</i>). Es un homodímero compuesto por dos subunidades de 19 kDa y se une fuertemente a N-glicanos ricos en manosa, N-glicanos complejos y, en menor medida, a oligómeros GlcNAc. Esta es una lectina inducible por estrés, se expresa después de que las plantas han sido expuestas a un tratamiento con jasmonato, estrés por frío o ataque de insectos herbívoros. Los homólogos de Nictaba están muy extendidos en el reino vegetal.
Dominio de ricina B	Este dominio lleva el nombre debido a la ricina, primera lectina aislada. La mayoría de los dominios de Ricin-B muestran una unión hacia estructuras de glucanos que contienen galactosa o GalNAc. El dominio Ricina-B está presente tanto en procariotas como en eucariotas, pero la combinación de este dominio de lectina con un dominio de ARN N-glicosidasa, conocido como proteínas inactivadoras de ribosomas de tipo 2, está presente sólo en las angiospermas.

Tabla 3. Clasificación de los dominios de las lectinas.

Elaborado por: Jhonathan Lara y Carla Lema

Tomado de: (Tsaneva & Van Damme, 2020).

1.8. Aplicaciones de las lectinas

Las lectinas tienen múltiples y diversas aplicaciones en diferentes campos como la agricultura y la biomedicina, a continuación, se detallan los aspectos más relevantes de las mismas.

1.8.1. Aplicaciones en la agricultura

Participación de la lectina en las respuestas al estrés abiótico y el desarrollo de las plantas, el estrés de la planta se define como una condición que conduce al crecimiento y / o reducción del rendimiento. En su entorno natural, las plantas suelen estar expuestas a múltiples factores de estrés, como el estrés hídrico, el estrés por temperatura y el estrés por nutrientes. Para hacer frente a estos cambios ambientales, algunas plantas han desarrollado una sofisticada gama de respuestas fisiológicas, lo que da como resultado plantas con un mejor rendimiento de crecimiento. Las lectinas vegetales son parte del sistema inmunológico de las plantas, y un número creciente de publicaciones informa sobre la participación de lectinas vegetales inducibles, así como el receptor de lectina como quinasas en diferentes respuestas de estrés abiótico. Oryzata, también conocida como SaLT, es una de las lectinas relacionadas con la jacalina mejor estudiadas. Los niveles de transcripción y proteína para Oryzata, así como para otra lectina OsJAC1 relacionada con la jacalina, se mejoran después del estrés por sal, el estrés por sequía y el estrés por frío y el tratamiento con ácido abscísico. Las líneas transgénicas que sobre expresan Oryzata demostraron una mayor tasa de germinación y un mejor crecimiento después del tratamiento con sal en comparación con las plantas de control no transformadas (Tsaneva & Van Damme, 2020).

1.8.2. Lectinas como agentes insecticidas, antifúngicos, antibacterianos y antivirales, y su participación en las respuestas bióticas al estrés

La participación de las lectinas vegetales en las reacciones de estrés biótico, así como en las interacciones de simbiosis, ha sido ampliamente documentada en la literatura. Muchas lectinas clásicas pueden suprimir el crecimiento de hongos. El potencial de las lectinas para la mejora de cultivos se ha investigado principalmente en términos de sus actividades insecticidas. Varias lectinas clásicas poseen una fuerte actividad insecticida contra Lepidoptera, Coleoptera, Diptera o Hemiptera. Lectinas relacionadas con GNA, lectinas leguminosas, heveínas, nictaba, jacalinas, amarantinas y las lectinas ricina-B demostraron efectos insecticidas. La actividad insecticida de las lectinas vegetales se relaciona con su interacción y unión con una plétora de dianas glicosiladas

en la matriz peritrófica o en el intestino medio. Además, algunas lectinas alteran múltiples procesos fisiológicos en el insecto, lo que da como resultado una absorción deficiente de la nutrición, una reducción del peso corporal, el desarrollo y la fecundidad. El arroz transgénico que sobreexpresa la lectina de la hoja de *Allium sativum* (ASAL) mostró una resistencia mejorada contra las plagas de insectos chupadores de savia y las plantas de arroz con sobreexpresión de GNA demostraron un alto nivel de resistencia al salta hojas de lomo blanco (*Sogatella furcifera*) (Tsaneva & Van Damme, 2020).

1.8.3. Aplicaciones biomédicas de las lectinas vegetales

Las lectinas vegetales tienen diversas aplicaciones en la investigación biomédica, el diagnóstico y la terapia, y desempeñaron un papel fundamental en el desarrollo de la inmunología (Tsaneva & Van Damme, 2020). Múltiples informes han documentado que las lectinas vegetales tienen efectos mitógenos o apoptóticos, pueden activar o suprimir la inflamación, inhibir el crecimiento de tumores, interferir con la infección de patógenos, virus y parásitos, o facilitar la cicatrización de heridas (Liu et al. 2010), (de Sousa et al. 2019).

1.8.3.1. Terapia Oncológica

Muchas lectinas vegetales se conocen como agentes inmunomoduladores, que muestran efectos mitogénicos contra las células humanas. Las lectinas pueden inducir células T colaboradoras y, en consecuencia, influir en los niveles de interleucinas, interferón- γ (IFT- γ) o factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) y la expresión de diferentes quinasas (Lagarda-Díaz et al. 2017) (Breitenbach et al. 2017), (Alfonso-Cardoso et al. 2011).

El uso de lectinas vegetales en el diagnóstico y tratamiento del cáncer es uno de los temas más investigados en la actualidad en lectinología. Las lectinas pertenecientes a la familia de las leguminosas, las lectinas relacionadas con GNA y las lectinas Ricina-B, así como las WGA, han recibido especial atención (Liu et al. 2010), (Liu et al. 2009) (Barre et al. 2019). Algunas lectinas, incluidas ConA, PHA y WGA, se encuentran en una fase preclínica. El acoplamiento de lectinas a fármacos conduce a la creación de inmunotoxinas y toxinas dirigidas a ligandos, lo que permite una selección y administración más específicas en comparación con el uso químico directo o la administración a través de liposomas o nanopartículas (Tsaneva & Van Damme, 2020).

El acoplamiento de lectinas a una toxina, como existen de forma natural en el caso de la ricina, las lectinas de muérdago y algunas otras toxinas vegetales, puede conducir a la apoptosis y muerte celular de las células cancerosas. La oportunidad para el tratamiento local de tumores mediante terapia fotodinámica, utilizando el acoplamiento a fotosensibilizadores es otra posibilidad atractiva. Algunas lectinas vegetales se utilizan con éxito como adyuvantes durante la radioterapia o la quimioterapia, lo que reduce los efectos secundarios de las terapias (Tsaneva & Van Damme, 2020).

1.8.3.2. Terapia Antimicótica

Algunas lectinas afectan el crecimiento y / o la infección de patógenos, parásitos y virus animales o humanos. Por ejemplo, la lectina aislada de las semillas de *Helianthus annuus* inhibe el crecimiento de diferentes especies de *Candida*, lo que puede ir acompañado de cambios en la permeabilidad de la membrana. Las lectinas ejercen su actividad antimicrobiana a diferentes niveles, como el bloqueo de la entrada, la infección, la adhesión o la migración de las bacterias y la inhibición del crecimiento microbiano (Charungchitrak et al. 2011), (Breitenbach Barroso Coelho et al.2018).

1.8.3.3. Terapia Antibacteriana

Muchas lectinas pueden unirse a componentes de la pared celular como los ácidos teicoico y teicurónico, o a los peptidoglicanos, lipopolisacáridos, ácidos murámico o N-acetilmurámico y dipéptidos de muramilo presentes en bacterias Gram-positivas o Gram-negativas. Lectinas de leguminosas de diferentes especies vegetales demostraron actividad antimicrobiana contra patógenos como *Mycobacterium rhodochrous*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, *Corynebacterium xerosis* y *Staphylococcus aureus*, o pueden suprimir las biopelículas de *Streptococcus mutans* (Lagarda-Díaz et al. 2017), (Silva et al. 2016).

1.8.3.4. Terapia Antiviral y Antiparasitaria

Las propiedades antivirales de las lectinas también atrajeron mucha atención, especialmente en el tratamiento contra el VIH, Ébola y los coronavirus (Breitenbach Barroso Coelho et al.2018) (Barton et al. 2014). La glicoproteína gp120 de la envoltura del VIH también es reconocida por lectinas de múltiples familias: cianovirinas, lectinas relacionadas con jacalina (lectina de plátano, jacalina), lectinas de leguminosas (ConA, aglutinina de *Lens culinaris*, aglutinina de *Vicia faba*, aglutinina de *Pisum sativum* , PHA-E), GNA lectinas relacionadas (GNA, lectina HHA del híbrido de *Hippeastrum* , lectina de *Zea mays*), lectinas relacionadas con Heveína (aglutinina de *Urtica dioica*), lectina relacionada con Nictaba. Algunas lectinas se unen a los N-glicanos de gp120 y bloquean la infección por VIH-1. Se recomienda el uso de lectinas en geles para uso local que pueden restringir la distribución del VIH, aunque también se han informado algunas cepas resistentes. Además del VIH, el HHA y el UDA también son potentes inhibidores de los coronavirus (Tsaneva & Van Damme, 2020).

Como se mencionó anteriormente, la cianovirina posee una unión e inactivación muy fuerte e irreversible del VIH debido a su interacción con los N-glicanos con alto contenido de manosa presentes en la superficie de la glicoproteína gp120 viral, pero esta lectina también se puede unir con un alto contenido de manosa ligada a N estructuras de la envoltura del virus del ébola (Garrison et al. 2014). De manera similar, las lectinas cianobacterianas y la lectina del alga roja Griffithsin pueden unirse a las glicoproteínas de la envoltura de los genotipos de la hepatitis C bloqueando su entrada en las células (Silva et al. 2016). La ConA y la ricina demostraron propiedades antihelmínticas contra el parásito humano *Schistosoma mansoni* (Tsaneva & Van Damme, 2020).

1.8.3.5. Terapia anticoagulante

Las aplicaciones de las lectinas son tan amplias que también abarca funciones anticoagulantes un ejemplo de esto es la cMoL (lectina extraída de *Moringa oleifera*) cuyos efectos sobre la coagulación sanguínea se determinó mediante el tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa) y el tiempo de protrombina (TP). El control positivo utilizado en los ensayos fue plasma de donantes voluntarios sanos con valores normales para los tiempos de coagulación. La determinación del TTPa es particularmente útil para controlar el efecto de la heparina y determinar las deficiencias de los factores VIII, IX, XI y XII., el TP refleja la actividad del factor II

(protrombina), V, VII y X, cuya deficiencia se acompaña de una prolongación del tiempo necesario para la formación del coágulo (de Andrade Luz et al. 2013).

cMoL prolongó significativamente TTPa (a más de 300 s) y TP a las concentraciones ensayadas (3.0, 15, 30, 37.5, 45 y 60 $\mu\text{g} / \text{mL}$) pero el parámetro más afectado fue TTPa. La prolongación del TTPa sugiere inhibición de la vía intrínseca y / o coagulación sanguínea común, mientras que la prolongación del TP sugiere inhibición de la vía extrínseca. Las vías intrínseca y extrínseca convergen en la formación del factor Xa. Otras lectinas también prolongan significativamente ambos tiempos de coagulación. Lectina de semilla de *Cratylia mollis*, una lectina de unión a manosa / glucosa, promueve un aumento de casi el doble de los tiempos de coagulación. La lectina de *Bauhinia forficata*, BfL, aumentó sólo el tiempo de coagulación del TTPa, pero este efecto no se relacionó con la inhibición del factor Xa humano. Así, cMoL mostró una actividad anticoagulante ya que, al determinar el R, la relación entre el tiempo de coagulación de la muestra y el tiempo de coagulación de control fue superior a 1,0, hasta una R de 10 para el TTPa y una R de 1,5 de TP (de Andrade Luz et al. 2013).

CAPITULO II

2. METODOLOGÍA

2.1. Tipo de investigación:

El presente proyecto es una investigación de tipo exploratoria, descriptiva, de diseño experimental, de corte transversal y de acuerdo con el proceso integral de investigación es de carácter prospectivo.

2.2. Población y muestra

2.2.1. Población:

Estuvo constituida por los granos andinos inventariados que se expenden en los mercados populares del Cantón Riobamba, como son: San Alfonso, la Merced, Mayorista, San Francisco, Condamine y Santa Rosa

2.2.2. Muestra:

Se eligieron granos autóctonos y en base a sus características se estudiarán dos de ellos *Amaranthus caudatus* (Amaranto) y *Lupinus mutabilis* (Chocho).

2.3. Hipótesis:

Las lectinas presentes en los extractos acuosos de las especies de granos andinos seleccionadas *Amaranthus caudatus* (Amaranto) y *Lupinus mutabilis* (Chocho) tienen actividad biológica tales como acción hemoaglutinante, anticoagulante y antibacteriana en pruebas de laboratorio *in vitro*.

2.4. Variables de estudio:

El sistema de variables seleccionado para el presente proyecto será:

2.4.1. Variable dependiente (VD): Acción hemoaglutinante, anticoagulante, procoagulante y antimicrobiana.

2.4.2. Variable independiente (VI): Las lectinas presentes en los extractos acuosos de las especies de granos andinos seleccionados para el presente proyecto.

2.5. Operacionalización de las variables:

VARIABLES	TIPO	ESCALA	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES
Acción Hemoaglutinante	Cualitativa	Controlada	Es un tipo de aglutinación es decir de agregación propiamente de los eritrocitos (células sanguíneas de la sangre) por aglutininas (sustancias que hacen que distintas partículas se peguen para formar grupos o masas), incluyendo anticuerpos, proteínas y lectinas tema de investigación del presente proyecto (MeSH, 2016). Formación de un complejo que aglutina células.	Aglutina No aglutina
Acción Anticoagulante	Cuantitativa	Controlada	Inhibición de las proteínas plasmáticas de la coagulación	Medir TP inhibe la coagulación o prolonga el tiempo Medir TTP inhibe la coagulación o prolonga el tiempo
Acción Procoagulante	Cuantitativa	Controlada	Activación de las proteínas plasmáticas de la coagulación	Medir TP acorta el tiempo Medir TTP acorta el tiempo
Acción Antimicrobiana	Cuantitativa	Controlada	Impedir la multiplicación bacteriana.	Sensible o resistente

2.6. Materiales y métodos

2.6.1. Materiales

1. Los granos andinos autóctonos inventariados y seleccionados en los mercados populares de la Ciudad Riobamba (San Alfonso, la Merced, Mayorista, San Francisco, Condamine y Santa Rosa.).
2. Las muestras sanguíneas de las cuales se obtuvieron los hematíes de los grupos sanguíneos A, B, O y el plasma citratado se obtuvo de los mismos integrantes del equipo de investigación, previa autorización con el respectivo 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 gran positivas (+): *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 y Bacterias gram negativas (-): *Escherichia coli*, ATCC 25922
5. Los laboratorios de la Facultad de Ciencias de la Salud en el Campus Edison Riera, Universidad Nacional de Chimborazo, como instalaciones para la realización del presente proyecto investigativo.

2.6.2. Método de Estudio

El método de estudio empírico será el utilizado en el presente proyecto, ya que se observó y midió la actividad hemaglutinante, anticoagulante-procoagulante y antimicrobiana de los extractos acuosos de los granos andinos seleccionados sobre los hematíes, coagulación sanguínea y bacterias Gram positivas y Gram negativas respectivamente.

2.7. Técnicas y procedimientos

1. Se realizó un inventario de los distintos granos andinos que se expenden en los mercados populares del Cantón Riobamba, como son: San Alfonso, la Merced, Mayorista, San Francisco, Condamine y Santa Rosa, se identificó taxonómicamente los granos andinos inventariados y se eligió el *Amaranthus caudatus* (Amaranto) y el *Lupinus mutabilis* (Chocho) por ser los más comunes y accesibles en nuestro territorio.

2. Se adquirió una cantidad adecuada de granos andinos de las especies vegetales seleccionadas previamente, en los mercados populares de la ciudad de Riobamba, necesarios para la realización del presente proyecto.

3. Se obtuvo los extractos acuosos de los granos andinos seleccionados *Amaranthus caudatus* (Amaranto) y el *Lupinus mutabilis* (Chocho), mediante la técnica de disrupción mecánica utilizando mortero, filtración y centrifugación.

4. Determinación de la actividad hemoaglutinante, anticoagulante-procoagulante y antimicrobiana de las lectinas.

4.1. La actividad hemoaglutinante de los extractos acuosos de los granos andinos seleccionados se comprobó gracias a la utilización de hematíes de los grupos sanguíneos A, B y O en suspensiones al 5 por ciento, los mismos sirvieron como reactivos biológicos para la identificación de lectinas, los resultados de la aglutinación eritrocitaria se registraron de acuerdo a grados de aglutinación macroscópica es decir visibles a simple vista en tubos de ensayo, las puntuaciones van desde 4+ cuando hay aglutinación en forma de granulo único hasta 0 sin aglutinación es decir reacción negativa (Spada, et al. 2020).

4.2. Se determinó la actividad anticoagulante – procoagulante a través de la inhibición o la activación de la coagulación del plasma humano tratado con los extractos acuosos extraídos de los granos andinos seleccionados, medidos a través del acortamiento o de la prolongación de los tiempos de coagulación como son el Tiempo de Protrombina (TP) y el Tiempo de Tromboplastina Parcial activada (TTPa), según los siguientes protocolos:

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 la especie vegetal (37°C) 100 uL de la mezcla + 200 uL de Tromboplastina D (37°C)	Tiempo en segundos como valor que medió el efecto anticoagulante

Tabla 4. Técnica para evaluar el efecto anticoagulante de las fitoaglutininas (Lectinas) presentes en los extractos precipitados y liofilizados obtenidos de las especies vegetales seleccionadas sobre las proteínas de la coagulación de la vía extrínseca.

TTPa	x 3
100 uL de Plasma citratado + 100 uL de ATTP-XL+ ác. elálgico(37°C) + 100 uL de CaCl₂ (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. elálgico (37°C) + 100 uL de CaCl₂ (37°C)	Tiempo en segundos como valor de referencia control
100 uL de Plasma + 100 uL del extracto de la especie vegetal (37°C) 100 uL de la mezcla 100 uL de ATTP-XL+ ác. elálgico (37°C) + 100 uL de CaCl₂ (37°C)	Tiempo en segundos como valor que medió el efecto anticoagulante

Tabla 5. Técnica para evaluar el efecto anticoagulante de las fitoaglutininas (Lectinas) presentes en los extractos precipitados y liofilizados obtenidos de las especies vegetales seleccionadas sobre las proteínas de la coagulación de la vía intrínseca.

4.3. Se determinó la actividad antibacteriana de las lectinas presentes en los granos andinos seleccionados para lo cual se utilizó la técnica de Kirby Bauer, se utilizaron tres cepas bacterianas *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, gracias a la medición del halo de inhibición de crecimiento bacteriano frente a los extractos acuosos de los granos andinos seleccionados. (Naspud & Castro, 2020)

5. Se interpretó y discutió los resultados obtenidos comparándolos con los obtenidos en estudios similares encontrados en la literatura.

6. Como paso final se redactó el presente Informe final de Investigación como Trabajo de Titulación.

2.8. Procesamiento estadístico

El presente trabajo investigativo no aplicará procesamiento estadístico de datos. Los resultados se presentarán con el uso de tablas y gráficos.

2.9. Consideraciones éticas

El presente proyecto al usar netamente investigación in vitro, no involucra la experimentación en seres humanos u otros seres vivos, salvo muestras biológicas de los primeros.

2.10. Consentimiento Informado

Como se mencionó se utilizó muestras biológicas (muestras sanguíneas) para la realización del presente proyecto, dichas muestras son de seres humanos provenientes del mismo equipo investigativo y colaboradores, por lo que se extrajo las mismas previo consentimiento informado, documento adjuntado en el apartado de anexos.

CAPITULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 RESULTADOS

3.1.1. Resultado de la Actividad Hemoaglutinante.

Tabla 6: Hemoaglutinación de extractos obtenidos a partir de granos andinos *Amaranthus caudatus* (Amaranto) y *Lupinus mutabilis* (Chocho) con distintos eritrocitos humanos.

EVALUACIÓN DE LA HEMOAGLUTINACIÓN CON HEMATÍES A, B y O			Hemaglutinación 1 H			Hemaglutinación 24 H		
CÓDIGO	NOMBRE COMÚN	NOMBRE CIENTÍFICO	A	B	O	A	B	O
GR1	AMARANTO	<i>Amaranthus caudatus.</i>	4	4	4	4	4	4
GR6	CHOCHO O ALTRAMUZ	<i>Lupinus mutabilis</i>	4	4	4	4	4	4

Leyenda: (0) = no hay aglutinación, (1/2) = muy débil aglutinación, (1) = débil aglutinación, (2) = moderada aglutinación, (3) = fuerte aglutinación, (4) = muy fuerte aglutinación.

En la Tabla 6 se muestran los resultados de la actividad de hemoaglutinación de los extractos acuosos obtenidos a partir de granos andinos *Amaranthus caudatus* (Amaranto) y *Lupinus mutabilis* (Chocho). El extracto GR1 mostró tener una actividad hemoaglutinante muy fuerte de los eritrocitos del grupo sanguíneos A, B y O tanto en la primera y a las 24 horas de incubación. Los mismos resultados fueron obtenidos con el extracto GR6 para los grupos sanguíneo A, B y O, por lo que se evidencia que ambos granos andinos tienen una muy fuerte aglutinación para los distintos grupos sanguíneos.

3.1.2. Resultado de la Actividad Anticoagulante o Procoagulante.

Tabla 7: Tiempo de Protrombina (TP) y Tiempo de Tromboplastina Parcial activado (TTPa) de los extractos crudos acuosos obtenidos a partir de *Amaranthus caudatus* (Amaranto) y *Lupinus mutabilis* (Chocho).

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTICOAGULANTE O PROCOAGULANTE (TP Y TTPa)			Tiempo de Protrombina (TP) Segundos (seg)	Tiempo de Tromboplastina Parcial activada (TTPa) Segundos (seg)
CONTROL 100 ul + PLASMA + 100 uLSSF			15 +/- 1 seg	67 +/- 2 seg
CÓDIGO	NOMBRE COMÚN	NOMBRE CIENTÍFICO		
GR1	AMARANTO	<i>Amaranthus caudatus.</i>	15	40
GR6	CHOCHO O ALTRAMUZ	<i>Lupinus mutabilis</i>	60	>300

La Tabla 7 muestra la acción anticoagulante o procoagulante de los extractos acuosos de granos andinos *Amaranthus caudatus* (Amaranto) y *Lupinus mutabilis* (Chocho) mediante la medición del Tiempo de Protombina (TP), para lo cual se utilizó un pool de plasma citratado, al que se le añadió tromboplastina y calcio, momento en el que se mide el tiempo transcurrido hasta activar la coagulación, no hubo acortamiento ni prolongación del TP con el uso del extracto GR1, pero con el extracto GR6 hubo una prolongación significativa del mismo. De la misma manera se evaluó el TTPa con el uso de un pool de plasma citratado más el reactivo, que tuvo como objetivo medir el tiempo que transcurre hasta la formación del coágulo de fibrina, se evidenció una prolongación significativa en el extracto GR6, en contraparte con el extracto GR1 hubo un acortamiento del TTPa.

3.1.3. Resultado de la Actividad Antimicrobiana

Tabla 8: Medición de la actividad Antibacteriana de extractos obtenidos a partir de granos andinos *Amaranthus caudatus* (Amaranto) y *Lupinus mutabilis* (Chocho).

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA GRAM POSITIVOS Y GRAM NEGATIVOS			E. coli ATCC 25922	S. aureus ATCC 25923	E. faecalis ATCC 29212
CONTROL AMIKACINA			36 mm	-----	-----
CONTROL CIPROFLOXACINA			-----	30 mm	28 mm
CÓDIGO	NOMBRE COMÚN	NOMBRE CIENTÍFICO			
GR1	AMARANTO	<i>Amaranthus caudatus.</i>	0	0	0
GR6	CHOCHO O ALTRAMUZ	<i>Lupinus mutabilis</i>	0	0	0

La Tabla 8 muestra la actividad antimicrobiana de los extractos acuosos obtenidos de granos andinos *Amaranthus caudatus* (Amaranto) y *Lupinus mutabilis* (Chocho). GR1 Y GR6 no presentaron actividad antimicrobiana sobre bacterias Gram positivas *S.aureus*, *E. faecalis* y Gram Negativas *E. coli*, en comparación con el grupo control Amikacina que demostró actividad contra *E.coli* con un halo de inhibición de 36 mm, y el grupo control Ciprofloxacina con actividad frente a *S.aureus* y *E. faecalis* con un halo de inhibición de 30mm y 28 mm respectivamente.

3.2. DISCUSIÓN

Según la evidencia científica consultada para la realización del presente proyecto, las fitoaglutininas, hemaglutininas o actualmente conocidas como lectinas están presentes en múltiples organismos vivos tales como plantas, hongos, bacterias e incluso seres más complejos como los animales, siendo las familias de lectinas presentes en plantas las más estudiadas en todo el mundo (Tsaneva & Van Damme, 2020). Esto contrasta con la falta de estudios sobre este tema en nuestro país, por lo cual se ha procedido a la realización del presente trabajo investigativo con la finalidad de contribuir a la adquisición de nuevo conocimiento sobre las posibles aplicaciones y propiedades que tienen estas proteínas.

Las lectinas presentes en extractos acuosos obtenidos de los dos granos andinos seleccionados *Amaranthus caudatus* (Amaranto) y *Lupinus mutabilis* (Chocho) mostraron tener actividad hemaglutinante en las pruebas de laboratorio, propiamente se demostró la capacidad muy fuerte de aglutinar hematíes de los grupos sanguíneos A, B y O, lo cual coincide con los resultados obtenidos por Antonieta Mengoni en pruebas de hemaglutinación donde uso dos especies de la familia Amaranthaceae, una *Amaranthus hypochondriacus* para ensayos clínicos y otra *Amaranthus caudatus* como grupo control, se evidenció que los extractos de las mismas tienen actividad hemoaglutinante frente a los mismos grupos sanguíneos del presente estudio sin distinción, y el grado de aglutinación era directamente proporcional a la concentración de proteína, a más concentración más grado de hemoaglutinación se observaba (Mengoni et al. 2016). En contraste los resultados obtenidos referente a la actividad hemoaglutinante de *Lupinus mutabilis* en nuestro estudio se evidencio actividad aglutinante muy fuerte frente a los grupos sanguíneos A, B y O, lo cual difiere de los resultados obtenidos por Jhohani Villamarin en su tesis previa a la obtención del título de Biólogo el cual encontró que la actividad hemoaglutinante de la lectina de *Lupinus mutabilis* era principalmente para hematíes del grupo sanguíneo A y AB (Villamarin Carpio, 2016).

La acción anticoagulante de los extractos de los granos andinos seleccionados fue evidenciada por el acortamiento o alargamiento de los tiempos de coagulación del plasma humano, en el caso del extracto de *Amaranthus caudatus* no se evidencio cambios en el TP, pero hubo un acortamiento del TTPa evidenciándose actividad procoagulante, lo cual contrasta en parte a los resultados

encontrados en el estudio de Ana Sabbione sobre la actividad antitrombótica de proteínas de amaranto, entre las cuales se encuentra la Aglutinina (*Amaranthus caudatus*), donde se evidenció en pruebas de laboratorio en animales tanto *in vitro* como *in vivo* cambios hemostáticos compatibles con la anticoagulación como prolongación del tiempo de coagulación y tiempo de sangría, aunque estos efectos no se los pueden atribuir específicamente a las lectinas presentes en el grano andino, debido a que en el estudio se usaron múltiples proteínas y no solo la lectina de *Amaranthus caudatus* (Sabbione, 2015). El extracto acuoso de *Lupinus Mutabilis* presentó actividad anticoagulante ya que prolongó significativamente los tiempos de coagulación tanto el TP como el TTPa sobre todo en el último puesto que se prolongó el tiempo de coagulación a más de 300 segundos, en la búsqueda de referencia bibliográfica no se encontraron estudios en este apartado referente al grano andino, pero podemos comparar estos resultados con los obtenidos por Luciana de Andrade Luz y colaboradores en el estudio científico sobre las propiedades anticoagulantes de la lectina de *Moringa oleifera* donde se evidencian prolongación significativa a más de 300 segundos en el TTPa lo cual concuerda con el presente estudio, en contra parte el TP se prolongó pero en menor medida que la presente investigación, lo cual demuestra la actividad anticoagulante de las lectinas, en este caso de la lectina del grano andino, y sus posibles aplicaciones como fármacos antitrombóticos (de Andrade luz et al. 2013).

La actividad antimicrobiana en el presente estudio fue evaluada mediante la medición de los halos de inhibición bacteriana frente a *E. coli*, *S. aureus*, *E. faecalis*, posterior a las pruebas de laboratorio correspondientes no se evidencio espectro bactericida alguno al exponer a dichas bacterias a los extractos acuosos de los granos andinos seleccionados, por otro lado los antibióticos control como Amikacina y Ciprofloxacina efectivamente mostraron efecto inhibitorio frente a las colonias bacterianas. En la revisión bibliográfica en la literatura científica nos encontramos con conclusiones contradictorias respecto a este tema, según un estudio previa a obtención de título de Químico Farmacéutico de Lourdes Flores y Lljhaira Vásquez no se evidenció actividad antimicrobiana frente a las mismas especies de bacterias del presente trabajo con el uso de extractos acuosos de *Lupinus mutabilis*, otro estudio realizado por Natalia Ramírez y Cristian Montecinos de la Universidad Andrés Bello dice lo contrario puesto que extractos del grano antes mencionado presentó actividad antimicrobiana frente a bacterias Gram Negativas como la *K.*

pneumoniae, por lo cual es evidente que se necesita más estudios respecto a este tema (Flores Lourdes & Vásquez Llahaira, 2018) (Ramírez Jofré & Montecinos Saavedra, 2016).

Por lo tanto, es evidente que nuestra hipótesis planteada se cumple ya que se detectó actividad biológica en las lectinas presentes en los extractos acuosos crudos obtenidos por disrupción mecánica de los granos andinos seleccionados *Amaranthus caudatus* (Amaranto) y *Lupinus mutabilis* (Chocho) en lo referente a la actividad hemoaglutinante, anticoagulante y procoagulante mas no en la actividad antimicrobiana.

CONCLUSIONES

- Se aislaron correctamente las lectinas presentes en los extractos acuosos de los granos andinos seleccionados mediante la técnica de disrupción mecánica para su posterior utilización en pruebas de laboratorio *in vitro*.
- Los extractos acuosos de las dos especies seleccionadas de granos andinos *Amaranthus caudatus* (Amaranto) y *Lupinus mutabilis* (Chocho), tuvieron actividad biológica *in vitro* en pruebas de laboratorio sobre todo en lo referente a la aglutinación de hematíes y la acción sobre parámetros hemostáticos o de coagulación mas no se evidenció actividad antimicrobiana.
- La actividad biológica de los extractos acuosos de ambas especies de granos seleccionados en pruebas de laboratorio fue muy fuerte de acuerdo a los grados de aglutinación frente a los grupos sanguíneos A, B y O.
- El extracto obtenido del *Amaranthus caudatus* (Amaranto) no tuvo efecto sobre el TP, sin embargo, logro acortar el TTPa demostrando su acción procoagulante, en contra parte el extracto de *Lupinus mutabilis* (Chocho) demostró prolongación de ambos tiempos de coagulación, especialmente significativa sobre el TTPa resultados compatibles con actividad anticoagulante.
- No se demostró actividad antimicrobiana alguna frente a bacterias como *E. coli*, *S. Aureus* y *E. faecalis* en comparación con los grupos control de antibióticos (Amikacina y Ciprofloxacina) con espectro conocido para estos agentes patógenos, ya que en ninguna de las pruebas de laboratorio se evidencia halo de inhibición de crecimiento bacteriano, esto podría ser explicado debido a que en los extractos acuosas de los granos andinos no hubo una concentración adecuada de lectinas.

RECOMENDACIONES

- Purificar las lectinas presentes en los granos andinos seleccionados para revalorar la actividad biológica de las mismas mediante pruebas de laboratorio.
- Caracterizar las lectinas presentes en los granos andinos seleccionados con la ayuda de métodos de cristalografía, para conocer más de las mismas debido a que existe muy poca información.
- Investigar la actividad antimicrobiana de otros dominios de lectinas presentes en plantas autóctonas de nuestra localidad para contribuir en la solución al problema de la resistencia a los antibióticos, tema de vital importancia en todo el mundo debido a la aparición de cada vez más bacterias resistentes a los mismos.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Afonso-Cardoso, S.R., Silva, C.V., Ferreira, M.S. & Souza, M.A. (2011). Effect of the *Synadenium carinatum* latex lectin (ScLL) on *Leishmania (Leishmania) amazonensis* infection in murine macrophages. *Experimental Parasitology*, 128(1), 61-67. Obtenido de:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0014489411000567>

Agudelo-H, C.A., Betancur, J., Galeano, G. & Aguirre-C, J. (2008). Amaranthaceae. *Flora de Colombia*. Instituto de ciencias naturales, Facultad de ciencias, Universidad nacional de Colombia. Obtenido de:

https://www.researchgate.net/profile/Carlos_Agudelo_Henao/publication/281102543_Flora_de_Colombia_Amaranthaceae/links/55d512b608ae1e65166373e0/Flora-de-Colombia-Amaranthaceae.pdf

Amataneni, A., Chippa, V., Rettew Andrew, C. (2020). Anticoagulation Safety. Obtenido de:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK519025/>

Aub, J. C., Sanford, B. H. & Cote, M. N. (1965). Studies on reactivity of tumor and normal cells to a wheat germ agglutinin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 54(2), 396-399 Obtenido de:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC219676/pdf/pnas00160-0062.pdf>

Barbosa, P.P.deS. (2013). Purificação, caracterização e atividade biológica de lectinas do extrato de sementes de *Canavalia brasiliensis* (feijão-bravo-do-Ceará). Obtenido de:

<https://repositorio.ufpb.br/jspui/handle/tede/3651>

Barondes, S.H. (1988). Bifunctional properties of lectins: lectins redefined. *Trends in biochemical sciences*, 13(12), 480-482. Obtenido de: [https://www.cell.com/trends/biochemical-sciences/pdf/0968-0004\(88\)90235-6.pdf](https://www.cell.com/trends/biochemical-sciences/pdf/0968-0004(88)90235-6.pdf)

Barre, A., Bourne, Y., Van Damme, E.J. & Rougé, P. (2019). Overview of the structure–function relationships of mannose-specific lectins from plants, algae and fungi. *International journal of molecular sciences*, 20(2), 254. Obtenido de: <https://www.mdpi.com/1422-0067/20/2/254>

Barton, C., Kouokam, J.C., Lasnik, A.B., Foreman, O., Cambon, A., Brock, G., ... & Palmer, K.E. (2014). Activity of and effect of subcutaneous treatment with the broad-spectrum antiviral lectin griffithsin in two laboratory rodent models. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 58(1), 120-127. Obtenido de: <https://aac.asm.org/content/58/1/120.short>

Bonnardel, F., Perez, S., Lisacek, F. & Imberty, A. (2020). Structural Database for Lectins and the UniLectin Web Platform. In *Lectin Purification and Analysis* (pp. 1-14). Humana, New York, NY. Obtenido de: https://link.springer.com/protocol/10.1007/978-1-0716-0430-4_1

Boyd, W. C. & Shapleigh, E. (1954). Antigenic relations of blood group antigens as suggested by tests with lectins. *The Journal of Immunology*, 73(4), 226-231. Obtenido de: <https://www.jimmunol.org/content/73/4/226>

Bozorov, S.S., Berdiev, N.Sh., Ishimov, U.J., Olimjonov, Sh.S., Ziyavitdinov, J.F., Asrorov, A.M. & Salikhov, Sh.I. (2018). Chemical composition and biological activity of seed oil of amaranth varieties. *Nova Biotechnologica et Chimica*. 17(19), 66-73. Obtenido de: [https://content.sciendo.com/configurable/contentpage/journals\\$002fnbec\\$002f17\\$002f1\\$002farticle-p66.xml](https://content.sciendo.com/configurable/contentpage/journals$002fnbec$002f17$002f1$002farticle-p66.xml)

Breitenbach Barroso Coelho, L.C., dos Santos Silva, P. M., de Menezes Lima, V. L., Pontual, E.V., Guedes Paiva, P.M., Napoleão, T.H., & dos Santos Correia, M.T. (2017). Lectins, interconnecting proteins with biotechnological/pharmacological and therapeutic applications. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2017, 1-22. Obtenido de: <https://www.hindawi.com/journals/ecam/2017/1594074>

Breitenbach Barroso Coelho, L. C., Marcelino dos Santos Silva, P., Felix de Oliveira, W., De Moura, M. C., Viana Pontual, E., Soares Gomes, F., ... & dos Santos Correia, M. T. (2018). Lectins as antimicrobial agents. *Journal of applied microbiology*, 125(5), 1238-1252. Obtenido de:

<https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/jam.14055>

Carvajal Larenas, F. (2013). *Managing technological aspects of Lupinus mutabilis from a food sovereignty perspective in Ecuador*. Obtenido de:

<https://library.wur.nl/WebQuery/wurpubs/443500>

Charungchittrak, S., Petsom, A., Sangvanich, P. & Karnchanatat, A. (2011). Antifungal and antibacterial activities of lectin from the seeds of Archidendron jiringa Nielsen. *Food Chemistry*, 126(3), 1025-1032. Obtenido de:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814610015323>

Correia, M.T.S. & Coelho, L.C.B.B. (1995). Purification of a glucose/mannose specific lectin, isoform 1, from seeds of Cratylia mollis Mart. (Camaratu bean). *Applied biochemistry and biotechnology*, 55(3), 261-273. Obtenido de:

<https://link.springer.com/article/10.1007/BF02786865>

de Andrade Luz, L., Cabral Silva, M. C., da Silva Ferreira, R., Santana, L A., Silva-Lucca, R.A., Mentele, R., ... & Breitenbach Barroso Coelho, L. C. (2013). Structural characterization of coagulant Moringa oleifera Lectin and its effect on hemostatic parameters. *International journal of biological macromolecules*, 58, 31-36. Obtenido de:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S014181301300130X>

de Schutter, K., & Van Damme, Els J.M. (2015). Protein-carbohydrate interactions as part of plant defense and animal immunity. *Molecules*, 20(5), 9029-9053. Obtenido de:

<https://www.mdpi.com/1420-3049/20/5/9029>

de Sousa, F.D., Vasconcelos, P.D., da Silva, A.F.B., Mota, E.F., da Rocha Tomé, A., da Silva Mendes, F. R., ... & Lourenzoni, M.R. (2019). Hydrogel and membrane scaffold formulations of

Frutalin (breadfruit lectin) within a polysaccharide galactomannan matrix have potential for wound healing. *International journal of biological macromolecules*, 121, 429-442. Obtenido de:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0141813018323523>

Dixon, H.B.F. (1981). Defining a lectin. *Nature*, 292(5820), 192-192. Obtenido de:

<https://www.nature.com/articles/292192e0>

Farhud, D.D. (2018). Karl Landsteiner (1868-1943). *Iranian journal of public health*, 47(6), 777-778. Obtenido de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6077641/>

Fletcher, R.J. (2015). Pseudocereals: Overview. En: *Encyclopedia of Food Grains: Second Edition*. United Kingdom: Elsevier pp.274-279. Obtenido de:

<https://espace.library.uq.edu.au/view/UQ:723518>

Flores Barata, L.E. & Vásquez Gatica, LL.E. (2018). Actividad Antibacteriana *in vitro* de combinaciones vegetales de Morinda citrifolia, Physalis angulata L y Lupinus mutabilis Sweet frente a Escherichia coli, Enterococcus faecalis y Staphylococcus aureus, IMET –ESSALUD IQUITOS –2016. Obtenido de: <https://1library.co/document/yd748v6y-actividad-antibacteriana-combinaciones-vegetales-citrifolia-escherichia-enterococcus-staphylococcus.html>

Franck, C. M., Westermann, J. & Boisson-Dernier, A. (2018). Plant malectin-like receptor kinases: from cell wall integrity to immunity and beyond. *Annual Review of Plant Biology*, 69, 301-328.

Obtenido de: <https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev-arplant-042817-040557>

Garrison, A.R., Giomarelli, B.G., Lear-Rooney, C.M., Saucedo, C.J., Yellayi, S., Krumpe, L.R., ... & McMahon, J.B. (2014). The cyanobacterial lectin scytovirin displays potent *in vitro* and *in vivo* activity against Zaire Ebola virus. *Antiviral research*, 112, 1-7. Obtenido de:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0166354214002794>

Gemeiner, P., Mislovičová, D., Tkáč, J., Švitel, J., Pätoprstý, V., Hrabárová, E., ... & Kožár, T. (2009). Lectinomics: II. A highway to biomedical/clinical diagnostics. *Biotechnology Advances*, 27(1), 1-15. Obtenido de:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0734975008000815>

Goldstein, I. J., Hughes, R. C., Monsigny, M., Osawa, T. & Sharon, N. (1980). What should be called a lectin? *Nature*, 285(5760), 66-66. Obtenido de:

<https://www.nature.com/articles/285066b0.pdf>

Gresta, F., Wink, M., Prins, U., Abberton, M., Capraro, J., Scarafoni, A. & Hill, G. (2017). Lupins in European cropping systems. *Legumes in cropping systems*, 88-108. Obtenido de:

https://www.researchgate.net/profile/Alain_Peeters2/publication/321669040_The_role_of_legumes_in_bringing_protein_to_the_table/links/5b0ffd21aca2723d99773fca/The-role-of-legumes-in-bringing-protein-to-the-table.pdf#page=111

Gulisano, A., Alves, S., Neves Martins, J. & Trindade, L.M. (2019). Genetics and breeding of *Lupinus mutabilis*: An emerging protein crop. *Frontiers in Plant Science*, 10, 1385. Obtenido de:

<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2019.01385/full>

Hernández Díaz, P., Martín González, O., Rodríguez de Pablos Vélez, Y. & Ganem Báez, F. A. (1999). Aplicaciones de las lectinas. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia*, 15(2), 91-95. Obtenido de: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0864-02891999000200002&script=sci_arttext&tlng=pt

Hozbor, D., Taboga, O., Baldi, P., Cataldi, A., Fabricius, G., González Ayala, S., Marcipar, I. & Riera, L. (2020). COVID-19 Vacunas contra la enfermedad COVID-19 causada por el Coronavirus SARS-COV-2: Avances y Desafíos., *Asociación Argentina de Microbiología*. Obtenido de:

https://www.aam.org.ar/src/img_up/28032020.2.pdf

(ITIS) Integrates Taxonomic Information System. (2005). *Lupinus mutabilis* Sweet, Taxonomic Serial No.: 506313. Generado en: Sunday, October 25, 2020. Obtenido de:

https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=506313#nul
Kocourek, J. & Horejsi, V (1983). A note on the recent discussion on definition of the term 'lectin'.
En: Lectins: Biology, Biochemistry, Clinical Biochemistry Vol. 3, pp. 3–6, Walter De Gruyter,
Berlin, Germany.

Lagarda-Diaz, I., Guzman-Partida, A.M. & Vazquez-Moreno, L. (2017). Legume lectins: proteins with diverse applications. *International journal of molecular sciences*, 18(6), 1242. Obtenido de: <https://www.mdpi.com/1422-0067/18/6/1242>

Lannoo, N. & Van Damme, Els J.M. (2010). Nucleocytoplasmic plant lectins. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1800(2), 190-201. Obtenido de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304416509002128>

Liu, B., Bian, H.J. & Bao, J.K. (2010). Plant lectins: potential antineoplastic drugs from bench to clinic. *Cancer letters*, 287(1), 1-12. Obtenido de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304383509003450>

Liu, B., Zhang, B., Min, M.W., Bian, H.J., Chen, L.F., Liu, Q. & Bao, J.K. (2009). Induction of apoptosis by Polygonatum odoratum lectin and its molecular mechanisms in murine fibrosarcoma L929 cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1790(8), 840-844. Obtenido de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304416509001019>

Lucas, M.M., Stoddard, F.L., Annicchiarico, P., Frias, J., Martinez-Villaluenga, C., Sussmann, D., ... & Pueyo, J.J. (2015). The future of lupin as a protein crop in Europe. *Frontiers in plant science*, 6, 705. Obtenido de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4561814/>

Mengoni, A., Quiroga, A.V. & Añón, M.C. (2016). Purificación y caracterización de una lectina de *Amaranthus hypochondriacus*, un compuesto antiproliferativo. Obtenido de: <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/57786>

MeSH (Medical Subject Headings. (2016). Hemadsorption (Hemagglutination) MeSH Descriptor Data. <https://meshb.nlm.nih.gov/record/ui?name=Hemadsorption>

Morgan, D.A., Ruscetti, F.W. & Gallo, R. (1976). Selective in vitro growth of T lymphocytes from normal human bone marrows. *Science*, 193(4257), 1007-1008. Obtenido de: <https://science.sciencemag.org/content/193/4257/1007.abstract>

Morales, F., Padilla, S. & Falconí Félix. (2016). Medicinal plants used in traditional herbal medicine in the Province of Chimborazo, Ecuador. Obtenido de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5357882/>

Moshiri, M., Hamid, F. & Etemad, L. (2016). Ricin toxicity: Clinical and molecular aspects. *Reports of biochemistry & molecular biology*, 4(2), 60-65. Obtenido de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4986263/>

Naspud Villafuerte, MA., & Castro Cabrera, JA. (2020). Actividad biológica de las lectinas obtenidas de semillas del achotillo (*Nephelium lappaceum*) y uvilla (*Physalis peruviana*), Riobamba, 2019-2020. *Bachelor's thesis, Universidad Nacional de Chimborazo*. Obtenido de: <http://dspace.unach.edu.ec/bitstream/51000/6800/1/PROYECTO%20DE%20INVESTIGACION-CASTRO%20JOCELYNE-NASPUD%20MARGARITA-MED.pdf>

Nowell, P.C. (1960). Phytohemagglutinin: an initiator of mitosis in cultures of normal human leukocytes. *Cancer research*, 20(4), 462-466. Obtenido de: <https://cancerres.aacrjournals.org/content/canres/20/4/462.full.pdf>

(NRC) National Research Council. (1989). Lost Crops of the Incas: Little-Known Plants of the Andes with Promise for Worldwide Cultivation. National Academy Press, Washington, D.C. Obtenido de: https://www.nap.edu/login.php?record_id=1398

OMS (2017). Obtenido de: <https://www.who.int/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>

OMS (2019) Obtenido de: <https://www.who.int/news/item/29-04-2019-new-report-calls-for-urgent-action-to-avert-antimicrobial-resistance-crisis>

Opas, M., Tharin, S., Milner, R.E. & Michalak, M. (1996). Identification and localization of calreticulin in plant cells. *Protoplasma*, 191(3-4), 164-171. Obtenido de: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF01281814>

Peralta, E., Murillo, A. & Mazón, N. (2015). Línea del tiempo. Mejoramiento genético de los granos andinos en Ecuador: Quinoa, chocho, amaranto y ataco. Obtenido de: <https://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/2726>

Peumans, W.J. & Van Damme, E.J. (1995). Lectins as plant defense proteins. *Plant physiology*, 109(2), 347-352. Obtenido de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC157596/>

Polito, L., Bortolotti, M., Battelli, M. G., Calafato, G. & Bolognesi, A. (2019). Ricin: an ancient story for a timeless plant toxin. *Toxins*, 11(6), 1-16. Obtenido de: <https://www.mdpi.com/2072-6651/11/6/324>

Procópio, T.F., de Siqueira Patriota, L.L., de Moura, M.C., da Silva, P.M., Silva de Oliveira, A.P., do Nascimento Carvalho, L.V., ... & da Rocha Pitta, M.G. (2017). CasuL: A new lectin isolated from *Calliandra surinamensis* leaf pinnulae with cytotoxicity to cancer cells, antimicrobial activity and antibiofilm effect. *International journal of biological macromolecules*, 98, 419-429. Obtenido de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813017300648>

Ramírez Jofré, N., & Montecinos Saavedra, C. (2016). *Extracto de Lupinus albus como tratamiento antimicrobiano* (Doctoral dissertation, Universidad Andrés Bello, Chile). Obtenido de: <http://repositorio.unab.cl/xmlui/handle/ria/2707>

Reuter, G. & Gabius, H.J. (1999). Eukaryotic glycosylation: whim of nature or multipurpose tool? *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 55(3), 368-422. Obtenido de: <https://link.springer.com/article/10.1007/s000180050298>

Rinderle, S.J., Goldstein, I.J., Matta, K.L. & Ratcliffe, R.M. (1989). Isolation and characterization of amaranthin, a lectin present in the seeds of *Amaranthus caudatus*, that recognizes the T-(or cryptic T)-antigen. *Journal of Biological Chemistry*, 264(27), 16123-16131. Obtenido de: <https://www.jbc.org/content/264/27/16123.short>

Sabbione, A.C. (2015). *Actividad antitrombótica de proteínas de amaranto* (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de La Plata, Argentina). Obtenido de: <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/44944>

Sato, Y., Morimoto, K., Hirayama, M., & Hori, K. (2011). High mannose-specific lectin (KAA-2) from the red alga *Kappaphycus alvarezii* potently inhibits influenza virus infection in a strain-independent manner. *Biochemical and biophysical research communications*, 405(2), 291-296. Obtenido de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0006291X11000507>

Spada, E., Perego R., Baggiani, L. & Proverbio, D. (2020). Comparison of Conventional Tube and Gel-Based Agglutination Tests for AB System Blood Typing in Cat. Obtenido de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7324631/>

Silva, P.M., Napoleão, T.H., Silva, L.C., Fortes, D.T., Lima, T.A., Zingali, R.B., ... & Paiva, P.M.G. (2016). The juicy sarcotesta of *Punica granatum* contains a lectin that affects growth, survival as well as adherence and invasive capacities of human pathogenic bacteria. *Journal of functional foods*, 27, 695-702. Obtenido de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464616303280>

Sousa de Araújo, R.M., da Silva Ferreira, R., Napoleão, T.H., das Graças Carneiro-da-Cunha, M., Coelho, L.C.B.B., dos Santos Correia, M.T., ... & Paiva, P.M.G. (2012). Crataeva tapia bark lectin is an affinity adsorbent and insecticidal agent. *Plant science*, 183, 20-26. Obtenido de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168945211003050>

Sumner, J.B. & Howell, S.F. (1936). Identification of hemagglutinin of jack bean with concanavalin A. *Journal of Bacteriology*, 32(2), 227-237. Obtenido de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC543784/>

Trugo L.C., Von Baer D., Von Baer E. (2003). "LUPIN," En: Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition, Ed. Caballero B. (Oxford: Academic Press), 3623–3629. doi: 10.1016/B0-12-227055-X/00717-3

Tsaneva, M. & Van Damme, ElsJ.M (2020). 130 years of Plant Lectin Research. *Glycoconjugate Journal*, 37, 533-551. Obtenido de: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10719-020-09942-y>

(USDA) United States Department of Agriculture, Natural Resources Conservation Service. (2020). *Amaranthus caudatus* L. foxtail amaranth. <https://plants.sc.egov.usda.gov/core/profile?symbol=AMCA3>

Van Damme, Els.J.M., Lannoo, N. & Peumans, W.J. (2008). Plant lectins. En: *Advances in botanical research*, 48, 107-209. Academic Press. Obtenido de:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0065229608004035>

Van Holle, S. & Van Damme, Els J.M. (2019). Messages from the past: New insights in plant lectin evolution. *Frontiers in plant science*, 10, 36.

Vaz, A.F., Costa, R.M., Melo, A.M., Oliva, M.L., Santana, L.A., Silva-Lucca, R.A., ... & Correia, M.T. (2010). Biocontrol of *Fusarium* species by a novel lectin with low ecotoxicity isolated from *Sebastiania jacobinensis*. *Food Chemistry*, 119(4), 1507-1513. Obtenido de:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814609010942>

Villamarin Carpio, J.E. (2016). Aislamiento y caracterización bioquímica de proteínas Citotóxicas (Lectinas) de semillas de *Lupinus Mutabilis Sweet* «Tarwi». Obtenido de:

<http://repositorio.unsa.edu.pe/handle/UNSA/2354>

Wang, S.Y., Yu, Q.J., Bao, J.K. & Liu, B. (2011). Polygonatum cyrtonema lectin, a potential antineoplastic drug targeting programmed cell death pathways. *Biochemical and biophysical research communications*, 406(4), 497-500. Obtenido de:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0006291X11002415>

ANEXOS

Anexo N°1 Consentimiento Informado.



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: Evaluación de la actividad biológica de lectinas obtenidas a partir de *Amaranthus caudatus* (Amaranto) y *Lupinus mutabilis* (Chocho)

Fecha: 03 de septiembre de 2020.

Yo, Pablo Espinayau Espinayau con C.I. 175720277-3 con participé de manera consiente y voluntaria en el proyecto de investigación mencionado, reconozco que fui INFORMADO de forma clara, sencilla sobre los riesgos y beneficios de someterme a la toma de muestra de sangre en su momento.

Se me indicó que, bajo medidas de asepsia y antisepsia, se me iba a realizar 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, recibí información sobre los riesgos que conllevaba este procedimiento entre los cuales estaban un leve sangrado, presencia posterior de hematomas, posibilidad de una nueva punción en caso de que se presentare una difícil extracción, este procedimiento tuvo la finalidad de extraer sangre que fue usada para la realización de pruebas de laboratorio relacionadas con el proyecto arriba señalado, por este motivo firmo este consentimiento informado por mi libre voluntad.

Firma.



CONSENTIMIENTO INFORMADO

Proyecto de investigación: Evaluación de la actividad biológica de lectinas obtenidas a partir de *Amaranthus caudatus* (Amaranto) y *Lupinus mutabilis* (Chocho)

Fecha: 03 de septiembre de 2020.

Yo, Lissa Caudina González R. con C.I. 175870692-1 con participé de manera consiente y voluntaria en el proyecto de investigación mencionado, reconozco que fui INFORMADO de forma clara, sencilla sobre los riesgos y beneficios de someterme a la toma de muestra de sangre en su momento.

Se me indicó que, bajo medidas de asepsia y antisepsia, se me iba a realizar 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, recibí información sobre los riesgos que conllevaba este procedimiento entre los cuales estaban un leve sangrado, presencia posterior de hematomas, posibilidad de una nueva punción en caso de que se presentare una difícil extracción, este procedimiento tuvo la finalidad de extraer sangre que fue usada para la realización de pruebas de laboratorio relacionadas con el proyecto arriba señalado, por este motivo firmo este consentimiento informado por mi libre voluntad.

Firma.

A handwritten signature in blue ink, appearing to be "Lissa Caudina González R.", written over a horizontal line.



CONSENTIMIENTO INFORMADO

Proyecto de investigación: Evaluación de la actividad biológica de lectinas obtenidas a partir de *Amaranthus caudatus* (Amaranto) y *Lupinus mutabilis* (Chocho)

Fecha: 03 de septiembre de 2020.

Yo, María Eugenia Lucena de Ustari con C.I. 175849455-1 con participé de manera consiente y voluntaria en el proyecto de investigación mencionado, reconozco que fui INFORMADO de forma clara, sencilla y adecuada a la toma de muestra de sangre en su momento.

Se me indicó que, bajo medidas de asepsia y antisepsia, se me iba a realizar 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, recibí información sobre los riesgos que conllevaba este procedimiento entre los cuales estaban un leve sangrado, presencia posterior de hematomas, posibilidad de una nueva punción en caso de que se presentare una difícil extracción, este procedimiento tuvo la finalidad de extraer sangre que fue usada para la realización de pruebas de laboratorio relacionadas con el proyecto arriba señalado, por este motivo firmo este consentimiento informado por mi libre voluntad.

Firma.

María Eugenia Lucena de Ustari



CONSENTIMIENTO INFORMADO

Proyecto de investigación: Evaluación de la actividad biológica de lectinas obtenidas a partir de *Amaranthus caudatus* (Amaranto) y *Lupinus mutabilis* (Chocho)

Fecha: 03 de septiembre de 2020.

Yo, Francisco Javier Hstaiz Fajardo con C.I. 1759279407 con participé de manera consiente y voluntaria en el proyecto de investigación mencionado, reconozco que fui INFORMADO de forma clara, sencilla sobre los riesgos y beneficios de someterme a la toma de muestra de sangre en su momento.

Se me indicó que, bajo medidas de asepsia y antisepsia, se me iba a realizar 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, recibí información sobre los riesgos que conllevaba este procedimiento entre los cuales estaban un leve sangrado, presencia posterior de hematomas, posibilidad de una nueva punción en caso de que se presentare una difícil extracción, este procedimiento tuvo la finalidad de extraer sangre que fue usada para la realización de pruebas de laboratorio relacionadas con el proyecto arriba señalado, por este motivo firmo este consentimiento informado por mi libre voluntad.

Firma.


Anexo N°2: Selección de granos andinos (amaranto y chocho)



Anexo N°3: Obtención de extractos mediante disrupción mecánica con mortero



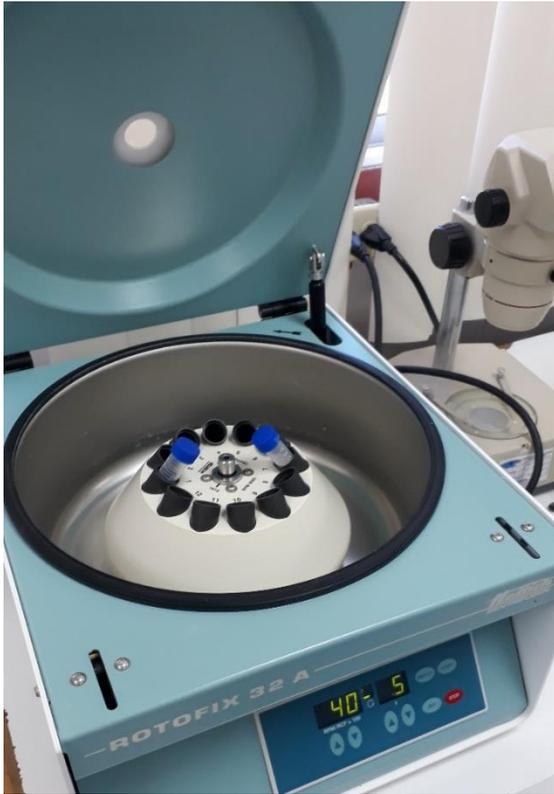
Anexo: 4: Obtención de extractos acuosos añadiendo solución salina fisiológica.



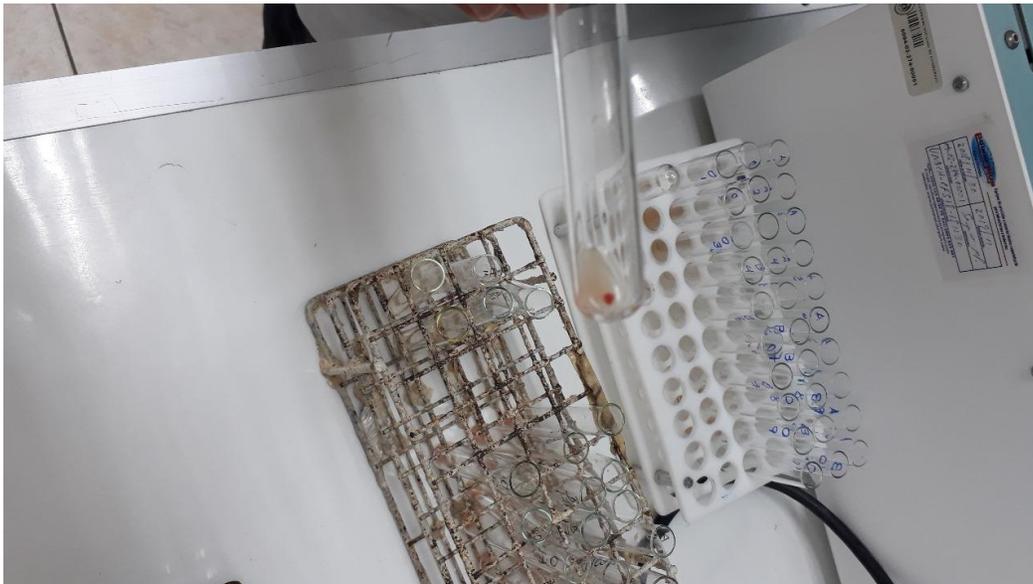
Anexo N°5: Almacenamiento de extractos acuosos



Anexo N°6: Centrifugación y almacenamiento de los extractos acuosos en tubos de eppendorf



Anexo N°7: Resultado de la acción hemoaglutinante



Anexo N°8: Reunión mediante zoom con el Tutor Dr. Pablo Djabayan Djibeyan, PhD y el estudiante Mauricio Ulloa presidente del Semillero de investigación de la Universidad Nacional de Chimborazo para tutorías y revisión de proyecto de investigación.

