



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 hemoaglutininas del tomate de árbol (*Solanum betaceum*) y
babaco (*Vasconcellea pentagona*). Riobamba, 2020”

AUTOR(ES):

Ulloa Grijalva Santiago Mauricio
Silva Jara Fabricio Aníbal

TUTOR:

PhD. Pablo Djabayan Djibeyan

RIOBAMBA – ECUADOR

2020

ACEPTACIÓN DEL TRIBUNAL

Mediante la presente los miembros del TRIBUNAL DE GRADUACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN con título: “**Actividad biológica de hemoaglutininas del tomate de árbol (*Solanum betaceum*) y babaco (*Vasconcellea pentagona*). Riobamba, 2020**”, realizado por las estudiantes Ulloa Grijalva Santiago Mauricio y Silva Jara Fabricio Aníbal; dirigido por el Dr. Pablo Djabayan Djibeyan. Una vez escuchada la defensa oral y revisado el informe final del proyecto de investigación con fines de graduación en el cual se ha constatado el cumplimiento de las observaciones realizadas, remite la presente para uso y custodia en la biblioteca de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de Chimborazo.

Para constancia de lo expuesto firman:

Dr. Patricio Vásquez Andrade

PRESIDENTE DELEGADO DEL DECANO

FIRMA

Dr. Carlos Valarezo García

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

FIRMA

Dr. Guillermo Valdivia Salinas

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

FIRMA

Dr. Pablo Djabayan Djibeyan

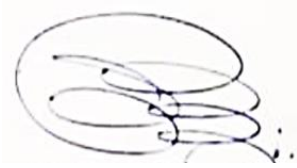
TUTOR

FIRMA

CERTIFICADO

Yo, Pablo Djabayan Djibeyan, con CI: 1757202773, en calidad de tutor del proyecto de investigación titulado: “Actividad biológica de hemoaglutininas del tomate de árbol (*Solanum betaceum*) y babaco (*Vasconcellea pentagona*). Riobamba, 2020”, propuesto por las estudiantes Ulloa Grijalva Santiago Mauricio y Silva Jara Fabricio Aníbal; de la Carrera de Medicina de la Facultad de Ciencias de la Salud, luego de haber revisado su trabajo y realizadas las pertinentes correcciones, **CERTIFICO** que se encuentra apto para la defensa pública.

Atentamente:

A handwritten signature in blue ink, consisting of several overlapping loops and a final flourish.

Dr. Pablo Djabayan Djibeyan, PhD

CI: 1757202773

AUTORIA

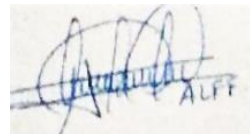
Nosotros, Ulloa Grijalva Santiago Mauricio con CI: 180393749-7 y Silva Jara Fabricio Aníbal con CI: 160074163-9, autores del presente trabajo de investigación titulado “Actividad biológica de hemoaglutininas del tomate de árbol (*Solanum betaceum*) y babaco (*Vasconcellea pentagona*). Riobamba, 2020”, declaramos que el contenido basado en las ideas, expresiones, pensamientos y concepciones tomados de varios autores se han previamente interpretado y analizado para enriquecer el estado del arte, resultados, conclusiones y recomendaciones que son absolutamente de nuestra autoría.

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

Atentamente:



Ulloa Grijalva Santiago Mauricio
CI: 180393749-7



Silva Jara Fabricio Aníbal
CI: 160074163-9

DEDICATORIA

Dedico con todo mi corazón esta tesis a mi amado Dios quien siempre estuvo conmigo y jamás me dejó solo quien siempre fue mi protector cuando más lo necesite, a mi querida madre Fátima ya que con su amor, su bendición, sacrificio y dedicación supo apoyarme incondicionalmente junto a mis tíos Juddy, Vicente y mi padre Luis quienes supieron inculcarme en mí un ejemplo de humildad, responsabilidad, sacrificio en cada etapa de mi vida, a mi querida novia Viviana por haber estado ahí y ayudarme a llegar a concluir este tan anhelado sueño, por ese motivo les doy mi trabajo en ofrenda a su paciencia y amor que cada uno de ustedes tuvo.

Santiago Mauricio Ulloa Grijalva

Dedico esta tesis con todo mi corazón a mis queridos padres Abelino y Lucía que con todo su amor fraternal dedicaron todo su tiempo para alcanzar todas mis metas propuestas. Además, por sembrar en mí, valores de suma importancia para guiarme en el transcurso de mi camino. A mi hermano Franklin pues él fue el principal cimiento para la construcción de mi vida profesional por su apoyo incondicional en todos los ámbitos durante mis estudios. A mi abuelo Pastor por su ejemplo a seguir, y a mi gran amigo Jorge el cual me compartió conocimiento y sabiduría para guiarme por el buen camino de la vida.

Fabricio Aníbal Silva Jara

AGRADECIMIENTO

El amor recibido, la dedicación y la paciencia con la que cada día una madre y un padre velan por el avance y desarrollo de un hijo, es simplemente único, y se refleja en la vida y el progreso de éste. Gracias a mi Dios por la vida de mis padres, de mis tíos y las personas que forman parte día a día de mi vivir, gracias por haberme permitido conocer el perdón, la humildad y sobre todo enseñarme a tener muchísima fe.

Gracias a mi madre por ser la principal promotora de mis sueños, gracias porque cada día confió y creyó en mí, gracias a mis tíos Juddy y Vicente por acompañarme en cada larga y agotadora noche, a mi padre por sus extensos consejos y por cada una de sus bendiciones, a mi querida novia Viviana por haber llegado en una etapa importante, por siempre darme esa fuerza e inmenso amor para continuar sin rendirme en mi vida.

Al Doctor Pablo Djabayan Djibeyan por todo el apoyo incondicional durante todo el desarrollo del proyecto, su personalidad y carisma resalta el ejemplo de un excelente persona y profesional, por otra parte, quiero agradecerle a mi querida Universidad Nacional de Chimborazo quien fue siempre como un segundo hogar la llevare siempre en mi corazón, a cada uno de mis Docentes y amigos siempre los recordare. Finalmente quiero agradecer a la vida por este nuevo triunfo, gracias a todas las personas que me apoyaron y creyeron en la realización de esta tesis.

Santiago Mauricio Ulloa Grijalva.

Primeramente, agradecer a Jehová Dios por la vida que me dio, por las bendiciones que derramo día a día, por escuchar de mis oraciones en cada momento y darme el conocimiento y la sabiduría necesaria para tomar buenas decisiones. A mis padres por todo el amor, esfuerzo y sacrificio brindado en el transcurso de cada ámbito de mi vida, a mi hermano por ser el pilar fundamental para mi formación académica y ser parte de esta linda aventura que con ellos lo disfrutamos momentos inolvidables. A mi abuelo que me dejó un gran legado y un ejemplo a seguir. Al Doctor Pablo Djabayan Djibeyan por su apoyo incondicional y ser el principal guía en la estructuración del proyecto, por enseñarnos cualidades que debemos cultivar en el transcurso de la vida. A mi compañero Mauricio por el apoyo brindado desde el inicio de la carrera y ser parte de este viaje que lo batallamos en cada momento. A mi noble Universidad por abrirme sus puertas y brindarme la oportunidad del maravilloso mundo del saber.

Fabricio Aníbal Silva Jara

ÍNDICE GENERAL

| | |
|--|--------|
| CERTIFICADO | II |
| AUTORIA..... | III |
| DEDICATORIA..... | IV |
| AGRADECIMIENTO | V |
| RESUMEN | VIII |
| ABSTRACT..... | IX |
| INTRODUCCIÓN..... | - 1 - |
| PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA | - 2 - |
| JUSTIFICACIÓN..... | - 4 - |
| OBJETIVOS | - 6 - |
| GENERAL | - 6 - |
| ESPECIFICOS | - 6 - |
| CAPITULO I..... | - 7 - |
| 1. MARCO TEORICO | - 7 - |
| 1.1 Antecedentes Investigativos | - 7 - |
| 1.2 Definición | - 7 - |
| 1.3 Funciones | - 8 - |
| 1.4 Estructura Química | - 8 - |
| 1.5 Actividades biológicas | - 9 - |
| 1.6 Tomate de árbol (<i>Solanum betaceum</i>) | - 11 - |
| 1.7 Babaco (<i>Vasconcellea pentagona</i>) | - 12 - |
| CAPITULO II | - 14 - |
| 2. METODOLOGÍA | - 14 - |
| 2.1 Tipo de estudio | - 14 - |
| 2.2 Población | - 14 - |
| 2.3 Muestra | - 14 - |
| 2.4 Variables de estudio | - 14 - |
| 2.5 Método de estudio | - 14 - |
| 2.6 Operacionalización de las variables: | - 15 - |

| | | |
|----------------------|---|--------|
| 2.7 | Materiales, Equipos e Instalaciones | - 15 - |
| 2.8 | Técnicas y procedimientos | - 16 - |
| 2.9 | Procesamiento estadístico | - 21 - |
| 2.10 | Consideraciones éticas | - 21 - |
| 2.11 | Consentimiento informado | - 21 - |
| CAPITULO III | | - 22 - |
| 3. | RESULTADOS Y DISCUSIÓN | - 22 - |
| 3.1 | RESULTADOS | - 22 - |
| 3.2 | DISCUSIÓN | - 25 - |
| RECOMENDACIONES..... | | - 28 - |
| BIBLIOGRAFIA..... | | - 29 - |
| ANEXOS | | - 32 - |
| | Anexo N° 1: Consentimientos Informados | - 32 - |
| | Anexo N° 2: Elección de las frutas: tomate de árbol (<i>Solanum betaceum</i>) y babaco (<i>Vasconcellea pentagona</i>) | - 38 - |
| | Anexo N° 3: Obtención de los extractos de semillas de <i>Solanum betaceum</i> y <i>Vasconcellea pentagona</i> | - 38 - |
| | Anexo N° 4: Almacenamiento de los extractos de semillas de <i>Solanum betaceum</i> y <i>Vasconcellea pentagona</i> | - 39 - |
| | Anexo N° 5: Centrifugación y almacenamiento de los extractos de semillas de tomate de árbol y babaco | - 39 - |
| | Anexo N° 6: Resultados de la actividad biológica de las lectinas de las semillas de los extractos de <i>Solanum betaceum</i> y <i>Vasconcellea pentagona</i> | - 40 - |

RESUMEN

El objetivo principal fue establecer la actividad biológica de las hemoaglutininas obtenidas a partir de las semillas del tomate de árbol (*Solanum betaceum*) y babaco (*Vasconcellea pentagona*), en Riobamba, se obtuvieron lectinas de los extractos acuosos a través de disrupción mecánica, se añadió 15mL de Solución salina fisiológica (SSF), para luego filtrar a través de un tejido de nylon, para eliminar las partículas microscópicas se utilizó la centrifuga convencional, posteriormente se sometió a congelación a -20°C hasta realizar los ensayos. La actividad biológica de las hemoaglutininas se realizó evaluando en los extractos acuosos, la actividad hemocoagulante con 0.1mL de suspensión de eritrocitos del sistema ABO, la actividad anticoagulante se demostró mediante la inhibición o el alargamiento del Tiempo de Protrombina (TP) y Tiempo de Tromboplastina activado (TTPa) sobre el plasma pobre en plaquetas y por último la actividad antibacteriana se realizó con método de difusión agar, sobre las cepas *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis* ATCC. Los resultados de la hemoaglutinación demostraron una alta capacidad por parte de *Solanum betaceum* para aglutinar a los eritrocitos de los grupos sanguíneos A, B y O, en cuanto a la actividad anticoagulante no se evidenció ningún efecto sobre las proteínas de la coagulación de la vía extrínseca medida por el TP, sin embargo, lo contrario sucedió en la vía intrínseca medida por el TTPa, revelando una prolongación significativa en el extracto *Solanum betaceum*, por último se observó actividad antibacteriana por parte del extracto *Vasconcellea pentagona* frente a las tres cepas mencionadas.

Palabras claves:

Hemoaglutininas, Lectinas, Semillas de frutas, Actividad Biológica, Actividad Hemoaglutinante, Actividad Antimicrobiana, Actividad Anticoagulante.

ABSTRACT

The main objective was to establish the biological activity of the hemagglutinins obtained from the seeds of the tomato tree (*Solanum betaceum*) and babaco (*Vasconcellea pentagona*), in Riobamba, lectins were obtained from the aqueous extracts through mechanical disruption, it was added 15mL of physiological saline solution (SSF), to then filter through a nylon fabric, to eliminate the microscopic particles, the conventional centrifuge was used, later it was subjected to freezing at -20 ° C until the tests were carried out. The biological activity of hemagglutinins was performed by evaluating in the aqueous extracts, the hemocoagulant activity with 0.1mL of suspension of erythrocytes of the ABO system, the anticoagulant activity was demonstrated by means of the inhibition or the lengthening of the Prothrombin Time (PT) and Thromboplastin Time activated (aPTT) on platelet-poor plasma and finally the antibacterial activity was performed with the agar diffusion method, on the *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus faecalis* ATCC strains. The results of the hemagglutination demonstrated a high capacity of *Solanum betaceum* to agglutinate the erythrocytes of blood groups A, B and O, in terms of anticoagulant activity, no effect was evidenced on coagulation proteins of the extrinsic pathway measured by the PT, however, the opposite happened in the intrinsic pathway measured by the aPTT, revealing a significant prolongation in the *Solanum betaceum* extract, lastly, antibacterial activity was observed by the *Vasconcellea pentagona* extract against the three strains mentioned

Keywords:

Hemagglutinins, Lectins, Fruit seeds, Biological Activity, Hemagglutin Activity, Antimicrobial Activity, Anticoagulant Activity.

INTRODUCCIÓN

Tanto la medicina convencional como la medicina tradicional constituyen actualmente un pilar importante de conocimientos aplicados a la prevención, diagnóstico y tratamiento de las enfermedades tanto físicas como mentales, conocimientos que son transmitidas de generación en generación y totalmente aceptadas por la población. (Villar & Ballinas, 2016) El Modelo de Atención Integral del Sistema Nacional de Salud del Ecuador, insiste en la integración entre las dos ciencias, por las múltiples aplicaciones terapéuticas que abarca. (Yanchaguano Taco & Francisco Pérez, 2019)

El gran aporte nutricional proveniente de frutas y plantas comestibles, así como otras funciones como la actividad antioxidante ha sido ampliamente reconocido, sin embargo, las lectinas presentes en esos alimentos constituyen un grupo de proteínas de origen no inmune, que poseen diversas funciones biológicas, se ha evidenciado la actividad citotóxica, antiviral, antibacteriana, antifúngica, así como actividad inmunomoduladora. (González, Caso, & González, 2011)

La Organización Mundial de la Salud (OMS) reconoce a la resistencia antimicrobiana como una de las amenazas más grandes para la salud, el panorama clínico hoy en día es desalentador por el mal uso de antibióticos, por tal motivo la importancia de estudiar las diversas actividades biológicas que poseen las lectinas radica en desarrollar nuevas estrategias que ayuden a enfrentar problemas de salud y crear alternativas como tratamiento. (Vázquez Luna & Rivadeneyra Domínguez, 2012)

La actividad biológica presente en las hemoaglutininas (lectinas) que podrían encontrarse en las semillas de frutas de nuestro entorno puede ser de gran beneficio terapéutico para tratar patologías y enfrentar problemas de salud en nuestro medio, por ellos consideramos de vital importancia determinar su actividad antimicrobiana, anticoagulante y hemoaglutinante.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Actualmente no existen suficientes estudios sobre las hemoaglutininas o lectinas presentes en semillas de frutas, por tal motivo nos hemos planteado abarcar este tema, con la finalidad de conocer la actividad biológica de las lectinas, para esta investigación decidimos estudiar las semillas del tomate de árbol y del babaco, frutos apetecidos por nuestra población. (Marquéz, Otero, & Cortés, 2007). El cultivo de estos frutos se realiza principalmente en la región Andina y son altamente consumidos por los múltiples beneficios que ofrecen, mejorando la salud o reduciendo el riesgo de padecer enfermedades. (Ortega, 2018)

Las hemoaglutininas o también denominadas lectinas, son un grupo heterogéneo de glicoproteínas que tiene afinidad con los carbohidratos de la superficie celular, motivo por el cual juegan un papel importante en varios procesos intercelulares. Son un grupo de proteínas, que, generalmente no provocan daño al ser humano, sino más bien, brindan beneficios a la salud, debido a las diversas actividades biológicas que poseen, entre las cuales destaca la propiedad antibacteriana frente a diversas enfermedades infecciosas, (González, Caso, & González, 2011) por otro lado se demuestra la acción hemoaglutinante frente a los tres grupos sanguíneos, estudio realizado en el achotillo y la uvilla, frutas exóticas autóctonas de nuestro entorno. (Naspud & Castro, 2020)

El uso irracional e indebido de los antibióticos ha generado múltiples problemas, entre los cuales destaca la resistencia antibacteriana, lo que resulta preocupante, convirtiéndose en un problema de salud pública a nivel mundial, por otro lado, estimula a la investigación y búsqueda de nuevas fuentes de compuestos naturales que ayuden a enfrentar esta problemática y sirvan de alternativa para los tratamientos de ciertas patologías. (Torres & Salazar, 2018)

En esta investigación nos planteamos determinar la actividad biológica presente en los compuestos bioactivos de las semillas de frutas seleccionadas, por tal motivo consideramos de gran interés conocer y profundizar en el estudio de las lectinas, biomoléculas prometedoras por la acción biológico-funcional que poseen.

En tal sentido, planteamos la siguiente interrogante ¿Las hemoaglutininas de las semillas de las frutas seleccionadas, poseen actividad anticoagulante, hemoaglutinante y antimicrobiana?

JUSTIFICACIÓN

Desde siempre, las personas han recurrido a la naturaleza para curar o aliviar enfermedades; la incorporación de la medicina tradicional en América Latina ha ido en ascenso y representa una opción, tanto que la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización Panamericana de la Salud (OPS) han manifestado su apoyo para articularla a las distintas formas de atención médica, enfocados principalmente en la atención primaria de salud, sin embargo no existe igualdad en los criterios emitidos sobre su conceptualización. (Nigenda & Mora, 2001)

Se estima que el 80% de la población a nivel mundial acude a la medicina Tradicional, por ello la ciencia moderna se direcciona hacia la transformación del conocimiento tradicional en científico. (Prieto, Garrido, González, & Molina, 2004) Ecuador es un país con una gran biodiversidad, por ello se crearon políticas que buscan fortalecer y consolidar la salud intercultural; en un estudio realizado en nuestro país se evidenció que el propósito del uso de las plantas, frutos y semillas es de un 91,1% para la curación y apenas el 3% para la prevención, es decir existe un alto consumo con fines terapéuticos, estas prácticas se deben a un comportamiento cultural que hace que las plantas medicinales se utilicen con frecuencia, con ello se convierte en un punto de partida para hallar nuevas estrategias con el fin de conservar la salud. (Gallegos Zurita, 2016)

La población de la Provincia de Chimborazo en su gran mayoría pertenece a las comunidades indígenas, quienes viven en condiciones precarias, lo que los hace susceptibles a diversas patologías parasitarias, micóticas y dermatológicas, entre otras. (Vivanco & Montalvo, 2013) Sin embargo, existe un fallo terapéutico al tratamiento empírico debido a la alta resistencia antibacteriana por el uso indebido de los mismos, es por ellos que consideramos necesario e importante investigar nuevas fuentes de compuestos activos que ayuden a tratar ciertas enfermedades que se dan con frecuencia en nuestro medio.

Las frutas estudiadas son de alto consumo por nuestra población, debido al gran aporte nutricional que ofrecen, estudios corroboran la presencia de una barrera bioquímica de resguardo frente a agentes patógenos, y uno de los mecanismos de defensa es gracias a la presencia de varios compuestos fitoquímicos entre los cuales se encuentran las lectinas, estos compuestos se ubican principalmente en las hojas, tallos, frutos, cereales, cáscaras,

pulpas y semillas de frutas, sin duda alguna, la actividad biológica más estudiada es la actividad antimicrobiana y antifúngica, sin embargo la literatura reconoce la capacidad de aglutinar eritrocitos por lo cual también se le denomina hemoaglutininas, adicionalmente, realizada la revisión de la literatura científica en este campo, poca información se consigue en cuanto a la actividad anticoagulante de estos compuestos fitoquímicos, su estudio es de gran importancia por su potencial como agentes terapéuticos de origen biológico para prevenir y retardar manifestaciones clínicas. (Vázquez Luna & Rivadeneyra Domínguez, 2012) Por tal motivo, hemos considerado investigar la actividad biológica de las hemoaglutininas del Tomate de árbol (*Solanum betaceum*) y Babaco (*Vasconcellea pentagona*), presentes en las semillas de estas frutas consumidas en la ciudad de Riobamba.

OBJETIVOS

GENERAL

- Establecer la actividad biológica de las hemoaglutininas o lectinas obtenidas a partir de las semillas del tomate de árbol (*Solanum betaceum*) y babaco (*Vasconcellea pentagona*), en Riobamba.

ESPECIFICOS

- Extraer las lectinas presentes en las semillas de los frutos tomate de árbol (*Solanum betaceum*) y babaco (*Vasconcellea pentagona*).
- Demostrar la capacidad hemoaglutinante y anticoagulante de las lectinas obtenidas a partir de los extractos de las semillas de las frutas seleccionadas.
- Establecer la actividad antibacteriana de las lectinas presentes en las semillas de las frutas en estudio, frente a las cepas de bacterias gram positivas y gram negativas ATCC, teniendo como control positivo a los antibióticos Amikacina y Ciprofloxacina.

CAPITULO I

1. MARCO TEORICO

1.1 Antecedentes Investigativos

Hermann Stillmark en el año de 1888, obtuvo el extracto de semillas de ricino (*Ricinus communis*), en el cual identificó la presencia de una proteína con la capacidad de aglutinar glóbulos rojos, este descubrimiento marcó un precedente para la biología. Posteriormente se describieron un sin número de proteínas similares en semillas, cortezas y leguminosas. (Cáceres-Huambo, 2017)

En 1898, M. Elfstand introdujo por primera vez el término hemaglutininas, a las proteínas con actividad citotóxicas y hemoaglutinantes, por otro lado, en 1907, K. Landsteiner y H. Raubitschek descartaron la propiedad de toxicidad al estudiar a las semillas de alubia (*Phaseolus vulgaris*), lenteja (*Len culinaris*) y guisante (*Pisum sativum*) encontrando la caracterización de hemaglutininas inocuas. (Vázquez Luna & Rivadeneira Domínguez, 2012)

Durante varios años se continuó investigando actividad biológica en diferentes semillas, es así que, en 1936, J. B. Sumner y S. Howell evidenciaron la capacidad para aglutinar al unirse con azúcares de la superficie de glóbulos rojos, esto se aisló en semillas de *Canavalia ensiformis*. Sin embargo, en el año de 1948 y 1949, Renkonen y Boyd, demostraron la afinidad de ciertas hemaglutininas de leguminosa, para aglutinar eritrocitos humanos de determinados grupos sanguíneos del sistema ABO, esto motivó a establecer un nuevo término “lectina”, proveniente del latín “eligere”, que significa escoger, desde entonces se han venido identificando múltiples lectinas con actividad biológica diversa. (Sol, Nagano, & Cavada, 2006)

1.2 Definición

Las lectinas son un grupo de proteínas que tienen alta capacidad para fijarse de manera reversible a los hidratos de carbono que se encuentran en la superficie de las células, con una alta especificidad, se encuentran distribuidas en la naturaleza y poseen diversas funciones biológicas. Según la procedencia pueden ser zoolectinas si provienen de animales, fitolectinas si su origen es de plantas, y recientemente se introdujo un tercer grupo, el de las bacteriolectinas. Hoy en día se conoce la presencia de lectinas con

receptores en virus, bacterias y parásitos, pero sin duda alguna, son hemoaglutinantes de células y eritrocitos por excelencia. (Ranea, Rico, & Gurni, 2007)

1.3 Funciones

Dentro de las principales funciones se encuentran:

- Defender contra microorganismos patógenos, por la acción de los receptores tipo lectínicos que se encuentran en los macrófagos, con lo que se facilita su adhesión a la partícula para fagocitarla.
- Reconocer azúcares de la superficie celular de diferentes células a las cuales se fijan con el fin de desarrollar su ciclo biológico.
- Inducir la mitosis de los linfocitos T y B, la síntesis y secreción de citoquinas.
- Fijar y favorecer la pinocitosis a nivel hepático, entre otras muchas funciones identificadas en varias lectinas identificadas en el ser humano.
- Aglutinar eritrocitos y diversas células como es el caso de los linfocitos, plaquetas, bacterias y espermatozoides.
- Interactuar con los virus y producir una acción citotóxica. (González, Caso, & González, 2011)

1.4 Estructura Química

Las lectinas se encuentran constituidas por cadenas polipeptídicas, están formadas por aminoácidos que tienen alto contenido de ácido glutámico, ácido aspártico, glicina, serina y asparagina, según el número de cadenas y de acuerdo con su forma, se clasifican en: diméricas, tetraméricas, octoméricas y decaméricas. En la figura 1 se muestra los posibles sitios de unión a carbohidratos. (Vázquez Luna & Rivadeneyra Domínguez, 2012)

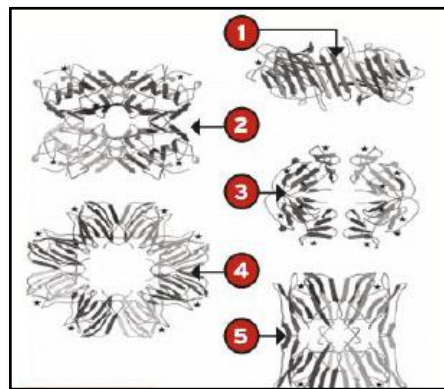


Figura 1. Organización oligomérica de diferentes lectinas.

1 Diméricas, 2 y 3 Tetraméricas, 4 Octoméricas y 5 Decaméricas.

Tomado de: (Vázquez Luna & Rivadeneyra Domínguez, 2012)

Cada lectina puede tener uno o varios sitios de enlaces a carbohidratos, por lo consiguiente tiene la capacidad de reconocer hasta diez carbohidratos diferentes, tales como D-Glucosa, D-Manosa, D-Galactosa, D-Fucosa, D-Xilosa, D-Glucosamina, D-Galactosamina, N-acetil-D-glucosamina y N-acetil-D-galactosamina. (Cáceres-Huambo, 2017)

1.5 Actividades biológicas

Las hemoaglutininas son biomoléculas que se encuentran en las frutas y plantas comestibles, poseen diversas aplicaciones y beneficios para la salud, entre las cuales tenemos:

- **Actividad antiviral.-** Las fitoaglutininas poseen propiedades antivirales que atacan a virus que invaden a las plantas, afirmación obtenida de varios estudios que avalan esta actividad, recientemente se propuso que aquellas lectinas que se encuentran en el suero y en el fluido de los pulmones, pueden contribuir a identificar y destruir el virus de la influenza. Otro estudio que revela la literatura fue realizado en las lectinas presentes en el plátano *Mussa acuminata*, que reveló actividad inhibitoria del virus de VIH-1. (Vázquez Luna & Rivadeneyra Domínguez, 2012)

Las lectinas presentes en los virus se utilizan para producir vacunas antivirales, por la capacidad de reconocimiento viral y bloqueo del virus, por otro lado, se ha descrito el uso de una lectina con capacidad de inhibir la transcriptasa inversa, lo que representa un arma potencial contra los retrovirus, incluso el virus del SIDA. (González, Caso, & González, 2011)

- **Actividad antibacteriana.-** Esta propiedad la confieren las lectinas al reconocer los diferentes carbohidratos presentes en la superficie celular de los agentes patógenos, de tal manera inhiben el crecimiento bacteriano o fúngico. Se realizó un estudio de inhibición del crecimiento *Escherichia coli*, comprobándose que la bacteria puede ser inhibida por la bactereocina, producida por las *Pseudomonas*. La bactereocina es una nueva proteína que tiene actividad antibacterial por la homologación de las lectinas con la manosa. (Mendoza, 2007)

- **Actividad antiparasitaria.-** La literatura menciona varios estudios en los que se evidencia esta propiedad, es así que Garred y sus colaboradores identificaron la inhibición para el género *Plasmodium*, debido a la unión lectina-manosa. (Vázquez Luna & Rivadeneyra Domínguez, 2012). Por otro lado se observó que el extracto de las hojas y cáscara de mango provocaron inhibición de *S. Epidermitis* y *E.coli*. (Pool, 2008)

- **Actividad anticancerígena.-** El estudio de las lectina ha jugado un papel importante en el campo de la quimioterapia en la lucha contra el cáncer. Varios estudios *in vivo* e *in vitro* en donde se usaron lectinas de plantas, demostraron tener actividad antitumoral y actividad anticarcinogénica, ya que se evidenció que disminuyen el crecimiento de células tumorales al causar hemoaglutinación y poseer efectos citotóxicos, además actúan como marcadores en la superficie celular por la capacidad de reconocer a células anticancerígenas y la posterior apoptosis. (Vázquez Luna & Rivadeneyra Domínguez, 2012)

- **Actividad hemoaglutinante.-** Fue la primera característica descubierta de las hemoaglutininas, interactúan con las membranas celulares de eritrocitos, provocando una reacción de aglutinación, van a ser inhibidas por azúcares monosacáridos, tal es el caso que cuando es específica para el eritrocito del grupo sanguíneo tipo A, es inhibida por la N-acetil D galactosamina, el tipo O es inhibida por la L-fucosa, y para el eritrocito del grupos sanguíneo tipo B es inhibida por la D-galactosa. (Hernández, 1999)

- **Actividad anticoagulante.-** Se estudió la presencia de lectinas en los extractos de 14 especies de algas marinas recolectadas en Túnez y Venezuela, la principal característica identificada fue la capacidad anticoagulante. (Blunden, Rogers, & B., 1991) Por otro lado, en el 2008 se investigó las propiedades de la piña, cebolla y ajo, confirmando la actividad anticoagulante que poseen, sin embargo, el mecanismo no se conoce claramente. (Torres, Guamán, Moore, & Palomo, 2008)

1.6 Tomate de árbol (*Solanum betaceum*)



Figura 2. Tomate de árbol.

Tomado de: iStock

En 1995 se estableció el nombre científico del tomate de árbol como *Solanum betaceum*, fruto nativo de la región andina, principalmente de Ecuador, Perú y Colombia. Es una fruta semiácida, de forma oval, cubierto por una gruesa cáscara, lisa, brillante, con sabor amargo, interiormente la pulpa varía de tonos, entre ellos están el color naranja, rojo y amarillo y presenta, más de 200 semillas pequeñas comestibles. (Ortega, 2018)

| | |
|---------------|-----------------|
| REINO | Vegetal |
| DIVISIÓN | Antofita |
| CLASE | Dicotiledónea |
| SUBCLASE | Simpétalas |
| ORDEN | Tubiflorales |
| FAMILIA | Solanácea |
| GÉNERO | <i>Solanum</i> |
| ESPECIE | <i>Betaceum</i> |
| NOMBRE VULGAR | Tomate de árbol |

Tabla 1. Clasificación taxonómica del tomate de árbol

Tomado de: (Bernal Estrada & Lobo, 1988)

El tomate de árbol se desarrolla a una temperatura entre 14 a 20 °C, a una altura comprendida entre los 600 a 3.300 metros sobre el nivel del mar (msnm), en la Provincia

de Chimborazo su producción y consumo es alto debido a sus propiedades benéficas, entre las cualidades nutritivas de esta fruta está la acción antioxidante, la presencia de pectinas, flavonoides, entre otros compuestos fitoquímicos. (Carranza Arévalo, 2017)

1.7 Babaco (*Vasconcellea pentagona*).

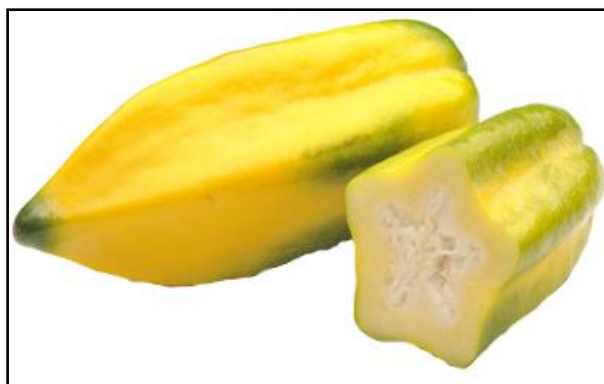


Figura 3. Babaco
Tomado de: (Velazco Rubio, 2018)

El babaco es una fruta comestible de origen Andino, su nombre científico es *Vasconcellea pentagona*, principalmente se cultiva en Ecuador, se considera nativo de la provincia de Loja, los valles de la serranía ofrece las mejores condiciones climáticas para su producción, tiene gran capacidad de tolerar el frío, puede crecer a alturas que sobrepasan los 2.000 msnm, y alcanzar una altura de 5 a 8 metros, es de color verde o amarillo verdoso en su interior, pueden llegar a medir hasta 50 cm de largo, con o sin semillas, con un solo tallo cilíndrico, sólo posee flores femeninas que dan origen a un solo fruto. (Amagua, 2020)

| | |
|----------|---------------------|
| REINO | Plantae |
| DIVISIÓN | Antofita |
| CLASE | Angiospermae |
| SUBCLASE | Magnoliopsida |
| ORDEN | Parietales |
| FAMILIA | Caricaceae |
| GÉNERO | <i>Vasconcellea</i> |

| | |
|---------------|------------------|
| ESPECIE | <i>pentagona</i> |
| NOMBRE VULGAR | Babaco |

Tabla 2. Clasificación taxonómica del babaco
Tomado de: (Velazco Rubio, 2018)

El babaco es considerado una fruta antioxidante, que favorece a la formación del colágeno, contiene grandes cantidades de papaína que facilitan la digestión de proteínas, sin embargo, en relación con nuestro estudio no se ha reportado investigaciones respecto a esta fruta y mucho menos evidencias que demuestren la presencia de lectinas y su actividad biológica. (Velazco Rubio, 2018)

CAPITULO II

2. METODOLOGÍA

2.1 Tipo de estudio

Esta investigación fue de tipo exploratoria, descriptiva, según el diseño es experimental, de secuencia temporal transversal, y de acuerdo con el proceso de investigación es de carácter prospectivo.

2.2 Población

Conformada por las frutas seleccionadas que se comercian en los mercados del cantón Riobamba, entre los cuales están: (Condamine, Santa Rosa, La Merced, San Alfonso, San Francisco y Mayorista).

2.3 Muestra

Se escogieron frutos andinos, autóctonos, comestibles, y se estudiaron dos de ellos de acuerdo con las propiedades que poseen.

2.4 Variables de estudio

En este estudio se utilizó el siguiente sistema de variables:

- Variable dependiente (VD): Acción hemoaglutinante, actividad anticoagulante y antibacteriana.
- Variable independiente (VI): Lectinas presentes en las semillas de las frutas autóctonas seleccionadas.

2.5 Método de estudio

Se utilizó el método empírico, ya que se observó y midió la actividad de hemoaglutinación sobre las células sanguíneas, la acción anticoagulante de los extractos sobre la coagulación sanguínea y finalmente la actividad antibacteriana sobre las bacterias gram positivas y gram negativas.

2.6 Operacionalización de las variables:

| VARIABLES | Acción | Acción | Acción |
|------------------------|---|---|---------------------------------------|
| | Hemoaglutinante | Anticoagulante | Antimicrobiana |
| Tipo | Cualitativa | Cuantitativa | Cuantitativa |
| Escala | Controlada | Controlada | Controlada |
| Indicadores | Aglutina | Medir TP | Sensibilidad |
| | No aglutina | Medir TTP | Resistencia |
| Definición Operacional | Formación de un complejo aglutina células | Inhibición de las proteínas de la coagulación | Impedir la multiplicación bacteriana. |

2.7 Materiales, Equipos e Instalaciones

- Las frutas autóctonas inventariadas en los mercados del Cantón Riobamba
- Eritrocitos de los grupos sanguíneos A, B, O y plasma citrado.
- Bacterias gram negativas (-): *Escherichia coli* ATCC 25922
- Bacterias gram positivas (+): *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212
- Químicos y estándares de alto grado de pureza.
- Centrifuga convencional marca Rotofix 32A Hettich Zentrifugen CD-78532 Tuttlingen - Germany
- Laboratorios de la Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Chimborazo.

2.8 Técnicas y procedimientos

- Se desarrolló un inventario, selección e identificación taxonómica de las frutas autóctonas comestibles expandidas en los mercados del Cantón Riobamba, y se escogió el tomate de árbol (*Solanum betaceum*) y babaco (*Vasconcellea pentagona*).
- Se obtuvieron las lectinas en extractos acuosos por disrupción mecánica en mortero con pistón, al triturar las semillas se incorporó 15mL de Solución salina fisiológica (SSF), para posteriormente filtrar a través de un tejido de nylon fino para eliminar partículas grandes. (Djabayan Djibeyan, 2018)
- Con la utilización de la centrifuga convencional se consiguió eliminar partículas microscópicas, se centrifugó a 6.000 r.p.m. durante 10 minutos, el sobrenadante se recolectó en tubos plásticos cónicos, posteriormente se sometió a congelación a -20°C hasta la realización de los ensayos de actividad biológica.
- Se extrajo de los voluntarios, previo consentimiento informado, 5 mL de sangre de los tres grupos sanguíneos del sistema ABO, cada muestra de sangre fue diluida por separado con 10 mL de SSF en tubos de ensayo, luego se centrifugaron los tubos en una centrifuga convencional ya descrita por 5 minutos y el sobrenadante de cada suspensión fue descartado, se repitió este tres veces para eliminar cualquier interferente presente en el plasma sanguíneo. Seguidamente, 1 mL de cada paquete de eritrocitos lavados fue diluido con 19 mL de SSF, para obtener una suspensión de eritrocitos al 5% aproximadamente.

Estudio de la actividad biológica de las lectinas

1. La acción hemoaglutinante de los extractos acuosos obtenidos de las semillas de las frutas seleccionadas se determinó al mezclar 0.1mL de cada extracto con 0.1mL de cada suspensión eritrocitaria preparada al 5% en tubos de ensayo de vidrio, 13x100, limpios y secos., se agitó delicadamente e incubó durante 10 minutos a temperatura ambiente con el fin de dar espacio a la reacción de unión. Transcurrido el tiempo, los tubos fueron centrifugados a 4.000 r.p.m por 1 min en una centrifuga convencional ya descrita.

Se utilizó el esquema propuesto por Boorman para determinar el grado de aglutinación:

- 4+ muy fuerte aglutinación: Una masa grande y compacta de eritrocitos

- 3+ fuerte aglutinación: Una masa grande y varias masas medianas de eritrocitos aglutinados
- 2+: moderada aglutinación: Múltiples masas pequeñas de eritrocitos aglutinados y células libres
- 1+ débil aglutinación: Una apariencia granular fina de eritrocitos aglutinados
- ½+ muy débil aglutinación: Una apariencia granular muy fina de eritrocitos aglutinados
- 0+ suspensión de eritrocitos no aglutinados. (Boorman, Dodd, & Lincoln, 1977)

2. La actividad anticoagulante de las lectinas presentes en los extractos acuosos obtenidos de las semillas de las frutas seleccionadas se demostró mediante la inhibición o el alargamiento del Tiempo de Protrombina (TP) y/o del Tiempo de Tromboplastina Parcial Activado (TTPa).

- Para ello, se obtuvo de 4 donantes aparentemente sanos, 5 mL de sangre de cada uno de ellos en tubos de ensayo venoject tapa azul que contenían 0,5 mL de citrato de sodio al 3,8%, luego de mezclar bien la sangre con el anticoagulante los tubos de ensayo fueron centrifugados en una centrifuga convencional ya descrita por 15 minutos; el plasma citratado obtenido de cada donante se mezcló en un Erlenmeyer para preparar un pool de plasmas, alíquotas de 1mL del pool de plasmas fueron preparadas en tubos eppendorf y conservadas a 4°C en baño de hielo para su utilización inmediata.
- Tiempo de Protrombina (TP) del Pool de Plasma Citratado: El ensayo (TP) se realizó de acuerdo con las instrucciones del fabricante. 1 mL del reactivo de tromboplastina se incubó en un tubo de ensayo 13 x 75 a 37 °C por 3 minutos. Luego se colocó 0.1 mL del pool de plasma citratado a incubar por 1 minuto, posteriormente se añadió a este tubo de ensayo 0.2 mL del reactivo de tromboplastina D (Pacific Hemostasis®) precalentada, se mezcló cuidadosamente en el baño de maría a 37°C. Al momento de agregar el reactivo se activó el cronometro, pasado 6 segundos se retiró el tubo del baño de maría secándolo y se observó el punto final de la reacción con la aparición de la malla de fibrina deteniendo simultáneamente el cronómetro y se registró el tiempo en segundos. Se evaluó por triplicado.

- TP del Plasma Citratado + el extracto de las especies vegetales seleccionadas: Para establecer el efecto de las fitoaglutininas (lectinas) presentes en los extractos crudos y precipitado/dializados/liofilizados de las frutas seleccionadas sobre las proteínas de la coagulación presentes en el pool de plasma citratado, se aplicó la técnica antes mencionada incluyendo en esta evaluación un tubo de ensayo en el cual se mezclaron 0,1 mL del pool de plasma citratado con 0,1 mL de SSF con la finalidad de corregir el efecto dilución. El valor obtenido para el TP en este ensayo fue tomado como valor control de referencia que sirvió para evaluar el efecto anticoagulante de las fitoaglutininas. La evaluación se realizó por triplicado. La evaluación del efecto anticoagulante de las frutas seleccionados sobre los factores de la coagulación presentes en el plasma citratado se realizó siguiendo lo establecido en la Tabla 3:

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

Tabla 3. Técnica para evaluar el efecto anticoagulante de las fitoaglutininas (Lectinas) presentes en los extractos precipitados y liofilizados obtenidos de las frutas seleccionadas sobre las proteínas de la coagulación de la vía extrínseca.

Tomado de: (Naspud & Castro, 2020)

- Mediante el Tiempo de Tromboplastina Parcial activado (TTPa) del Pool de Plasma Citratado: El ensayo (TTPa) se realizó de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se realizó la mezcla de 0,1mL del reactivo de ATTP-XL (Fosfolípidos) + ácido elágico (Pacific Hemostasis®) se mezcló con 0,1mL del

pool de plasma citratado, la mezcla fue incubada en un tubo de ensayo 13 x 75 a 37 °C en baño de maría por 3 minutos. Simultáneamente, se incubó en un tubo de ensayo una cantidad suficiente de Cloruro de Calcio (CaCl₂) (Pacific Hemostasis Calcium Chloride Solution 0.02 M), transcurrido el tiempo de incubación se agregó al tubo de ensayo que contiene la mezcla de plasma y reactivo 0,1 mL de (CaCl₂) se activó el cronómetro y se mezcló bien por espacio de 19 segundos en baño de maría a 37 °C, pasado los 19 segundos se retiró el tubo del baño de maría secándolo y se observó el punto final de la reacción con la aparición de la malla de fibrina deteniendo simultáneamente el cronómetro y se registró el tiempo en segundos. La evaluación se realizó por triplicado.

- TTPa del Plasma Citratado + el extracto de las especies vegetales seleccionadas: Para establecer el efecto de las fitoaglutininas (lectinas) presentes en los extractos crudos y precipitado/dializados/liofilizados de las frutas seleccionadas sobre las proteínas de la coagulación presentes en el pool de plasma citratado, se aplicó la técnica antes mencionada incluyendo en esta evaluación un tubo de ensayo en el cual se mezclaron 0,1 mL del pool de plasma citratado con 0,1 mL de SSF con la finalidad de corregir el efecto dilución. El valor obtenido para el TTPa en este ensayo fue tomado como valor control de referencia que sirvió para evaluar el efecto anticoagulante de las fitoaglutininas. La evaluación se realizó por triplicado. La evaluación del efecto anticoagulante de las frutas seleccionados sobre los factores de la coagulación presentes en el plasma citratado se realizarán siguiendo lo establecido en la Tabla 4:

| TTPa | x 3 |
|--|---|
| 100 uL de Plasma citratado + 100 uL de ATTP-XL+ ác. elágico (37°C) + 100 uL de CaCl ₂ (37°C) | Tiempo en segundos sin dilución |
| 100 uL de Plasma + 100 uL SSF (37°C) | Tiempo en segundos como valor de referencia control |

| | |
|--|--|
| 100 uL de la mezcla + 100 uL de ATTP-XL+ ác. elágico (37°C) + 100 uL de CaCl ₂ (37°C) | |
| 100 uL de Plasma + 100 uL del extracto de las frutas (37°C) 100 uL de la mezcla 100 uL de ATTP-XL+ ác. elágico (37°C) + 100 uL de CaCl ₂ (37°C) | Tiempo en segundos como valor que 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 frutas seleccionadas sobre las proteínas de la coagulación de la vía intrínseca.

Tomado de: (Naspud & Castro, 2020)

- La actividad antimicrobiana se realizó con método de difusión agar, para lo cual se utilizó la técnica de Kirby Bauer (Bauer, 1966), como ya fue mencionado se utilizaron tres cepas bacterianas (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212), para lo cual se elaboró un inóculo bacteriano de cada cepa pura, con un hisopo de algodón estéril se extrajo la muestra y posteriormente se inoculó en varias direcciones sobre la superficie de la placa con agar Mueller Hinton, se dejó reposar a temperatura ambiente.

Luego con la ayuda de una pinza estéril se colocaron los discos impregnados de los extractos crudos obtenidos de las semillas de las frutas seleccionadas, se incubaron las placas en una estufa a 37°C por 24 horas, transcurrido ese tiempo se realizó la lectura de las placas para constatar la presencia o no de halos de inhibición de crecimiento bacteriano, lo cual permitió determinar la actividad antibacteriana de las lectinas en estudio presentes en los extractos acuosos. (Naspud & Castro, 2020)

2.9 Procesamiento estadístico

Los resultados se presentaron mediante tablas, este trabajo de investigación no requirió de procesamiento estadístico.

2.10 Consideraciones éticas

En el presente proyecto de investigación se evaluó la actividad biológica “*in vitro*” de los extractos acuosos de las frutas autóctonas seleccionadas, por lo cual no involucra la experimentación en seres humanos u otros seres vivos.

2.11 Consentimiento informado

Se brindó información a los participantes sobre el proyecto de investigación para obtener el consentimiento informado de los mismos, debido a la necesidad de extracción de muestras sanguíneas, documentos que se adjuntan en los anexos.

CAPITULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 RESULTADOS

ACCIÓN HEMOAGLUTINANTE

Cuadro N°1: Hemoaglutinación de los extractos obtenidos a partir de las semillas del tomate de árbol (*Solanum betaceum*) y babaco (*Vasconcellea pentagona*).

| EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD HEMOAGLUTINANTE CON GLÓBULOS ROJOS: A, B y O | | | Tiempos de Hemaglutinación 1 H | | | Tiempos de Hemaglutinación 24 H | | |
|---|-----------------|-------------------------------|--------------------------------|---|---|---------------------------------|---|---|
| CÓDIGO | NOMBRE COMÚN | NOMBRE CIENTÍFICO | A | B | O | A | B | O |
| FT39 | BABACO | <i>Vasconcellea pentagona</i> | ½ | ½ | ½ | 1 | 1 | 1 |
| FT21 | TOMATE DE ARBOL | <i>Solanum betaceum</i> | 4 | 4 | 3 | 4 | 4 | 3 |

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

En el Cuadro N°1 se muestran los resultados de la evaluación de la actividad hemoaglutinante de los extractos obtenidos a partir de las semillas de *Vasconcellea pentagona* y *Solanum betaceum*. El extracto FT39 mostró tener actividad aglutinante muy débil para los tres grupos sanguíneos A, B y O a la primera hora, de la misma manera a las 24 horas no mostró cambios significantes, revelando una débil aglutinación para todos los grupos sanguíneos. Lo contrario se observó con el extracto FT21, presentando una muy fuerte actividad aglutinante para el grupo sanguíneo A y B tanto a la primera como a las 24 horas y una fuerte aglutinación para el grupo O tanto a la primera hora como a las 24 horas.

ACCIÓN ANTICOAGULANTE

Cuadro N°2: Tiempo de Protrombina (TP) y Tiempo de Tromboplastina Parcial activado (TTPa) de extractos crudos acuosos obtenidos a partir de las semillas del tomate de árbol (*Solanum betaceum*) y babaco (*Vasconcellea pentagona*).

| ANÁLISIS DE LA ACTIVIDAD ANTICOAGULANTE (TP Y TTPa) | | | Tiempo de Protrombina (TP) Segundos | Tiempo de Tromboplastina Parcial activado (TTPa) Segundos |
|---|--------------------|-----------------------------------|--|--|
| CONTROL 100 uL + PLASMA + 100 uL SSF | | | 15 +/- 1 | 67 +/- 2 |
| CÓDIGO | NOMBRE COMÚN | NOMBRE CIENTÍFICO | | |
| FT39 | BABACO | <i>Vasconcellea pentagona</i> | 14 | 58 |
| FT21 | TOMATE DE ARBOL | <i>Solanum betaceum</i> | 15 | 103 |

En el Cuadro N°2 se exponen los resultados de la acción anticoagulante de los extractos derivados a partir de las semillas del tomate de árbol (*Solanum betaceum*) y babaco (*Vasconcellea pentagona*), mediante la medición del Tiempo de Protrombina (TP) utilizando un pool de plasma sanguíneo humano, al que se le incorpora el factor tisular, instante en el que se evalúa y mide el tiempo que transcurre hasta activar la coagulación y evaluar la vía extrínseca de la misma. En los dos extractos no se evidenció ningún efecto en relación al Tiempo de Protrombina, sin embargo, en la medición del TTPa se utilizó un pool de plasma citratado juntamente con el reactivo, con el fin de medir el tiempo que tarda en la formación del coágulo de fibrina, se evidenció una prolongación significativa en el extracto FT21, a diferencia del extracto FT39.

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA

Cuadro N°3: Medición de la actividad Antimicrobiana de extractos obtenidos a partir de las semillas del tomate de árbol (*Solanum betaceum*) y babaco (*Vasconcellea pentagona*).

| | | | |
|--|----------------|---------------|--------------------|
| ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA FRENTE | <i>E. coli</i> | <i>S.</i> | <i>E. faecalis</i> |
| A GRAM POSITIVOS Y GRAM | ATCC | aureus | ATCC |
| NEGATIVOS | 25922 | ATCC | 29212 |
| | | 25923 | |

| | | | | | |
|------------------------|-----------------|-------------------------------|-------|-------|-------|
| CONTROL AMIKACINA | | | 36 mm | ----- | ----- |
| CONTROL CIPROFLOXACINA | | | ----- | 30 mm | 28 mm |
| FT39 | BABACO | <i>Vasconcellea pentagona</i> | 11 | 12 | 21 |
| FT21 | TOMATE DE ARBOL | <i>Solanum betaceum</i> | 0 | 0 | 0 |

En el Cuadro N°3 se evidencia la ausencia de actividad antimicrobiana por parte del extracto FT21 sobre las cepas *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*, mientras que el extracto FT39 presentó un halo de inhibición de 11, 12 y 21 mm de diámetro para las tres bacterias antes mencionadas, frente al grupo control de Amikacina, que presentó actividad antimicrobiana con un halo de 36 mm para *E. coli*, y la Ciprofloxacina que presentó actividad para *S. aureus* y *E. faecalis*, con la formación de un halo de 30 mm y 28mm de diámetro respectivamente.

3.2 DISCUSIÓN

Desde la antigüedad, se viene tratando enfermedades con plantas medicinales, ésta es una práctica común en nuestro medio, y se mantiene hasta la actualidad en el Ecuador y en varios países a nivel mundial. Si bien es cierto, las lectinas presentes en plantas y frutas comestibles hasta el momento no son de interés nutricional, sin embargo para otras ciencias es de vital importancia por el gran potencial como agente terapéutico biológico en la prevención y remisión en la manifestación de enfermedades. (Vázquez Luna & Rivadeneyra Domínguez, 2012)

No existen suficientes estudios sobre la actividad biológica de las fitoaglutininas realizados en nuestro país, por ello consideramos importante estudiar el babaco y tomate de árbol, y establecer la actividad que poseen. En cuanto a la evaluación hemoaglutinante se encontró que los extractos obtenidos a partir de las semillas de *Solanum betaceum* presentó una muy fuerte actividad aglutinante para los grupos sanguíneos A y B y una fuerte aglutinación para el grupo O tanto en la primera hora como a las 24 horas. Entre 1948 y 1949 se demostró la presencia de hemoaglutininas en leguminosas con capacidad de aglutinar eritrocitos humanos del sistema ABO, (Sol, Nagano, & Cavada, 2006) tal es el caso que se buscó identificar la presencia de hemoaglutininas en *Prosopis chilensis* que fije a hidratos de carbono, se comprobó que el único azúcar que inhibió la hemoaglutinación fue N-Acetil-D-galactosamina, con ellos se comprueba que existen lectinas con afinidad por hidratos de carbono con capacidad de producir aglutinación, tal como sucedió en nuestro estudio. (Ranea, Rico, & Gurni, 2007)

Al evaluar la acción anticoagulante en los dos extractos no se observó ningún efecto en las dos semillas en relación al Tiempo de Protrombina (TP), sin embargo lo contrario sucedió al medir el Tiempo de Tromboplastina Parcial activado (TTPa) en el extracto de *Solanum betaceum*, en donde se evidenció una prolongación significativa al formar el coágulo de fibrina. Dichos resultados coinciden con el estudio realizado por Naspud y Castro en el que mencionan haber obtenido un TTPa >300 segundos, resultando en una prolongación altamente significativa para el extracto de *Physalis peruviana L.* (Naspud & Castro, 2020) No existe suficiente evidencia sobre ésta propiedad de las lectinas, sin embargo Torres y sus colaboradores realizaron un estudio en la cebolla, piña y ajo, obteniendo actividad anticoagulante, aunque el mecanismo no fue tan claro por ello recomiendan indagar más en el tema. (Torres, Guamán, Moore, & Palomo, 2008)

En cuanto a la actividad antibacteriana, se utilizó la técnica de Kirby Bauer (Bauer, 1966), se utilizó tres cepas bacterianas gram positivas y gram negativas ATCC, el cuanto al extracto de *Solanum betaceum* se evidenció la ausencia de actividad antimicrobiana sobre las cepas *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*, mientras que lo contrario sucedió con el extracto de *Vasconcellea pentagona*, que presentó actividad al formar un halo inhibitorio de 11, 12 y 21 mm de diámetro para las tres bacterias respectivamente, en relación con el grupo control de Amikacina, que reveló actividad para *E. coli*, y la Ciprofloxacina que mostró actividad para *S. aureus* y *E. faecalis*. Parret y sus colaboradores mencionan que las bactereocinas de *Pseudomona fluorescens*, pudiesen ser usadas como agentes de biocontrol microbiológico, por la actividad antibacterial peculiar que tienen debido a la homología con lectinas que se unen a manosa; por otro lado, se evidenció que la inhibición de *E. coli* fue gracias a la bactereocina que genera la *Pseudomona*. (Parret, Temmerman, & Mot, 2005) El presente estudio obtuvo resultados importantes sobre la actividad biológica de las hemoaglutininas estudiadas, por ello consideramos importante profundizar en el tema, con el fin de aportar información relevante a la ciencia e investigación.

CONCLUSIONES

- A través de un proceso minuciosos se logró la extracción acuosa de las lectinas a partir de las semillas del tomate de árbol (*Solanum betaceum*) y babaco (*Vasconcellea pentagona*) y posteriormente se realizó los ensayos de actividad biológica.
- Las hemoaglutininas de las semillas del tomate de árbol (*Solanum betaceum*) presentaron actividad hemoaglutinante significativa para los tres grupos sanguíneos A, B y O, mientras que lo contrario sucedió con las lectinas obtenidas del babaco (*Vasconcellea pentagona*).
- El extracto de las semillas obtenidas a partir del tomate de árbol mostró una prolongación significativa en relación al TTPa, por otro lado, las fitoaglutininas de las semillas del babaco no evidenciaron ningún efecto en relación al TP ni TTPa.
- Se comprobó que el extracto de las semillas de *Vasconcellea pentagona* presentó actividad antimicrobiana frente a las cepas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*, mientras que *Solanum betaceum* no demostró tener actividad antibacteriana frente a ninguna de las cepas mencionadas.

RECOMENDACIONES

- Si bien las lectinas poseen grandes propiedades y aplicaciones terapéuticas, sin embargo, la escasa información que existe no contribuye en su estudio, por ello consideramos de gran importancia impulsar en la realización de investigaciones que profundicen en este tema, y de esa manera contribuir a ampliar la información existente.
- Consideramos importante estudiar la presencia de las lectinas en la parte comestible de las frutas, de esa manera se podría ampliar la actividad biofuncional de las hemoaglutininas y aportar al buen estado de salud de los consumidores.
- Recomendamos ampliar el estudio de la actividad biológica de las fitoaglutininas en frutas, si bien sabemos que además de las actividades estudiadas en esta investigación, también poseen actividad antiviral, anticancerígena, entre otras, por ello creemos importante indagar otras propiedades que pudieran poseer.

BIBLIOGRAFIA

- Amagua, B.A. (2020). *Aplicación de elicitores en plantas de babaco para la obtención de metabolitos secundarios y tolerancia a *Furarium oxysporum* f.sp. *vasconcellae**. (Bachelor Thesis) Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE
Obtenido de: <https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/22052/1/T-IASAI-005585.pdf>
- Bauer, A. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American journal of clinical pathology*, 45, 493-496.
- Blunden, G., Rogers, D., & Carpenter, B. (1991). Lectins, antihemostatic agents and dragendorff positive compounds in marine algae from Venezuela and Tunes. *Fac. Farm (Merida)*, 25-28.
- Boorman, K.E., Dodd, B.E., & Lincoln, P. (1977). Serología del grupo sanguíneo: teoría, técnicas, aplicaciones prácticas. *Churchill Livingstone*.
- Cáceres-Huambo, A. (2017). Determinación de la estructura primaria de la lectina V-2 de semillas de arveja (*Pisum sativum* L.) y su efecto antibacteriano en *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. *Idesia (Arica)*, 35(1), 11-18.
- Carranza Arévalo, G.E. (2017). Evaluación de la actividad antifúngica in vitro de cinco extractos vegetales (EV) contra *Colletotrichum* spp. Aislado de tomate de árbol (*Solanum betaceum*). (Bachelor Thesis) Universidad Técnica de Ambato
- Djabayan Djibeyan, P., Carpenter, B., Medina Ramírez, G., Andueza Leal, F., León Leal, A., Djabayan Russo, A., & Araujo Baptista, L. (2018). Cold Steeping Infusion, a Novel Lectin Extraction Technique for the Isolation, Purification and Partial Characterization of Lectins from the Green Venezuelan Marine Alga *Caulerpa serrulata*. *Natural Product Communications*, 13(12) 1934578X1801301233 .
- Bernal Estrada, J.A. & Lobo Arias, M. (1988). *El cultivo del tomate de árbol* (No. Doc. 6692/v. 3) * CO-BAC, Santafé de Bogotá).
- Velasco Rubio, D.F. (2018). *Efecto de los extractos etanólicos de dos especies de anonáceas sobre los parámetros biológicos de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) del cultivo de babaco (*Vasconcellea heilbornii*) in vitro* (Bachelor's thesis).
- González, S., Caso, D., & González, A. (2011). Lectin: a biomolecule that promises in biomedical sciences. *Ciencias Médicas*, 15(2), 3-12.
- Hernández, O.R. (1999). Aplicaciones de las lectinas. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia*, 15(2), 91-95.

- Marqu ez, C., Otero, C., & Cort es, M. (2007). Cambios Fisiológicos, texturales, fisicoquímicos y microestructurales del tomate de  rbol (*Cyphomandra betacea*) en poscosecha. *Vitae*, 14(2), 9-16.
- Mendoza, W.G. (2007). Estudios estructura y función de una lectina aislada de semillas de *Caesalpinia spinosa* Kuntze (Tara). *Idesia (Arica)*, 25(2), 49-58.
- Naspu , M., & Castro, J. (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*.
- Nigenda, G., & Mora, G. (2001). La práctica de la medicina tradicional en América Latina y el Caribe: el dilema entre regulación y tolerancia. *El dilema entre regulación y tolerancia*, 43,41-51.
- Ortega, A. (2018). *Elaboración de alimento funcional tipo gelatina a partir de pectina extraída de cáscara de tomate de árbol (solanum betaceum) y prebiótico extraído del ajo (allium sativum)*. Obtenido de: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/33154/1/401-1313%20-%20Elaborac%20alimento%20funcional%20tipo%20gelatina.pdf>
- Parret, A., Temmerman, K., & Mot, R.D. (2005). Novel lectin-like bacteriocins of biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* Pf-5. *Applied and environmental microbiology*, 71(9), 5197-5207.
- Pool, H.P. (2008). Identificación y caracterización de la actividad biológica de lectinas aisladas de dos variedades de mango (*Mang fera  ndica* L.). Universidad Veracruzana. Instituto de Ciencias Básicas. Región Xalapa, México. Obtenido de: <http://cdigital.uv.mx/handle/123456789/46981>
- Prieto, S., Garrido, G., González, J. & Molina, J. (2004). Actualidad de la medicina tradicional herbolaria. *CENIC Ciencias Biológicas*, 35(1), 19-36.
- Ranea, F., Rico, R., & Gurni, A. (2007). Identificación de una hemoaglutinina que fija N-Acetil-d-Galactosamina (GalNAc) en *Propis chilensis*-Mimosaceae. *Farmacología y Actividad Biológica*, 6(6), 360-361.
- Gallego del Sol, F., Nagano, S.C., Cavada, B.S., Sampaio, A.H., Sanz, L. & Calvete, J.J. (2006). Lectinas, encargadas de descifrar códigos relativos a los glúcidos. *Investigación y ciencia*, 361, 58-67.
- Yanchaguano Taco, J.M., & Francisco Pérez, J.I. (2019). Medicina convencional frente a medicina tradicional: preferencias de uso en una comunidad rural del Ecuador. *Revista Científica "Conecta Libertad" ISSN 2661-6904*, 3(2), 44-54.

- Torres, C., Guzmán, L., Moore-Carrasco, R., & Palomo, I. (2008). Efecto antitrombótico, una característica poco conocida de las frutas y hortalizas. *Revista Chilena de nutrición*, 35(1), 10-17.
- Salazar Torres, Z.K., Ochoa Bravo, A.C., Arcos, M., Guapisaca, C.I., Rea Heredia, D.F., & Sánchez Salazar, G.M. (2018). Factores asociados a la automedicación con antibióticos, Cuenca-Ecuador, periodo 2017. *Archivos Venezolanos De Farmacología y Terapéutica*, 37(1) 52-56.
- Vázquez Luna, A., & Rivadeneira Dominguez, E. (2012). Lectina en frutas y plantas. *Ciencia UAT*, 60-66. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/4419/441942927008.pdf>
- Villar López, M., Ballinas Sueldo, Y., Soto Franco, J.N. & Medina Tejada, N. (2016). Conocimiento, aceptación y uso de la medicina tradicional, alternativa y/o complementaria por médicos del Seguro Social de Salud. *Revista Peruana de Medicina Integrativa* 1(1), 13-18
- Vivanco, P., & Montalvo, J. (2013). Vivanco, P., & Montalvo, J. (2013). Educación al paciente en patologías prevalentes y uso de medicamentos en las comunidades de Guano-provincia de Chimborazo. *Química Central*, 3(1), 43-50.
- Gallegos Zurita, M. (2016). Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador. *Anales de la Facultad de Medicina*, UNMSM Facultad de Medicina 27(4),327-332.

ANEXOS

Anexo N° 1: Consentimientos Informados



CONSENTIMIENTO INFORMADO

Proyecto de investigación: “Actividad biológica de hemoaglutininas del tomate de árbol (*Solanum betaceum*) y babaco (*Vasconcellea pentagona*). Riobamba, 2020”

Fecha:

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

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

Firma.



CONSENTIMIENTO INFORMADO

Proyecto de investigación: “Actividad biológica de hemoaglutininas del tomate de árbol (*Solanum betaceum*) y babaco (*Vasconcellea pentagona*). Riobamba, 2020”

Fecha: 03 de septiembre de 2020.

Yo, Pablo Djibayau Djibayau 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: “Actividad biológica de hemoaglutininas del tomate de árbol (*Solanum betaceum*) y babaco (*Vasconcellea pentagona*). Riobamba, 2020”

Fecha: 03 de septiembre de 2020.

Yo, Luisa Carolina González R. con C.I. 1758706921 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.

Luisa Carolina González R.



CONSENTIMIENTO INFORMADO

Proyecto de investigación: "Actividad biológica de hemoaglutininas del tomate de árbol (*Solanum betaceum*) y babaco (*Vasconcellea pentagona*). Riobamba, 2020"

Fecha: 03 de septiembre de 2020.

Yo, María Eugenia Lucena de Ustariz 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 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.

María Eugenia Lucena de Ustariz



CONSENTIMIENTO INFORMADO

Proyecto de investigación: “Actividad biológica de hemoaglutininas del tomate de árbol (*Solanum betaceum*) y babaco (*Vasconcellea pentagona*). Riobamba, 2020”

Fecha: 03 de septiembre de 2020.

Yo, Francisco Javier Vstauiz Tajardo con C.I. 175927940-7
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
Francisco Vstauiz

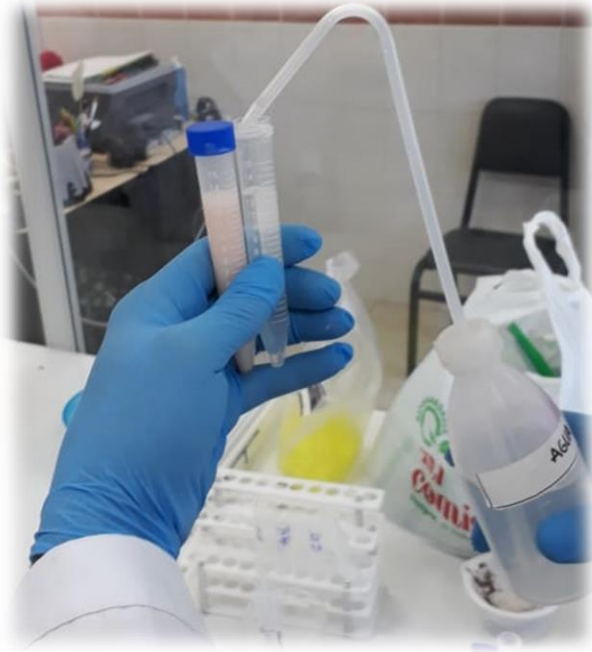
Anexo N° 2: Elección de las frutas: tomate de árbol (*Solanum betaceum*) y babaco (*Vasconcellea pentagona*).



Anexo N° 3: Obtención de los extractos de semillas de *Solanum betaceum* y *Vasconcellea pentagona*.



Anexo N° 4: Almacenamiento de los extractos de semillas de *Solanum betaceum* y *Vasconcellea pentagona*.



Anexo N° 5: Centrifugación y almacenamiento de los extractos de semillas de tomate de árbol y babaco



Anexo N° 6: Resultados de la actividad biológica de las lectinas de las semillas de los extractos de *Solanum betaceum* y *Vasconcellea pentagona*.

