

ESTUDIO PRELIMINAR DE LA FITOHEMOAGLUTININA DE LA CANAVALIA BRASILIENSIS

* GERARDO PÉREZ GÓMEZ, PH. D.

SINOPSIS

Se estableció la presencia de una lectina en semillas de *Canavalia brasiliensis*. Esta proteína, que es una globulina, presenta una alta actividad aglutinante respecto a eritrocitos equinos y caninos; esta aglutinación es inhibida considerablemente por melezitosa (7 mg/ml.) y en menor grado por sacarosa, fructosa y glucosa (7 mg/ml.) Los ensayos realizados con eritrocitos humanos, bovinos o de carnero, demuestran que la lectina es capaz de aglutinarlos sólo después de una tripsinización.

ABSTRACT

The presence of a lectin isolated from seeds of *Canavalia brasiliensis*, was established. This protein which is a globulin, presents a high agglutinating activity towards equine and canine erythrocytes. The agglutination can be inhibited by melezitose (7 mg/ml.) and to a lower extent, by saccharose, fructose and glucose (7 mg/ml.). The human, bovine and lamb erythrocytes can be agglutinated only after treatment with trypsin.

INTRODUCCION

El estudio de las Fitoheмоaglutininas (PHA) o lectinas ha sido abordado recientemente por un número creciente de investigado-

* Profesor Bioquímica. Departamento de Química, Universidad Nacional.

res (1). Estas proteínas, que se encuentran con relativa frecuencia en las semillas de leguminosas, se caracterizan por presentar una serie de propiedades biológicas muy interesantes, tales como:

a) Provocar la aglutinación de eritrocitos mostrando en algunos casos especificidad respecto a los grupos sanguíneos A, B, O, de humanos y selectividad interespecies, lo cual ha ayudado en la clasificación de los grupos sanguíneos.

b) Actuar como agentes mitogénicos estimulando la división de linfocitos (3, 4, 5), propiedad que ha sido muy útil en el estudio de los cariotipos humanos anormales propios de ciertas enfermedades hereditarias.

c) Diferenciar células normales de células cancerosas con base en la mayor aglutinabilidad de éstas últimas (6) en presencia de una lectina específica.

d) Coadyuvar a la supresión del rechazo inmunológico de ciertos trasplantes de piel en ratas (7).

e) Combinarse con carbohidratos de manera específica (1), inhibiéndose en ese caso la aglutinación de los eritrocitos que poseen en su membrana el azúcar en cuestión, o un derivado de éste (1, 8).

Estas propiedades han permitido utilizar las lectinas en una multitud de estudios bioquímicos, biológicos y clínicos (ver las revisiones de Lis y Sharon (1), Jaffé (8), Sharon y Lis (9)] que han sido realizados en su mayoría empleando eritrocitos y linfocitos humanos.

Los estudios sobre proteínas de leguminosas realizados en el Laboratorio de Bioquímica del Departamento de Química de la Universidad Nacional, han permitido establecer por vez primera la presencia de fitohemoaglutininas en el Balú (*Erythrina edulis*), abriendo un nuevo campo de experimentación. Durante el estudio sistemático de las leguminosas que se adelanta actualmente en el laboratorio, se planteó la posibilidad de analizar varias especies de *Canavalia* existentes en el país, ya que se sabe que la *C. ensiformis* nativa posee una lectina (10) (concanavalina A) ampliamente estudiada y analizada. Para el estudio, objeto de este trabajo, se utilizó una especie de *Canavalia* clasificada en el Herbario Nacional como *C. brasiliensis*, sobre la cual no se encontró ningún dato en la literatura; por lo tanto este trabajo se orientó como una investigación exploratoria de la eventual presencia y propiedades de Fitohemoaglutininas en esta especie.

MATERIALES Y METODOS

Recolección y tratamiento de la muestra.

Se recolectaron las semillas maduras en la región cercana a "Aguazul" (Intendencia de Casanare), y luego de su clasificación se secaron al aire durante cuatro días. Una parte de las semillas se molió y la harina resultante se pasó por un tamiz de 60 mallas.

Extracción y fraccionamiento con $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$

Una porción de harina (10 g) se colocó en remojo en una solución de NaCl al 1% (50 ml.) durante 48 horas, a temperatura ambiente y con agitación constante. Se centrifugó a 3.500 rpm, durante 30 minutos y el sobrenadante claro se guardó a 4°C durante 24 horas, el residuo se trató una segunda vez con las mismas condiciones durante 24 horas. Luego de centrifugar a 3.500 rpm por 30 minutos, se reunieron los dos sobrenadantes guardándose a 4°C durante 24 horas, al cabo de las cuales se eliminaron por centrifugación los almidones que habían precipitado. El sobrenadante constituye el extracto E 1. Un segundo extracto se preparó en condiciones análogas utilizando semillas enteras (10 g) que luego del remojo fueron licuadas durante 5 minutos. El sobrenadante final es el extracto E 2.

A partir de semillas enteras (50 g) se preparó un extracto E 3, que fue sometido a un fraccionamiento con $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ de la siguiente manera:

El sobrenadante resultante de la centrifugación de almidones, se concentró por liofilización hasta un volumen final de 280 ml y luego de medir su pH (5.05) se le agregó $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (59 g), hasta obtener una saturación de 35%. Se dejó en reposo a 4°C durante 51 horas, al cabo de las cuales el precipitado se separó centrifugando a 12.000 rpm durante 20 minutos; el residuo ($\text{E}_3 \text{ G}_1$) se redisolvió en una pequeña cantidad de agua y se dializó contra NaCl al 1% durante 72 horas, haciendo cuatro cambios al día.

El sobrenadante $\text{E}_3 \text{ S}_1$ (290 ml) se llevó a una saturación del 50% con $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ y se dejó precipitando durante 72 horas. Luego de centrifugar a 10.000 rpm por 20 minutos se obtuvo un residuo ($\text{E}_3 \text{ G}_2$) y un sobrenadante claro ($\text{E}_3 \text{ S}_2$), que fueron dializados en las mismas condiciones que $\text{E}_3 \text{ G}_1$.

Después de realizar los ensayos de aglutinación preliminares se liofilizaron los extractos E_2 , $\text{E}_3 \text{ G}_1$ y $\text{E}_3 \text{ G}_2$, y se conservaron en congelador.

Reconocimiento de Canavanina.

Se realizó según la técnica de Schlüter y Bordas (11) utilizando la harina y los extractos E₂, E₃ G₁, E₃ G₂ y E₃ S₂.

Ensayos de aglutinación.

La sangre de la especie respectiva (colectada en presencia de anticoagulante) se centrifugó a 3.000 rpm durante 15 minutos. Se eliminó el sobrenadante y los leucocitos, aspirando cuidadosamente la capa superior; los eritrocitos fueron suspendidos en 10 veces su volumen con NaCl 1% y se centrifugó a 3.000 rpm, durante 10 minutos. El lavado se repitió dos veces más y finalmente los eritrocitos se suspendieron en NaCl 1% (1:10 v/v). Los extractos de proteína liofilizados se disolvieron en NaCl 1% de manera que la concentración en todos los casos fuera de 10 mg. muestra/ml.

Para realizar el ensayo se colocaron en un tubo 0.2-1.0 ml. de suspensión de eritrocitos, se agregó 1.0 ml. de NaCl 1% y 0.1 ml. de solución salina del extracto proteico cuya actividad eritroaglutinante se quería determinar. Luego de mezclar bien se dejó en reposo a temperatura ambiente y se observó la aglutinación a diferentes tiempos (5 minutos hasta 16 horas) utilizando para evaluar el grado de aglutinación los siguientes índices:

(-) Aglutinación inexistente; (+) débil, presencia al microscopio de pequeños aglomerados; (++) mediana, aglomerados considerables pero aglutinación incompleta; (+++) fuerte, aglutinación prácticamente completa; (++++) muy fuerte, formación de un coágulo no dispersable por agitación.

Determinación de la actividad relativa de los extractos.

Los extractos E₃ G₁ y E₃ G₂ se disolvieron en NaCl 1% (10 µg/ml) y luego de media hora de disolución, se eliminaron por centrifugación las partículas en suspensión. Se prepararon diluciones crecientes, colocándose 2.0 ml. de cada dilución en un tubo al que se le agregaron 0.5 ml. de una suspensión 1:10 (v/v) en NaCl 1% de eritrocitos de equino, agitando bien cada tubo. El grado de aglutinación se observó 1 hora y 16 horas más tarde.

Ensayos de aglutinación con eritrocitos tripsinizados.

Se preparó una solución de tripsina (Merck o Hopkins-Williams) (10 mg/ml) en un buffer de fosfatos 0.2 M, pH 7.3; a un volumen de esta solución se agregaron cuatro volúmenes de una

suspensión de eritrocitos de una especie dada, incubándose la mezcla en un termostato a 37°C durante tiempos que variaron entre 15 y 60 minutos para los ensayos iniciales con el fin de determinar el tiempo óptimo de proteólisis. Transcurrido el tiempo escogido se enfriaron los tubos en un baño a 4°C y se centrifugaron a 4.000 rpm por 15 minutos; se eliminó el sobrenadante y al residuo se agregaron diez volúmenes de NaCl a 1%. Se agitó y se centrifugó en las condiciones mencionadas; este lavado se repitió dos veces y finalmente los eritrocitos tripsinizados se suspendieron en NaCl 1%, quedando listos para efectuar los ensayos de aglutinación con el extracto E₂.

Ensayos de inhibición de aglutinación.

Para los ensayos con eritrocitos de canino y equino se tomaron en un tubo de ensayo 0.2 ml. de una suspensión de eritrocitos a los que se agregaron mezclando bien, 1.0 ml. de una solución (1%) (en NaCl 1%) de un azúcar dado. Después de incubar la mezcla por 15-30 minutos, se agregó 0.1 ml. de extracto E₂ y se observó la aglutinación en tiempos que variaron entre 5 minutos y 72 horas.

Una vez determinados los posibles azúcares inhibidores se realizaron otros ensayos variando las concentraciones de las soluciones de carbohidratos, según se indica en cada caso en las tablas respectivas.

RESULTADOS Y DISCUSION

Presencia de Fitoheмоaglutininas en los extractos.

La reacción de aglutinación causada por una lectina (PHA) se explica por la presencia de receptores (generalmente glicoproteínas), en la membrana celular del eritrocito, que se unen estereoespecífica y reversiblemente con la lectina, que al ser bi- o polivalente causa la formación de un agregado. Recientemente se han aislado y caracterizado los receptores determinantes de los grupos sanguíneos humanos. [Ver revisión (1)].

Los ensayos realizados con los diferentes extractos utilizando eritrocitos provenientes de diversas especies animales (Tabla 1) demuestran que tanto los extractos crudos como las fracciones de globulinas aglutinan eritrocitos de canino, equino y curí de manera específica presentándose la particularidad de que los eritrocitos humanos, bovinos o de carnero no son aglutinados. En el caso de los humanos los resultados con sangres de Tipo A, B o O, son idénticos. En el caso de las otras especies animales, dada la multiplicidad de grupos sanguíneos demostrados en bovinos [11 gru-

pos (12)], equinos [11 grupos (13)], caninos [7 grupos (14)] y el número de individuos utilizados, es poco probable que la PHA haya reaccionado con un receptor característico de un solo grupo sanguíneo.

Es interesante además notar la rapidez con que se presenta la reacción de aglutinación y el hecho de que en los casos en que ella es negativa inicialmente, observaciones a las 48, 72 y aun 92 horas muestran que tampoco ella se produce en tiempos prolongados. Una experiencia realizada con el extracto E_3G_1 y eritrocitos ovinos dio una aglutinación negativa (5 min. y 16 h.), pero antes de señalar en esta especie la ausencia de receptores para la PHA en estudio, es necesario ensayar con más individuos.

Fraccionamiento y actividad relativa.

El fraccionamiento con $(NH_4)_2SO_4$ permitió separar dos grupos de globulinas, uno que precipita al 35% de saturación y el otro al 50% de saturación, que contienen la lectina que parece estar ausente en la fracción E_3S_2 que corresponde a las albúminas.

Se han realizado varios ensayos de purificación de E_3G_1 y E_3G_2 por cromatografía sobre DEAE-celulosa y Sephadex G-100 pero hasta el presente no ha sido posible obtener resultados reproducibles.

Dado que la PHA presente en los dos grupos tiene la misma especificidad, se consideró útil evaluar su actividad relativa en los extractos E_3G_1 (globulinas 35% S) y E_3G_2 (globulinas 50% S).

Los resultados obtenidos (Tabla número 2) indican que el extracto E_3G_2 es unas cuatro veces más rico en lectina que E_3G_1 y que la actividad de la proteína es relativamente alta ya que en el caso de E_3G_2 una dilución de 1:1024 todavía ocasiona aglutinación. La presencia de la lectina en los dos extractos podría deberse a una precipitación parcial de la proteína cuando se llega a una saturación del 35% en $(NH_4)_2SO_4$ y en ensayos ulteriores se podría ensayar directamente una precipitación al 50% de saturación.

Inducción de aglutinación por tripsinización de eritrocitos.

La incapacidad por parte de una PHA de aglutinar los eritrocitos humanos o bovinos se interpretaría como causada por la ausencia de receptores (generalmente glicoproteínas) en la membrana de la célula. Sin embargo los trabajos de Jaffé y Brücher (15) han mostrado que PHA aislados de frijol caraota (*P. vulgaris*), incapaces inicialmente de aglutinar eritrocitos bovinos, adquieren esta propiedad una vez que los eritrocitos han sido sometidos a una

TABLA NUMERO 1
Actividad Eritroaglutinante de los Extractos de *C. brasiliensis*.

Extracto	Tiempo lectura Agglutinación	ESPECIES EMPLEADAS					
		(1) Bovino	(2) Canino	(3) Carnero	(4) Curi	(5) Equino	(6) Humano
E ₁	5 min. 16 h.	N. E.	N. E.	N. E.	N. E.	++ ++++	— —
E ₂	5 min. 16 h.	— —	++ ++++	— —	++ ++++	++ ++++	— —
E ₃	5 min. 16 h.	N. E.	N. E.	N. E.	N. E.	++ ++++	N. E.
E ₃ G ₁	5 min. 16 h.	— —	++ ++++	N. E.	N. E.	++ ++++	— —
E ₃ G ₂	5 min. 16 h.	— —	+ ++	N. E.	N. E.	+++ ++++	— —
E ₃ S ₂	5 min. 16 h.	N. E.	N. E.	N. E.	N. E.	— +	— —

- (1) 6 Individuos sin parentesco.
 (2) 7 Individuos sin parentesco.
 (3) 1 Individuo.
 (4) 21 Individuos sin parentesco.
 (5) 11 Individuos sin parentesco.
 (6) 4 Individuos de diferente grupo sanguíneo.

CONVENCIÓN: N. E. = No ensayado.

proteólisis limitada con tripsina o pronasa. Por esta razón los eritrocitos humanos, bovinos o de carnero, que no son aglutinados por la lectina de la *C. brasiliensis*, fueron tripsinizados durante tiempos diferentes y su aglutinabilidad ensayada con el extracto E₂.

Los resultados obtenidos (Tabla número 3) muestran que en el caso de eritrocitos humanos o de bovinos se obtiene eritroaglutinación apreciable al cabo de 30-60 minutos de proteólisis y más de cuatro horas de incubación con la Fitoheмоaglutinina. Con base en los datos obtenidos se determinaron el tiempo óptimo de hidrólisis (60 minutos) y los demás parámetros del ensayo. Cuando los eritrocitos de carnero son tripsinizados, se observa que la fitoheмоaglutinina no es capaz de aglutinarlos cuando la tripsinización es inferior a 40-60 minutos y aún con estos tiempos la aglutinación es lenta. Se observa además que una tripsinización de los eritrocitos caninos no altera su capacidad de aglutinación pero sí posible-

TABLA NUMERO 2

Determinación de la Actividad Relativa de la Lectina de los Extractos E₃G₁ y E₃G₂.

EXTRACTO E ₃ G ₁			EXTRACTO E ₃ G ₂		
Dilución	Tiempo		Dilución	Tiempo	
	1 hora	16 horas		1 hora	16 horas
1:2	+++	++++	1:2	+++	++++
1:4	+++	++++	1:4	+++	++++
1:8	+++	++++	1:8	+++	++++
1:16	++	++++	1:16	++	++++
1:32	++	++++	1:32	++	++++
1:64	++	++++	1:64	++	++++
1:128	++	++++	1:128	++	++++
1:256	+	++	1:256	++	++++
1:512	—	—	1:512	++	+++
1:1024	—	—	1:1024	+	++
1:2018	—	—	1:2048	—	—
1:4096	—	—	1:4096	—	—

NOTA: Se utilizaron eritrocitos de equino.

TABLA NUMERO 3

Ensayo de Inducción de Aglutinación por Tripsinización de Eritrocitos.

	Tiempo Tripsinización	Tiempo Incubación	
		PHA + Eritrocitos	Aglutinación
Bovino	15 minutos	5 minutos	—
		44 horas	++++
	40 minutos	5 minutos	—
		44 horas	+++
	60 minutos	5 minutos	—
		44 horas	++++
Humano (O +)	15 minutos	5 minutos	—
		44 horas	+++
	40 minutos	5 minutos	—
		44 horas	++
	60 minutos	5 minutos	—
		44 horas	+++
Carnero	15 minutos	5 minutos	—
		44 horas	—
	40 minutos	5 minutos	—
		44 horas	+
	60 minutos	5 minutos	—
		44 horas	+
Bovino	30 minutos	4 horas	+
		24 horas	+++
	60 minutos	4 horas	+
		24 horas	+++
Humano (O +)	30 minutos	4 horas	+
		24 horas	++++
	60 minutos	4 horas	++
		24 horas	++++
Canino	60 minutos	5 minutos	+
		15 minutos	+++
		1 hora	++++
		6 horas	++++
		24 horas	hemólisis
Carnero	30 minutos	4 horas	—
		24 horas	—
	60 minutos	4 horas	—
		24 horas	+

mente debilita la membrana celular ya que se hemolizan al cabo de 24 horas.

En conjunto, estos resultados indican que los eritrocitos humanos o bovinos poseen receptores (glicoproteínas) similares a los receptores presentes en canino o equinos, pero su incapacidad de aglutinarse en presencia de la PHA plantea un problema que puede ser resuelto de acuerdo con una de las dos hipótesis siguientes:

— Los receptores están enmascarados o bloqueados en la membrana por segmentos de cadenas polipeptídicas que es necesario eliminar con el tratamiento con tripsina.

— La tripsina causa en la membrana alteraciones de tal naturaleza que se cambia la distribución topológica de los receptores, que no están enmascarados, formándose agrupaciones que permiten la aglutinación.

La primera posibilidad ha sido sugerida por Burger (16) teniendo como base sus trabajos sobre la acción aglutinante de la concanavalina A (una lectina) en células BHK normales, tripsinizadas o transformadas; además el grupo de Sachs (17) ha demostrado por marcación con radioisótopos que el número de receptores en la membrana no varía en las células tripsinizadas ni en las células transformadas.

La segunda ha sido propuesta por Singer y Nicolson (18) de acuerdo con su modelo de "mosaico fluido" y se apoya en los resultados obtenidos (19) al microscopio electrónico con conjugados ferritina-concanavalina A que se fijan sobre células 3T3 normales o tripsinizadas.

Otros trabajos similares [ver revisión (20)] refuerzan esta propuesta.

Acción inhibidora de carbohidratos.

Los ensayos realizados sobre eritrocitos de canino con varias pentosas, hexosas, disacáridos y trisacáridos mostraron (Tabla número 4) que únicamente la fructosa y melezitosa (glucosa B₁, 3 sacarosa) y en mayor grado la glucosa y sacarosa, inhiben durante tiempos cortos la aglutinación causada por la PHA presente en el extracto E₂. Los demás carbohidratos ensayados, incluyendo derivados de la glucosa, no tienen acción inhibidora.

Cuando se prolonga por más de 24 horas la incubación de la mezcla PHA —eritrocitos— azúcar, se observa hemólisis con todos los azúcares, posiblemente causada por una fragilidad característica de la membrana celular del eritrocito canino.

La tripsinización de los eritrocitos caninos no parece introducir cambios en cuanto a los azúcares con acción inhibidora (Tabla número 4), lo cual indica que la proteólisis no ha removido ni expuesto nuevos carbohidratos que intervengan como parte de los receptores celulares.

Los ensayos preliminares mostraron que concentraciones de carbohidrato inferiores a 6.0 mg/ml. no causan ninguna inhibición.

Un aumento en las concentraciones de azúcares inhibidores no permite obtener una inhibición duradera como lo demuestra el que incubaciones con fructosa a razón de 30.8 mg/ml. y 123.2 mg/ml. o con glucosa o sacarosa a razón de 15.4 mg/ml. no impiden la formación de un coágulo observable a las 24 horas. Esta inhibición temporal (generalmente menor de 4 horas) no se ha observado con otras lectinas y posiblemente se debe a una mayor afinidad de la PHA por el receptor celular que por el azúcar en solución.

En el caso de los eritrocitos de equino incubados con los mismos carbohidratos utilizados para los caninos, se observa que únicamente la glucosa, fructosa, sacarosa y melezitosa tienen algún poder de inhibición. Cuando se estudia el efecto de la concentración de estos azúcares respecto a la duración de la inhibición (Tabla número 5), se observa que en el caso de la glucosa, la fructosa y la sacarosa, es necesario emplear concentraciones del orden de 8 mg/ml. para obtener inhibición por lo menos de 1 hora, mientras que la melezitosa ya actúa a concentraciones del orden de 4 mg/ml. y presente una inhibición durable (45 horas) a una concentración (17 mg/ml.) en la que los otros azúcares sólo inhiben por corto tiempo. Es interesante notar que los mismos azúcares actúan como inhibidores de la aglutinación de eritrocitos equinos y caninos y que de ellos, la melezitosa (α -D-glucosil β (1, 3)-D-Fructosil α (2, 1) -D-glucósido) es el que posee el mayor poder de inhibición. Este hecho indica que los receptores celulares para la PHA estudiada probablemente son similares en las dos especies y que en ellos intervienen varias unidades de glucosa y fructosa unidas por enlaces β 1, 3 y α 2, 1. Una revisión de la literatura (1, 8, 9) muestra que éste es el primer caso en el cual la melezitosa actúa como inhibidor de una lectina.

CONCLUSIONES

El presente estudio ha permitido establecer la presencia en la *Canavalia brasiliensis* de una Fitoheмоaglutinina que pertenece al grupo de las globulinas y que presenta una alta actividad hemoaglutinante de eritrocitos de equino y canino. Esta proteína no aglutina eritrocitos de humano, bovino y carnero a menos que sean sometidos

dos a un tratamiento con tripsina durante 30-60 minutos. Esta proteólisis parece no afectar la capacidad de aglutinación de los eritrocitos de canino.

TABLA NUMERO 4

Acción Inhibidora de Carbohidratos en la Aglutinación de Eritrocitos de Canino.

	Eritrocitos sin tripsinizar (1)			Eritrocitos tripsinizados (2)	
	A G L U T I N A C I O N				
	5 minutos	2 horas	18 horas	5 minutos	4 horas
L (+) Arabinosa	+	+++	++++	+	++++
D (-) Arabinosa	+	+++	++++	+	+++
D (+) Xilosa	+	+++	++++	+	++
D (+) Glucosa	-	+	++++	-	+++
D (-) Glucosamina	+	++	++++	+	+++
D (+) Galactosa	+	++	++++	+	++
D (-) Galactosamina	+	++	++++	+	++
D (-) A. Galacturónico	+	++	++++	+	+++
D (-) Manitol	+	++	++++	+	+++
D (-) Sorbitol	++	+++	++++	N. E.	N. E.
L (-) Sorbosa	+	++	++++	+	+++
D (-) Fructosa	-	-	+++	-	+
D (+) Celobiosa (Glc- β 1, 4-Glc)	+	++	+++	++	+++
D (+) Melibiosa (Gal α 1, 6 Glc)	+	++	+++	++	+++
D (+) Sacarosa (Glc α 1, 2 Frc)	-	+	+++	+	+++
D (+) Melezitosa (Glc β 1, 3 Sac)	-	-	+	-	+++
D (+) Rafinosa (Gal α 1, 6 Glc β 1, 2 Frc)	+	++	++++	+	+++
Agarosa	+	++	++++	+	+++

(1) Concentración final de carbohidrato = 7.7 mg/ml.

(2) Concentración final de carbohidrato = 15.4 mg/ml.

N.E. = No ensayado.

Glc = Glucosa.

Sac = Sacarosa.

Gal = Galactosa.

Frc = Fructosa.

TABLA NUMERO 5

Efecto de la concentración.

Acción Inhibidora
de Carbohidratos en la Aglutinación de Eritrocitos de Equino.

CARBOHIDRATOS	2 3 Final CHO (mg/ml)	1 hora	AGLUTINACION	
			7 horas	45 horas
Glucosa	1.7	++	++++	++++
	4.3	+	+++	++++
	8.7	—	+++	++++
	17.4	—	+++	++++
Glucosamina	1.7	+++	++++	++++
	4.3	++	++++	++++
	8.7	++	++++	++++
	17.4	++	++++	++++
Fructosa	3.4	+	+++	++++
	8.7	—	++	++++
	17.4	—	++	+++
	34.8	—	+	++
Sacarosa	3.4	+	++++	++++
	8.7	—	+++	++++
	17.4	—	+++	++++
	34.8	—	+++	++++
Melezitosa	1.7	+	+++	++++
	4.3	—	++	+++
	8.7	—	—	+
	17.4	—	—	—

NOTA: En esta tabla se incluye la glucosamina para comparar con un azúcar no inhibidor.

La aglutinación de eritrocitos de equino o canino es inhibida por la glucosa, fructosa, sacarosa y melezitosa a concentraciones superiores a 6-7 mg/ml. de azúcar.

Estos hechos sugieren que los eritrocitos de las dos especies animales poseen receptores celulares similares que no se pueden demostrar directamente en las otras especies y que deben poseer una afinidad relativamente alta respecto a la lectina estudiada.

Agradecimientos. Este trabajo se realizó gracias al apoyo prestado por el Departamento de Química (Universidad Nacional), Colciencias y la OEA.

BIBLIOGRAFIA

1. LIS H., SHARON N. *Ann. Rev. Biochem.*, 42, 541, 1973.
2. SMITH E. E., GOLDSTEIN I. J. *Arch. Biochem. Biophys.*, 121, 88, 1967.
3. NOWELL P., *Cancer Research*, 20, 462, 1960.
4. MOORHEAD P. S., NOWELL P. C., MELLMAN W. S., BATTIPS D. M., HUNGER FORD R. A., *Expt. Cell. Res.* 20, 613, 1960.
5. DOWING H. S., KEMP G. C. M., DENBOROUGH M. A. *Nature*, 217, 654, 1968.
6. BURGER, M. M., *Fed. Proc.* 32, 91, 1973.
7. MARKOWITZ, et al., *Science*, 163, 476, 1969.
8. JAFFE, W. "Hemagglutinins" in "Toxic constituents of Plant Foods". Lie-ner (ed.) p. 69, 1968.
9. SHARON N., LIS H. *Science*, 177, 949, 1972.
10. MUNERA M. E., GALVIS M., Tesis. Universidad Nacional. Departamento de Química, 1974.
11. SCHLUTER, M., BORDAS E. *Phytochemistry* 11, 3533, 1972.
12. STORMONT, C. *Annals N. Y. Acad. Sci.* 97, 251, 1962.
13. EYQUEM, A., PODLIACHOUK L. MILLOT P. *Annals N. Y. Acad. Sci.* 97, 320, 1962.
14. SWISHER, S. N. YOUNG L. E., TRABOLD N. *Annals N. Y. Acad. Sci.* 97, 15, 1962.
15. JAFFE W. G., BRUCHER O., *Arch. Lat. Nutr.*, 23, 267, 1972.
16. BURGER M. M. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.*, 62, 994, 1969.
17. SELA B., LIS H., SHARON N., *Biochem. Biophys. Acta* 249, 564, 1971.
18. SINGER S. J., NICOLSON G. L., *Science*, 175, 720, 1972.
19. NICOLSON G. L., *Nature New Biology*, 239, 193, 1972.
20. OSEROFF A. R., ROBBINS P. W., BURGER M. M., *Ann. Rev. Biochem.*, 42, 647, 1973.