



**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

**LECTINAS COMO BLOQUEADORES DE LA GLICOPROTEÍNA
IIb-IIIa**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE
LICENCIADO EN TECNOLOGÍA MÉDICA**

**AUTORA: FRANCIA JELDRES FUENTES
PROFESOR GUÍA: TM DR RODRIGO MOORE CARRASCO**

**TALCA-CHILE
2022**

CONSTANCIA

La Dirección del Sistema de Bibliotecas a través de su unidad de procesos técnicos certifica que el autor del siguiente trabajo de titulación ha firmado su autorización para la reproducción en forma total o parcial e ilimitada del mismo.



Talca, 2023

Agradecimientos

Al Dr. Juan Carlos Tapia y a la señorita TM. Solange Besoain por toda la ayuda y apoyo constante cuando no sabía cómo dar comienzo a este proceso. Al TM. Dr. Rodrigo Moore por recibirme como alumna en un momento difícil para ambos. A los docentes y todo el personal que forma parte de la escuela de Tecnología Médica por la buena disposición en toda circunstancia con sus alumnos.

ÍNDICE

1. RESUMEN.....	1
2. INTRODUCCIÓN.....	2
3. OBJETIVOS.....	4
4. METODOLOGÍA DE BÚSQUEDA.....	5
5. MARCO TEÓRICO.....	6
5.1 Plaquetas.....	6
5.1.1 Membrana plaquetaria y sus principales componentes.....	6
5.1.2 Función plaquetaria.....	12
5.1.3 Interacción plaqueta-endotelio: activación, secreción y agregación plaquetaria...	12
5.1.4 Hiperactividad plaquetaria asociada a comorbilidades.....	14
5.1.5 Bloqueo de receptores plaquetarios como diana terapéutica.....	17
5.2 Lectinas.....	21
5.2.1 <i>Concanavalin A (Con A)</i>	22
5.2.2 <i>Dolichos biflorus Agglutinin (DBA)</i>	22
5.2.3 <i>Peanut Agglutinin (PNA)</i>	23
5.2.4 <i>Ricinus Communis agglutinin I (RCA I)</i>	23
5.2.5 <i>Soybean agglutinin (SBA)</i>	23
5.2.6 <i>Ulex Europaeus Agglutinin I</i>	24
5.2.7 <i>Wheat Germ Aglutinnin (WGA)</i>	24
5.2.8 <i>Griffonia Simplicifolia Lectin I (GSL I)</i>	24
5.2.9 <i>Lens Culinaris Agglutinin (LCA)</i>	25
5.2.10 <i>Phaseolus Vulgaris (PHA)</i>	25
5.2.11 <i>Pisum Sativum Agglutinin (PSA)</i>	25
5.2.12 <i>Succinylated Wheat Germ Agglutinin (sWGA)</i>	26
5.2.13 <i>Datura Stramonium Lectin (DSL)</i>	26
5.2.14 <i>Erythrina Cristagalli Lectin (ECL)</i>	26
5.2.15 <i>Griffonia Simplicifolia Lectin II (GSL II)</i>	27
5.2.16 <i>Jacalin</i>	27

5.2.17 <i>Lycopersicon Esculentum (Tomato) Lectin (LEL)</i>	27
5.2.18 <i>Solanum tuberosum (Potato) Lectin (STL)</i>	28
5.2.19 <i>Vicia Villosa Lectin (VVL)</i>	28
5.3 Interacción lectina-plaqueta.....	28
5.4 Lectinas como posibles bloqueadores de GP IIb-IIIa.....	33
6. CONCLUSIONES.....	37
7. BIBLIOGRAFÍA.....	38

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Sacáridos de la membrana plaquetaria.....	7
Tabla 2. Composición de carbohidratos de las subunidades polipeptídicas IIb y IIIa.....	8
Tabla 3. Resumen interacción lectina-plaqueta.....	32

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Complejo glicoproteína IIb-IIIa	9
Figura 2. Esquema de la interacción de IIb-IIIa y fibrinógeno	9
Figura 3. Complejo glicoproteína Ib-IX.	10
Figura 4. Complejo glicoproteína VI.	11
Figura 5. Formación del tapón plaquetario.	14
Figura 6. Efectos de disolución de trombos plaquetarios de anticuerpos anti-GP IIb-IIIa.....	18
Figura 7. Agregación plaquetaria en condiciones normales y en presencia de PSA.....	35

1. RESUMEN

En la actualidad, existe diversidad de enfermedades trombóticas que pueden resultar ser mortales y que tienen origen en la función plaquetaria, que se ve afectada de manera que ocurre una hiperactividad de estas células, generando trombos de manera anormal. Evaluando la fisiología de la plaqueta, se ha apuntado el tratamiento para este tipo de patologías al bloqueo de uno de los receptores más importantes y que se encuentran en mayor cantidad, la glicoproteína IIb-IIIa. Hasta el momento, existen tres tipos de terapia antitrombótica, que consisten en anticuerpos monoclonales, péptidos RGD (que se encuentran en el fibrinógeno) purificados del veneno de víbora y péptidos RGD sintéticos.

Debido a sus propiedades, se realizó un análisis para evaluar como terapia antitrombótica el uso de las lectinas, proteínas en su mayoría de origen vegetal que permiten su propio marcaje con cromógenos y a la vez la interacción con otros compuestos. Se realizó un estudio detallado del comportamiento de un kit de lectinas al contacto con plaquetas, y dos de ellas cumplen con las condiciones para actuar como posible bloqueador del receptor glicoproteico IIb-IIIa, considerando su especificidad, y los sacáridos que la glicoproteína expresa en la membrana plaquetaria.

Palabras claves: lectina, membrana plaquetaria, agregación plaquetaria, glicoproteína IIb-IIIa.

2. INTRODUCCIÓN

Las plaquetas son fragmentos celulares anucleares provenientes de los megacariocitos, células hematopoyéticas localizadas en la médula ósea roja. La principal función de estos fragmentos celulares es actuar como tapón homeostático durante un daño endotelial. Es a través de su activación, secreción de diferentes moléculas bioactivas, y agregación que las plaquetas favorecen el proceso de coagulación sanguínea, y al mismo tiempo, modulan la respuesta inmune inflamatoria, todo con el propósito de detener la pérdida de sangre, promover la reparación del tejido afectado y evitar posibles infecciones.

Sin embargo, no siempre juegan un rol positivo, ya que existen patologías en las cuales las plaquetas son el componente principal en enfermedades como arteriopatía coronaria, tromboembolismo venoso, enfermedad cardíaca valvular, y en enfermedades como la diabetes mellitus donde ocurre una hiperactividad plaquetaria a causa del daño endotelial producido por dicha patología. Debido al riesgo que supone una enfermedad trombótica, es que surge la necesidad de un tratamiento que sea capaz de inhibir la formación de trombos en circulación. Actualmente se ha dirigido la terapia antitrombótica a inhibir uno de los receptores que se encuentra en gran cantidad en la membrana y el de mayor importancia en agregación plaquetaria, la glicoproteína IIb-IIIa.

Las lectinas son proteínas que cuentan con dominios de unión a carbohidratos. Pueden ser de origen animal, vegetal, bacteriano, fúngico e incluso viral, y por su diversa procedencia, no es extraño que cuenten con tanta variedad de interacciones lectina-carbohidrato. Las más utilizadas en términos de estudio e investigación son las lectinas de origen vegetal, que se han utilizado por su capacidad de aglutinar células, unirse a endotelio e interactuar con membranas celulares y receptores.

Algunos estudios han demostrado que las lectinas tienen la capacidad de interactuar con la membrana plaquetaria y unirse a ella mediante los sacáridos que esta expone en la superficie. Esta interacción no solo se limita a la unión con receptores glicoproteicos, sino que también algunas son capaces de inducir la agregación plaquetaria y la liberación del contenido de sus gránulos, secretando ADP y serotonina, por ejemplo, siendo esta última la más estudiada. A pesar de las investigaciones realizadas, no se tiene completa claridad de la acción que algunas lectinas puedan tener sobre la plaqueta y sus procesos.

Esta investigación busca encontrar utilidad en las lectinas como posibles bloqueadores de la glicoproteína IIb-IIIa, considerando que este receptor expone sacáridos con los cuales las lectinas pueden unirse e inhibir la agregación plaquetaria. Para ello se ha realizado una exhaustiva búsqueda de las propiedades y especificidades de ciertas lectinas comerciales y su efecto sobre la plaqueta en términos de unión a la membrana, activación, secreción del contenido de gránulos y agregación plaquetaria.

3. OBJETIVOS

Objetivo general:

Comprender la interacción de lectinas con plaquetas para su uso como posibles bloqueadores del receptor plaquetario GP IIb-IIIa.

Objetivos específicos:

- I- Analizar la estructura e interacción de las lectinas con plaquetas en cuanto a su unión a la membrana, activación, secreción y agregación plaquetaria.
- II- Estudiar las lectinas como posibles bloqueadores de la función plaquetaria.

4. METODOLOGÍA DE BÚSQUEDA

Para el cumplimiento de los objetivos planteados, se ha realizado una búsqueda de bibliografía relacionada a plaquetas y sus procesos en cuanto a activación, secreción y activación y su interacción con el endotelio, patologías asociadas a trombos y tipos de tratamientos, lectinas y sus principales características, como sus especificidades por sacáridos, y la interacción lectina-plaqueta. Para ello se realizó una búsqueda de información disponible en la web en distintas plataformas, tales como Web of Science, PubMed, Scielo, Scholar Google, entre otros. Se analizaron artículos científicos, revisiones bibliográficas y capítulos de libros relacionados a la búsqueda, seleccionando y filtrando por las coincidencias inicialmente en el título del artículo/revisión, utilizando las palabras “platelet”, “lectin”, “binding” “IIb-IIIa”, “platelet aggregation” y el nombre de cada una de las lectinas. Posteriormente para cubrir toda la información posible, se seleccionó por coincidencias en el contenido del artículo/revisión de estas mismas palabras clave. Debido al foco de la investigación, se dio mayor importancia a la información publicada más recientemente, pero la búsqueda cubrió bibliografía de al menos las últimas 5 décadas.

Cabe mencionar que, debido a la cantidad de lectinas existentes, se ha acotado el estudio a 20 lectinas de un kit comercial que se encuentra disponible en la página web de Vector Laboratories.

5. MARCO TEÓRICO

5.1- Plaquetas

Las plaquetas no son células como tal, sino que son fragmentos de ellas, que presentan un tamaño de 2 a 4 μm de diámetro. Al tratarse de fragmentos, las plaquetas carecen de núcleo, y esta característica es lo que les da la forma de disco biconvexo con la cual se presentan en la circulación sanguínea, con una vida media de aproximadamente unos 7 a 10 días (1). La producción de plaquetas (proceso llamado trombopoyesis) ocurre en la médula ósea, donde desde los megacariocitos, células de un tamaño aproximado de $>50 \mu\text{m}$ de diámetro, comienzan a generarse pequeñas protuberancias en su membrana, que luego crecen y eventualmente forman verdaderas protrusiones celulares que contienen varios elementos de su citoplasma, entre ellos las mitocondrias, retículo endoplásmico, factores tróficos, citoquinas, entre otros. Luego estas protrusiones se desprenden de la célula y se liberan al torrente sanguíneo, dando origen a las plaquetas (1,2). Las plaquetas activadas o senescentes son retiradas de circulación por el bazo, principalmente, bajo la acción de macrófagos (1).

5.1.1- Membrana plaquetaria y sus principales componentes

La membrana plaquetaria está constituida por una doble capa de fosfolípidos. En ella, además de otras estructuras de importancia que la conforman, se encuentran diversos tipos de proteínas, entre ellas las proteínas integrales y las periféricas, que conviven en esta bicapa fosfolipídica. La mayor parte de las proteínas del tipo integrales de membrana corresponden a glicoproteínas, es decir, una estructura proteica que posee varios sacáridos, y que fundamentalmente son expuestos hacia el exterior celular (ver tabla 1).

Esta distribución de azúcares es fundamental para la función de las plaquetas, ya que les permite la interacción con otras moléculas, y por lo tanto, al encontrarse estos sacáridos insertos en estructuras más complejas, pueden actuar como receptores para diversos ligandos “agonistas”. Los ligandos para un receptor glicoproteico pueden ser de distinta naturaleza, pueden presentarse como proteínas adhesivas, ligandos de tipo fibrosos, y otros (2).

En cuanto a la estructura de las glicoproteínas, en general, están formadas por un esqueleto peptídico unido covalentemente con una o más cadenas de carbohidratos, incluyendo en algunos casos azúcares nitrogenados (glucosamina, galactosamina, N-acetilglucosamina), sulfatados (N-acetilglucosamina 6 sulfato), con grupos carboxílicos (ácido glucurónico), etc (3).

Tabla 1. Sacáridos de la membrana plaquetaria.

Componente	Cantidad g/100 g
Carbohidratos	5,81
Glucosa	2,11
Galactosa	1,51
Manosa	0,82
Fucosa	0,09
Glucosamina	0,79
Galactosamina	0,19
Ácido siálico	0,30

Cantidad en g/100 g de azúcares en un lisado de membrana plaquetaria. Fuente: tomada y adaptada de Barber A. y Jamieson G. (1970) (4).

Se ha descrito una diversidad de glicoproteínas situadas en la membrana, y que cuentan con diferentes roles de distinto nivel de implicancia en la función plaquetaria. Entre las más importantes en cuanto a la adhesión, activación y agregación, y en cantidad de copias expresadas en la membrana plaquetaria se encuentran:

I) Glicoproteína IIb-IIIa. Es la más abundante de la membrana plaquetaria (5,6), ya que esta ocupa aproximadamente un 3% de la superficie de la célula (7). La mayor proporción de la glicoproteína se encuentra orientada hacia el espacio extracelular, donde actúa como receptor plaquetario (2). Corresponde a un complejo, que está formado por las subunidades IIb y IIIa. Estas estructuras glicoproteicas tienen un 60-88% de homología en su estructura, por lo que se consideran similares, sin embargo, ambas difieren en su composición en cantidades de aminoácidos, proteínas y carbohidratos. De estos últimos, cabe destacar que especialmente la cantidad de manosa difiere entre una subunidad y otra, ya que este sacárido está presente en mayor cantidad en la subunidad IIIa (8) (ver tabla 2).

Tabla 2. Composición de carbohidratos de las subunidades polipeptídicas IIb y IIIa

Componente	IIb	IIIa
Carbohidratos (%)		
Manosa	21	48
Galactosa	17	10
N-acetilglucosamina	21	19
Ácido siálico	Presente	Presente

Composición expresada en moles/100.000 gramos de glicoproteína. Fuente: tomada y adaptada de McEver R, Baenziger J, y Majerus P. (1982) (8).

El principal ligando de la glicoproteína IIb-IIIa, que actúa como un receptor de la superficie plaquetaria es el fibrinógeno, una proteína plasmática heterodimérica que corresponde al principal factor de coagulación de las proteínas plasmáticas. Se encuentra en la circulación sanguínea y también puede ser liberado desde los gránulos intraplaquetarios después de la activación de las plaquetas (9). El fibrinógeno en circulación no se une a su receptor hasta que la plaqueta se ha activado, ya que ante la activación de la célula, los receptores GP IIb-IIIa sufren un cambio conformacional que permite finalmente la unión del ligando a la glicoproteína en el sitio de unión al fibrinógeno que esta presenta en su estructura (10) (ver figura 1).

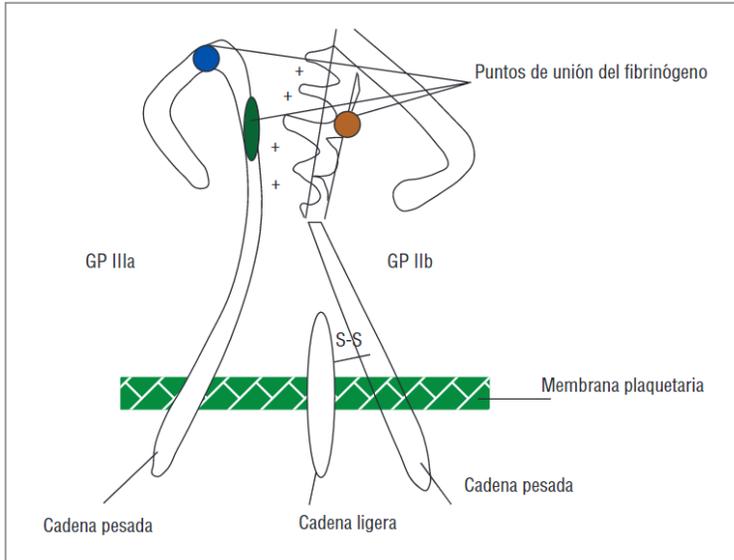


Figura 1. Complejo glicoproteína IIb-IIIa. Subunidades IIb y IIIa. Se muestra el sitio de unión de la secuencia RGD del principal ligando (azul y verde). Tomada y adaptada de Sitges M. (2000) (10).

Para que actúe como un ligando, el fibrinógeno cuenta en su estructura con una secuencia conformada por los aminoácidos arginina, glicina y ácido aspártico, la llamada secuencia RGD (11). Esta secuencia se une a la subunidad IIIa, que cuenta con un sitio de unión para RGD en su estructura, entre los aminoácidos 109 y 171 de la glicoproteína (7) (ver figura 2).

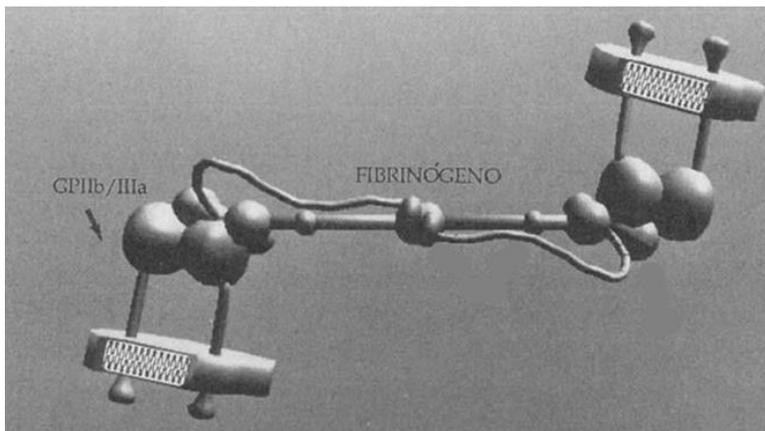


Figura 2. Esquema de la interacción de GP IIb-IIIa y fibrinógeno. Representación computarizada de una molécula de fibrinógeno con un complejo IIb-IIIa unido a cada extremo. La membrana plaquetaria se representa como un parche de bicapa lipídica. Tomada y adaptada de Weisel J. (1992) (12).

II) Glicoproteína Ib-IX es otro de los principales receptores glicoproteicos de la membrana, en cuanto a cantidad y a su rol en función plaquetaria (13). Este receptor de membrana cumple un rol fundamental en el proceso de adhesión a la pared vascular dañada. Está compuesta por las subunidades IX y Ib, esta última que subdivide su estructura en las glicoproteínas en Ib α y Ib β . El factor von Willebrand (VWF), principal ligando de la glicoproteína se une a la subunidad Ib α , que presenta el dominio de unión al ligando en su extremo aminoterminal (N-terminal) (14) (ver figura 3).

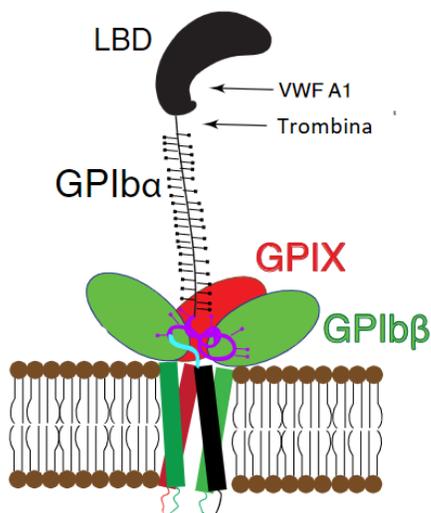


Figura 3. Complejo glicoproteína Ib-IX. Subunidades Ib α (negro), Ib β (verde) y IX (rojo). Se muestra el dominio de unión al ligando (LBD), con sus sitios de unión al factor von Willebrand (VWF) y el sitio de unión a trombina en subunidad Ib α . Tomada y adaptada de Quach M y Li R. (2020) (14).

El factor von Willebrand es una glicoproteína multimérica que se encuentra en circulación en el plasma, a una concentración de 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Se encuentra también en los gránulos de las plaquetas y en las células endoteliales (en los cuerpos de Weibel-Palade), desde donde se puede liberar (15). En circulación normal, el VWF no se une al complejo GP Ib-IX, o la interacción ocurre con baja afinidad. Cuando es inmovilizado en el subendotelio el dominio A1 sufre un cambio conformacional que lo convierte en un ligando de alta afinidad por el complejo glicoproteico Ib-IX (16).

El VWF se une allí por medio del dominio A1 presente en su estructura y presenta también un sitio de unión a la glicoproteína IIb-IIIa situado en el dominio C1 (17). Además del sitio de unión a VWF, el extremo N-terminal de la subunidad Ib α cuenta también con un sitio de unión para otro ligando del receptor Ib-IX, la trombina (14) (ver figura 3). La subunidad glicoproteica Ib expone a la superficie residuos del sacárido N-acetilglucosamina (18).

III) Glicoproteína VI. Este receptor plaquetario presenta una cantidad aproximada de 9.600 copias de la molécula en la superficie, que constan de dos dominios de inmunoglobulina de tipo extracelular. De estos dominios, uno presenta la unión a ligando y uno de señalización intracelular. Ambos dominios se presentan en subunidades distintas. Dentro de su estructura, la glicoproteína VI presenta también un tallo glicosilado rico en mucina, una región transmembrana y una cola intracelular que contiene una señalización ITAM (ver figura 4). La glicoproteína VI está implicada en la adhesión al colágeno y la fibrina, sus principales ligandos (19).

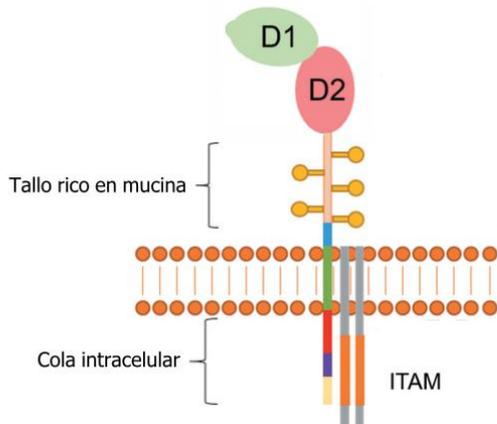


Figura 4. Complejo glicoproteína VI. Dominios extracelulares (D1 y D2), tallo rico en mucina y cola que contiene señalización ITAM. Tomada y adaptada de Clark J (2021) (20).

5.1.2- Función plaquetaria

La función principal de las plaquetas es el mantenimiento de la hemostasia, que juega un papel crítico en la trombosis, donde se encuentra relacionada con diversos procesos fisiológicos y patológicos, mediante sus interacciones con otras células (ej. sanguíneas o endoteliales) y con otros componentes de la hemostasia y del entorno, donde tienen la capacidad de adaptarse (21). Se han encontrado diversas funciones también fuera del contexto de hemostasia y trombogénesis, como su participación en la inflamación, inmunidad, angiogénesis, entre otros (22). Por ejemplo, las plaquetas participan de procesos inmunológicos mediante la secreción de citoquinas, quimioquinas y moduladores de células inmunes (23). Otro ejemplo es su participación en la angiogénesis, donde las plaquetas generan micropartículas capaces de promover la proliferación, supervivencia, migración y formación de tubos en células endoteliales (24).

5.1.3- Interacción plaqueta-endotelio: activación, secreción y agregación plaquetaria

Las plaquetas en la circulación sanguínea no se activan ni agregan en condiciones normales, esto ocurre luego de que se ha producido alguna alteración en el vaso sanguíneo, ante un daño del endotelio. Cuando esto ocurre, se expone colágeno desde la región subendotelial (25,26). Mediante la región RGD del factor de von Willebrand, la glicoproteína Ib-IX, receptor de la membrana plaquetaria, se une al colágeno expuesto por el endotelio, generando el proceso de adhesión plaquetaria (27). Una vez adherida la plaqueta, es activada mediante esta interacción inicial y por estímulos fisiológicos, que inducen un cambio de forma en la plaqueta (28) y, este cambio conformacional de la célula desencadena la acción autocrina y paracrina de la plaqueta (29).

La plaqueta cuenta en su interior con distintos tipos de gránulos, entre los de mayor importancia los gránulos densos y alfa, que contienen diversidad de sustancias. Una vez que la célula es activada secreta desde sus gránulos densos serotonina, ATP, ADP, calcio y pirofosfato (30), y desde sus gránulos α moléculas como P-selectina, trombina, proteínas adhesivas, inhibidores de proteasa, proteoglicanos, factor von Willebrand y otros factores de coagulación (31). Estos son mediadores que mantienen la activación ocurrida de forma inicial, y amplifican el proceso, reclutando plaquetas que continúan en circulación (29).

La interacción de la glicoproteína VI con el colágeno, induce un complejo de señalización por medio de fosforilaciones, donde participan secuencias ITAM, tirosina quinasa SyK, fosfolipasa C 2 (PCL2), entre otros, eventos que conducen a la síntesis de tromboxano A2, activación de integrinas y secreción de gránulos, activando aún más las plaquetas y favoreciendo su agregación.

De igual forma, la interacción glicoproteína-ligando de la glicoproteína IIb-IIIa con fibrinógeno, factor von Willebrand y otros ligandos de la proteína, inducen una señalización “*inside-out*”, donde por medio de ITAM y PLC2, se incrementa el proceso de adhesión, agregación plaquetaria, finalizando el proceso con la formación de trombos (32) (ver figura 5).

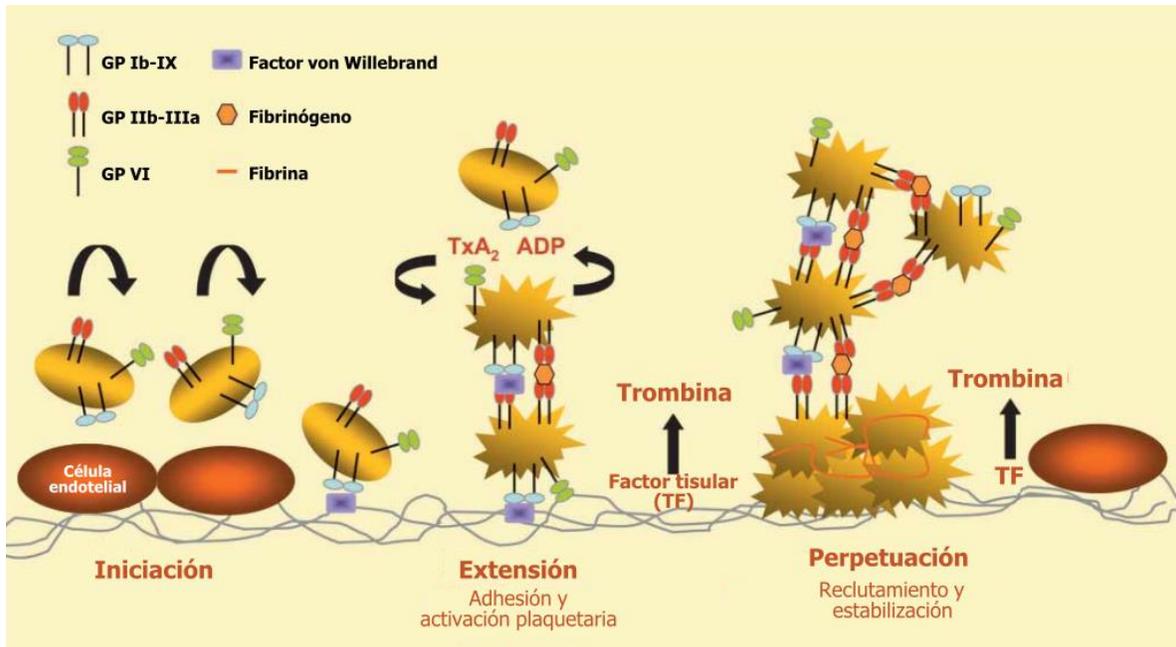


Figura 5. Formación del tapón plaquetario. Ante una lesión vascular, se expone colágeno y factor von Willebrand. Las plaquetas en circulación se adhieren formando una monocapa de plaquetas activadas, impulsando la liberación de difosfato de adenosina (ADP) y tromboxano A₂ (TxA_2) de las plaquetas adheridas, amplificando la activación plaquetaria. La trombina generada por el factor tisular (TF) producido localmente también es un activador, el más potente. En la etapa de perpetuación, la interacción plaquetaria promueve el crecimiento y estabilización del tapón plaquetario. Tomada y adaptada de Jennings L. (2009) (33).

5.1.4- Hiperactividad plaquetaria asociada a comorbilidades

Así como en condiciones fisiológicas ocurre por medio de diferentes vías la activación y amplificación del proceso de agregación plaquetaria, existen también diversos mecanismos fisiopatológicos que resultan en una actividad aumentada de la plaqueta, por sobre el umbral de la normalidad. Diferentes patologías pueden ser la causa, o tener como consecuencia un aumento en la trombogenicidad del paciente, obteniendo como resultado consecuencias que pueden llegar a ser graves o mortales.

Entre estas patologías encontramos la diabetes. Un paciente diabético presenta un cuadro de disfunción plaquetaria que incluye alteraciones en la adherencia y agregación. Esta condición está dada por una hipersensibilidad a los agonistas plaquetarios, que ocurre por medio de alteraciones como el aumento de la generación de trombina y tromboxano A2 (una de las primeras anormalidades descubiertas en pacientes diabéticos), un aumento de expresión de moléculas de adhesión a la superficie y que inducen la activación plaquetaria (como CD31, CD49b, CD62P y CD63), reducción de la síntesis vascular de antiagregantes plaquetarios como el óxido nítrico, entre otras alteraciones. En la superficie plaquetaria ocurre un aumento en la expresión de receptores, principalmente de las glicoproteínas P-selectina, IIb-IIIa y Ib, posiblemente debido a la glicosilación no enzimática de proteínas receptoras a causa de la hiperglicemia constante de estos individuos. Las alteraciones lipídicas del paciente diabético también juegan un rol importante en la disfunción plaquetaria, ya que niveles elevados de triglicéridos, lipoproteínas de alta densidad (HDL) y baja densidad (LDL) interfieren con la fluidez de la membrana plaquetaria y los sistemas y señalizaciones intracelulares. El uso de inhibidores de los receptores IIb-IIIa beneficia a las poblaciones de pacientes de alto riesgo trombogénico (34).

Se ha observado también este fenómeno de hiperactividad plaquetaria en pacientes con obesidad, en particular aquellos que presentan obesidad de tipo androide (abdominal, mayor relación cintura-cadera) en comparación con otras obesidades como la ginecoide (cadera-muslos) que, si bien genera una hiperactividad plaquetaria, esta se da en menor medida. Estos individuos presentan niveles elevados de activación plaquetaria mediada, de igual manera que en la diabetes, por un aumento de la expresión de la glicoproteína P-selectina en la membrana plaquetaria, receptor implicado en el rodamiento de las plaquetas en células endoteliales activadas por una lesión, promoviendo la trombogénesis. Este proceso se ve favorecido además por el aumento del volumen plaquetario medio (tamaño de las plaquetas) en estos pacientes (35).

En el caso de los pacientes con hipertensión arterial, se ha encontrado que presentan alteraciones morfológicas en las plaquetas, estas son de tamaño aumentado y presentan una granularidad más baja en relación a una plaqueta normal. En la hipertensión, las plaquetas generan agregación de forma espontánea y una mayor sensibilidad a los agonistas. Esto está dado porque el aumento de la presión arterial genera una disfunción del endotelio, asociada con el estrés oxidativo. Ante dichas alteraciones, las plaquetas producen más especies reactivas del oxígeno (ROS) que reducen el óxido nítrico producido por el endotelio (y reducido también por la disfunción endotelial), potenciándose la activación plaquetaria y los eventos trombóticos (36).

En el caso de patologías como los distintos tipos de cáncer, se ha demostrado que estos pacientes presentan una aumentada hiperreactividad plaquetaria, y en mayor medida en pacientes con cáncer metastásico. Esto ocurre a causa de los procesos de inflamación que genera dicha patología, principalmente en esta fase. Los procesos inflamatorios generan la activación plaquetaria por medio del colágeno, sin embargo, la hiperactividad no se genera sólo por esta vía, sino que las plaquetas presentan una sensibilidad aumentada por múltiples agonistas. En consecuencia, se produce una mayor expresión de P-selectina en la superficie de la membrana, lo que amplifica aún más el proceso de activación y agregación plaquetaria en pacientes metastásicos, aumentando considerablemente el riesgo de producir trombos en la circulación sanguínea (37). Además, se ha reportado que los pacientes con cáncer también presentan un aumento de tamaño de la plaqueta, factor de riesgo para la trombogénesis (38).

Estas patologías que cuentan con una alta prevalencia en la población, entre otras menos comunes, pueden traer como consecuencia diversas enfermedades del tipo trombóticas, entre las que se encuentran arteriopatía coronaria (39) tromboembolismo venoso (40), enfermedad cardíaca valvular (41), entre otras. Se ha descrito que la secreción de sustancias por parte de las plaquetas activadas acelera la progresión de placas ateroscleróticas tempranas y eventos trombóticos agudos (42). De allí la importancia de la terapia antitrombótica oportuna, efectiva y con la menor cantidad de eventos adversos o efectos secundarios posibles.

5.1.5- Bloqueo de receptores plaquetarios como diana terapéutica

Actualmente existen tres tipos de tratamientos antitrombóticos para prevenir la formación de trombos arteriales y sus complicaciones asociadas: los inhibidores de tromboxano, de receptores de ADP y los inhibidores de la glicoproteína I**IIb-IIIa** (43).

Entre los inhibidores de GP I**IIb-IIIa**, se encuentran distintos tipos de métodos terapéuticos con diferentes mecanismos de acción, pero con un mismo efecto. El primer método de bloqueo de la glicoproteína fue el uso de anticuerpos monoclonales con especificidad por I**IIb-IIIa**, bloqueando la acción del receptor (44). Los anticuerpos monoclonales se unen a los receptores y se fijan a ellos de manera que logran bloquear su acción, y de esta forma disolver los trombos plaquetarios que comienzan a formarse en la superficie de colágeno expuesto por el endotelio dañado (ver figura 6). Este bloqueo de la señalización por medio de anticuerpos se mantiene a lo largo de toda la vida de la plaqueta. Para este tipo de tratamiento, se ha obtenido como resultado diversos anticuerpos, ya que se ha intentado realizar modificaciones en los primeros anticuerpos anti-GP I**IIb-IIIa** para reducir su inmunogenicidad.

Sin embargo, a pesar de que se han desarrollado distintos anticuerpos monoclonales, se considera aún que este tratamiento pueda estar teóricamente limitado por la capacidad inmunogénica que puedan presentar, lo que puede traer como consecuencia en ocasiones una condición de trombocitopenia severa, ya que, al ser la unión del anticuerpo al receptor una interacción irreversible, ocurre una prolongada acción de la terapia, ocasionando dicha patología (10).

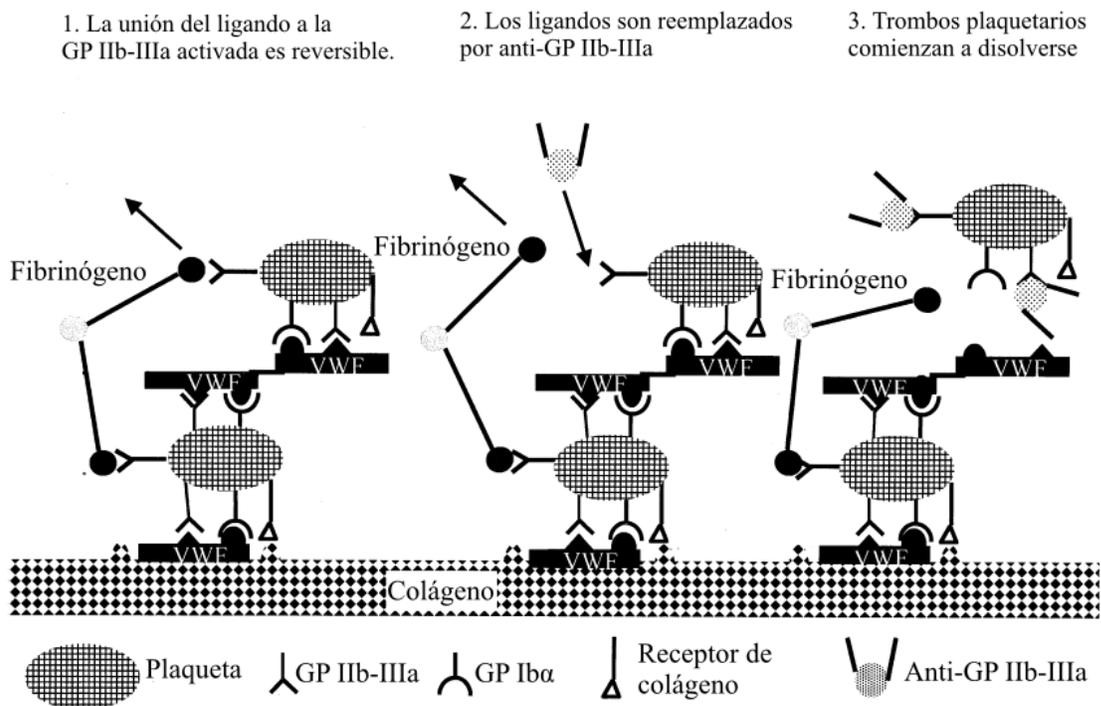


Figura 6. Efectos de disolución de trombos plaquetarios de anticuerpos anti-GP IIb-IIIa. Se muestra el posible mecanismo de anti-GP IIb-IIIa para disolver trombos formados en la superficie de colágeno. Tomada y adaptada de Goto S. (2004) (45).

Debido a que existen efectos secundarios a la terapia realizada con anticuerpos monoclonales, es que se han desarrollado otros métodos de bloqueo para el receptor glicoproteico IIb-IIIa. Inicialmente se buscó diseñar un bloqueador de la glicoproteína del tipo competitivo por el dominio de unión del ligando al receptor, por lo que considerando la estructura del fibrinógeno, principal ligando de la glicoproteína, se puso especial atención en la secuencia RGD (11).

En un comienzo se descubrieron sustancias que contienen la secuencia RGD en su estructura y se aislaron. Entre estas sustancias, se utilizó una proteína del tipo desintegrina, que fue purificada del veneno de víbora de algunas especies de India. Se puso especial atención en estas desintegrinas ya que se evidenció que la inyección del veneno de estas serpientes desencadena alteraciones hemostáticas.

Se encontró que este veneno contiene en uno de sus bucles una secuencia de arginina, glicina y ácido aspártico, por lo que puede unirse y bloquear a al receptor IIb-IIIa (46). A pesar de que el extracto del veneno, al contener la secuencia RGD cumple el objetivo de bloquear al receptor, estas desintegrinas naturales pierden su utilidad como terapia antitrombótica porque resultan ser demasiado antigénicas para que se les pueda dar un uso clínico en humanos. Aunque no se usan para tratamiento como tal por dicha característica, se han utilizado como una base para el desarrollo de otros tipos de terapia, como los péptidos sintéticos en base a su secuencia ya conocida (10).

A pesar de que se esperaba que estos péptidos resultaran ser una buena opción como antitrombóticos, inicialmente estos péptidos sintéticos no tuvieron éxito, ya que se diseñaron con una estructura lineal que resultó en una molécula muy inestable, por lo tanto, ineficaz para un tratamiento antitrombótico. Se realizaron diversas pruebas para mejorar estos péptidos, como la ciclación de estas moléculas, lo que logró proporcionar una mayor estabilidad a la estructura y también una mayor potencia de acción, sin embargo, no resultó suficiente para lograr el objetivo de bloquear el receptor y que esta acción fuese más prolongada. También se probó utilizar como base la secuencia RGD sustituyendo una arginina por una lisina, obteniendo una secuencia KGD.

Actualmente se ha continuado con el desarrollo de terapias basadas en un enfoque de tipo competitivo por el sitio de unión de la secuencia, y se han diseñado fármacos en los que se obtuvo finalmente moléculas de mayor estabilidad y con mayor tiempo de vida que los péptidos sintéticos. Esto se ha logrado mimetizando la secuencia RGD, mediante la síntesis de moléculas de derivados peptídicos y no peptídicos (10).

Debido a que los métodos antitrombóticos que tienen como diana el bloqueo de la glicoproteína IIb-IIIa no han tenido completo éxito, ya sea por los efectos secundarios que estos pueden generar en el paciente, o por las características de los compuestos utilizados, como en el caso de los péptidos sintéticos donde no se logró obtener una molécula estable para cumplir de una manera óptima el resultado esperado o por la antigenicidad que ellos presentan, es que se continúa la búsqueda de nuevos métodos para bloquear al receptor GP IIb-IIIa, considerando la importancia que tiene esta glicoproteína en el proceso de agregación plaquetaria.

De esta búsqueda de nuevas terapias y considerando los resultados que se ha obtenido en el desarrollo de los métodos anteriores, ha surgido la idea de realizar un estudio detallado de las lectinas y sus características, interacciones, especificidades y aspectos importantes para evaluar su posible uso como un nuevo antiagregante, teniendo este método como diana también a la glicoproteína IIb-IIIa y el bloqueo de dicho receptor, del cual se conocen las características estructurales, que toman gran relevancia, y funcionales.

5.2- Lectinas

Las lectinas son proteínas que tienen la habilidad de reconocer y unir carbohidratos presentes en otras células y/o proteínas, por medio de al menos dos sitios de unión a carbohidratos en su estructura, que le dan una especificidad por diferentes estructuras de distintos sacáridos (47). Cabe mencionar que estas proteínas no son de origen inmune ni tampoco tienen actividad enzimática (48). Las lectinas provienen de todos los reinos de la vida, siendo las más estudiadas y utilizadas las de origen vegetal, que se encuentran conformadas por subunidades ordenadas en dímeros o tetrámeros caracterizándose por su capacidad de reconocer específicamente a carbohidratos mediante enlaces tipo puentes de hidrógeno, enlaces iónicos, interacciones hidrofóbicas, entre otras, que dan estabilidad a dicha interacción (49). En los vegetales las lectinas permiten el contacto y comunicación de célula a célula; esta comunicación dispone a las plantas de mecanismo de defensa en respuesta a factores estresantes, por ejemplo, los ataques patogénicos por agentes nocivos.

Fuera de su función original, las lectinas se han utilizado como marcadores de distintos tipos celulares, por su afinidad a componentes en la membrana, y han sido implementadas tanto en investigación como en la tipificación de grupos sanguíneos humanos, por su capacidad de aglutinar eritrocitos, dado que algunas presentan interacción por grupos sanguíneos específicos, siendo conocidas por su uso principalmente como hemaglutininas. Se ha descrito también la capacidad mitogénica que muestran estas proteínas sobre linfocitos, donde pueden inducir una transformación de estas células a linfocitos inmaduros o linfoblastos (50,51). Estudios recientes han utilizado las lectinas como marcadores celulares, por ejemplo, *Ulex Europaeus I* que resulta ser un buen marcador para células cancerígenas provenientes de endotelio. *Griffonia Simplicifolia Lectin I* se ha utilizado como marcador de células epiteliales, *Peanut Agglutinin* y otras lectinas se han utilizado como marcadores de superficie linfocitaria (52–56).

Se ha realizado una búsqueda exhaustiva de información y un posterior estudio detallado de 20 lectinas vegetales que se encuentran disponibles en un formato de kit comercial destacando características relevantes de cada una de ellas para esta investigación, orientado a su posible uso como antiagregante plaquetario por medio del bloqueo del receptor glicoproteico IIb-IIIa.

5.2.1- Concanavalin A (Con A)

Concanavalin A, es una lectina de origen vegetal aislada por primera vez de frijoles de la planta *Canavalia ensiformis*. Sus propiedades mitogénicas han permitido su uso en cultivos de linfocitos para estimular la proliferación celular. En cuanto a su estructura, esta lectina está conformada por subunidades que se asocian en conformaciones de dímeros o tetrámeros (dependiendo del pH, 6 y 7, respectivamente). Los monómeros, cuentan con sitios de unión para un ión Mn^{+2} , un ión Ca^{+2} y una molécula de sacárido específico por manosa y glucosa (57,58).

5.2.2- Dolichos Biflorus Agglutinin (DBA)

Esta lectina de origen vegetal, extraída de las semillas de la planta *Dolichos biflorus* corresponde a un tetrámero compuesto por dos tipos de subunidades, que tienen gran similitud entre ellas. La subunidad más grande, es la que presenta un sitio de unión para carbohidratos. DBA tiene especificidad por *N-acetil-D-galactosamina*. Se ha descrito que esta lectina se ha utilizado como aglutinante de eritrocitos de grupo sanguíneo A (59,60).

5.2.3- Peanut Agglutinin (PNA)

PNA es una lectina leguminosa, extraída de la planta *Arachis hypogaea* conformada por cuatro subunidades iguales, es una lectina homotetramérica, que presenta especificidad por residuos de galactosa/N-acetil-galactosamina, y una alta especificidad por el disacárido antigénico T Gal β 1-3-N-acetil-galactosamina (47,61). Se denomina aglutinina porque aglutina los eritrocitos de la misma forma que lo hace el anticuerpo anti-T, denominándola como “aglutinina anti-T” (62).

5.2.4- Ricinus Communis Agglutinin I (RCA I)

Ricinus Communis agglutinin I es una lectina proveniente de la semilla de *Ricinus communis*, que presenta especificidad por glicoproteínas y glicolípidos que contienen en su estructura galactosa, y también reconoce lactosa. Es un heterodímero, conformado por monómeros compuestos por dos cadenas tipo A y tipo B, siendo esta última la que presenta el dominio de unión a carbohidratos (63). Se ha utilizado RCA I como hemaglutinina (63,64).

5.2.5- Soybean Agglutinin (SBA)

Soybean agglutinin es una lectina de origen vegetal, extraída de una planta de la familia de las leguminosas, *Glycine max* (soja), cuya conformación corresponde a un tetrámero con subunidades iguales, que presentan dos sitios de unión a sacáridos, que interactúan fuertemente con 2-acetamido-2-desoxi-D-galactosa y más débilmente con N-galactosa. Además de ser utilizada para aglutinar eritrocitos, se ha descrito que SBA también aglutina células malignas (65,66).

5.2.6- *Ulex Europaeus Agglutinin I* (UEA I)

Ulex Europaeus Agglutinin I es una lectina de estructura dimérica con especificidad por L-fucosa, extraída de la semilla de *Ulex europaeus* (Aulaga común). UEA I se ha utilizado en diversos estudios como aglutinina de eritrocitos, y se descubrió que aglutina de forma específica los eritrocitos del grupo sanguíneo O (67–69).

5.2.7- *Wheat Germ Agglutinin* (WGA)

Wheat Germ Agglutinin, pertenece a la familia *Poaceae* comúnmente conocidas como gramíneas, cuenta con una estructura dimérica con un alto contenido de cistina y glicina, presentando especificidad por N-acetilglucosamina. Se le ha nombrado aglutinina por su capacidad de aglutinar eritrocitos, uno de los usos más comunes descritos para WGA (70,71).

5.2.8- *Griffonia Simplicifolia Lectin I* (GSL I)

Isoforma que se obtiene del extracto de semillas de *Griffonia Simplicifolia*. Tiene una estructura tetramérica conformada por dos tipos de subunidades diferentes, una subunidad A, que presenta especificidad por N-acetil-galactosaminilo, y una subunidad B, que tiene especificidad por α -D-galactosa. Se ha descrito el uso de esta lectina como marcador de células epiteliales (52,72).

5.2.9- *Lens Culinaris Agglutinin (LCA)*

La lectina LCA, de especificidad por glucosa y manosa, se une a la membrana plaquetaria, y aumenta su afinidad posterior al tratamiento de plaquetas con trombina, debido a que se exponen los sitios de unión a lectina en la parte central del sistema canalicular conectado con la superficie plaquetaria (73,74). Se ha descrito a LCA como una aglutinina de células cancerígenas, conformada generalmente por dímeros o tetrámeros (49,75).

5.2.10- *Phaseolus Vulgaris (PHA)*

PHA es una lectina vegetal aislada de semillas, particularmente frijoles de *Phaseolus Vulgaris*, con especificidad por D-galactosa. Tiene una conformación tetramérica donde la combinación de dos subunidades distintas forma 5 isolectinas, entre ellas, PHA-E, que presenta actividad eritroaglutinante y PHA-L, que tiene acción estimulante de linfocitos (76–78).

5.2.11- *Pisum Sativum Agglutinin (PSA)*

PSA es una lectina vegetal aislada de semillas de guisante de la planta *Pisum Sativum*, conocida comúnmente como arveja. Esta lectina leguminosa se encuentra como un dímero, conformado de cadenas α y β , con afinidad por α -manosa y α -glucosa (79). Al igual que otras lectinas, ha sido utilizada por su capacidad mitogénica sobre cultivos de linfocitos (79–81).

5.2.12- Succinylated Wheat Germ Agglutinin (sWGA)

Este derivado succinilado de la lectina *Wheat Germ Agglutinin* tiene afinidad por N-acetilglucosamida (82). Se ha utilizado sWGA para detectar la exposición de residuos de N-acetil glucosamina β 1-4 N-acetil glucosamina (β -GlcNAc) en glicoproteínas de la membrana plaquetaria (83).

5.2.13- Datura Stramonium Lectin (DSL)

Esta lectina vegetal es extraída de la semilla de la planta *Datura Stramonium*. Esta proteína es un dímero compuesto por subunidades diferentes, con especificidad por residuos de galactosa β 1-4 expuesta N-acetilglucosamina (Gal β) y β -GlcNAc (84,85). Uno de los usos más comunes en el ámbito de investigación es su interacción con la glía y el material extracelular asociado a ella, la inducción de la diferenciación y unión a la superficie de células gliales (86,87).

5.2.14- Erythrina Cristagalli Lectin (ECL)

ECL es una lectina proveniente de la semilla de *Erythrina Cristagalli*. La glicoproteína está conformada por dos subunidades con especificidad por N-acetilgalactosamina (88,89). Esta lectina ha sido utilizada como marcador por su afinidad a tejidos y tiene la capacidad de inducir la diferenciación de células madre pluripotentes humanas (90,91).

5.2.15- *Griffonia Simplicifolia Lectin II (GSL II)*

A diferencia de la GSL I, esta lectina se extrae de la hoja de *Griffonia Simplicifolia*. Compuesta por dos subunidades, una de las cuales que presenta afinidad por N-acetilglucosamina (92). Se ha descrito que esta lectina tiene la capacidad de unirse a células gliales (93).

5.2.16- *Jacalin*

Jacalin es una lectina tetramérica compuesta por cadenas α y de 2 a 4 cadenas β , extraída de la semilla de yaca. Esta lectina tiene especificidad por manosa y galactosa (94,95). Se han descrito sus usos como un nuevo marcador de superficie celular de histiocitos, específicamente (96).

5.2.17- *Lycopersicon Esculentum (Tomato) Lectin (LEL)*

Glicoproteína que contiene la misma cantidad de carbohidratos y proteínas en su estructura, y se obtiene al extraerla del líquido del tomate. LEL presenta especificidad por N-acetilglucosamina (97). En cuanto al ámbito de investigación, esta lectina ha sido útil como marcador endotelial, siendo eficaz para el marcaje y visualización de vasos sanguíneos normales y tumorales en el sistema nervioso central, y se ha utilizado para marcaje de células endoteliales coriocapilares (98,99).

5.2.18- *Solanum Tuberosum (Potato) Lectin (STL)*

Esta lectina extraída de la papa es una glicoproteína conformada por dos subunidades iguales. STL presenta afinidad por GlcNAc (100,101). Además de su acción hemaglutinante, un estudio ha demostrado que *Solanum tuberosum* tiene actividad aglutinante sobre ciertas cepas de la bacteria *Pseudomonas solanacearum* (102,103).

5.2.19- *Vicia Villosa Lectin (VVL)*

Se ha descrito que existen diferentes isolectinas de VVL, conformadas por dos subunidades diferentes con distintas actividades de unión por carbohidratos, una subunidad A y una B. Extraída de semillas de *Vicia Villosa*, con especificidad por α -D-GalNAc (104,105). Se han descrito ampliamente sus usos en el marcaje de membrana de células T (106).

5.3- Interacción lectina-plaqueta

Se ha descrito la interacción de diferentes lectinas con la membrana plaquetaria, en cuanto a la posible unión a la membrana por medio de receptores plaquetarios y los procesos que puede desencadenar dicha interacción, como la activación de la plaqueta, y su consecuente secreción del contenido de gránulos y agregación plaquetaria. Se ha identificado los siguientes grupos:

I) Lectinas que se unen a la membrana plaquetaria desencadenando los procesos de activación, secreción y agregación. *Concanavalin A* tiene unión con el receptor glicoproteico IIb-IIIa (47); la unión de esta lectina al receptor, induce la agregación plaquetaria en menor medida que la inducida por el ligando, sin embargo produce cambios estructurales en la membrana que generan la secreción del contenido de sus gránulos, liberando serotonina, cuya cantidad secretada depende de la concentración de la lectina; en otros estudios también ha descrito que esta interacción lectina-plaqueta induce en la célula la secreción de ADP en menor medida que serotonina (107–110).

Ocurre de igual forma en el caso de la lectina RCA I, se ha descrito que presenta unión por glicoproteínas de alto peso molecular, y se sugiere que se une al factor VIII, y de forma más débil a IIb y IIIa; se demostró la agregación plaquetaria inducida por la unión de la lectina a la membrana plaquetaria, además de la secreción del contenido de gránulos, específicamente de serotonina (73,109,111).

Se ha documentado que la lectina *Phaseolus Vulgaris*, específicamente la isolectina PHA-L también puede unirse a la membrana plaquetaria y por medio de esta interacción estimular los procesos de agregación plaquetaria, así como la secreción de serotonina contenida en gránulos (112,113).

Se describe que *Wheat Germ Agglutinin* tiene una acción similar a la generada por los propios agonistas fisiológicos sobre la plaqueta, produciendo en ellas un cambio conformacional, la agregación plaquetaria y secreción de serotonina, mediante su interacción con el receptor glicoproteico Ib, por el cual compite con su ligando, el factor von Willebrand (109,114,115).

II) Lectinas y plaquetas tratadas con neuraminidasa. La lectina PNA se une a la membrana plaquetaria mediante la interacción con la glicoproteína Ib luego del tratamiento con neuraminidasa, debido a que esta última produce la eliminación del ácido siálico de la membrana plaquetaria; esta unión no ocurre previo al tratamiento, sino que la unión sólo se genera cuando la lectina interacciona con plaquetas libres de ácido siálico; luego del tratamiento con neuraminidasa, se describe que la lectina induce la agregación plaquetaria y la secreción de serotonina desde sus gránulos (13,61,111).

Estudios indican que SBA no presenta unión a la membrana de plaquetas normales, pero puede unirse, provocar la agregación plaquetaria y la secreción de serotonina con un previo tratamiento de las plaquetas con neuraminidasa, teniendo acción la lectina sobre desialo-plaquetas (107,111); una investigación demostró que en plaquetas normales la lectina SBA puede interactuar con la membrana por medio de glucolípidos (13).

III) Lectinas que se unen a la membrana plaquetaria y que no desencadenan procesos de secreción y/o agregación. Es el caso de la lectina PSA, que tiene interacción con la membrana plaquetaria, sin producir la agregación ni secreción de la célula (109,116). Lo mismo ocurre en el caso de la lectina *Lens Culinaris*, estudios han demostrado que no estimula la agregación plaquetaria, sin embargo, uno de ellos indica que la unión de la lectina a la membrana plaquetaria indujo la secreción de serotonina (109,115,117). Se ha documentado que STL presenta unión a la membrana, lo que produce la agregación plaquetaria, pero no induce la secreción (101,118).

En cuanto a la lectina DBA, se une a receptores en la membrana plaquetaria, sin embargo, en otras publicaciones se indica que la lectina no tendría unión a la membrana plaquetaria, ni tampoco acción activante y/o agregante sobre la plaqueta (113). *Erythrina Cristagalli* se une a la membrana plaquetaria por medio de su interacción con la glicoproteína Ib- α (119), sin embargo se desconoce si esta interacción induce la agregación o secreción plaquetaria.

Cabe destacar el caso particular de la lectina DSL, que se ha utilizado para marcaje debido a su afinidad por sacáridos de la membrana plaquetaria (85), actuando además como un antiagregante plaquetario, ya que presenta una actividad quelante de metales (120).

No se ha descrito la unión con la membrana plaquetaria, ni la acción que tengan las lectinas UEA I, GSL I, sWGA, GSL II, Jacalin, LEL y VVL sobre agregación o secreción en estas células. En cuanto a PHA-E, sólo se conoce la acción de la lectina en general, sin embargo, no para esta isolectina en específico (93).

Tabla 3. Resumen interacción lectina-plaqueta

	Lectina	Especificidad	Unión a membrana	Activación plaquetaria	Secreción serotonina	Agregación plaquetaria
1	Con A	Manosa, Glucosa	+	+	+	+
2	DBA	N-acetil-D-galactosamina	+/-	-	S/I	-
3	PNA	Galactosa-N-acetilgalactosamina	+ (neuraminidasa*)	+ (neuraminidasa)	+ (neuraminidasa)	+ (neuraminidasa)
4	RCA I	Galactosa, Lactosa	+	+	+	+
5	SBA	2-acetamido-2-desoxi-D-galactosa	+ (neuraminidasa)	+ (neuraminidasa)	+ (neuraminidasa)	+ (neuraminidasa)
6	UEA I	L-fucosa	S/I	S/I	S/I	S/I
7	WGA	N-acetilglucosamina	+	+	+	+
8	GSL I	N-acetilgalactosaminilo	S/I	S/I	S/I	S/I
9	LCA	Manosa, Glucosa	+	+	+	-
10	PHA-E	Galactosa	+	+	+	+
10	PHA-L	Galactosa	+	+	+	+
11	PSA	α -manosa, α -glucosa	+	-	-	-
12	S. WGA	N-acetilglucosamina	S/I	S/I	S/I	S/I
13	DSL	β -GlcNAc, N-acetilglucosamina	+	S/I	S/I	S/I
14	ECL	N-acetilgalactosamina	+	S/I	S/I	S/I
15	GSL II	N-acetilglucosamina	S/I	S/I	S/I	S/I
16	Jacalin	Manosa, Galactosa	S/I	S/I	S/I	S/I
17	LEL	N-acetilglucosamina	S/I	S/I	S/I	S/I
18	STL	N-acetilglucosamina	+	S/I	-	+
19	VVL	α -D-N-acetilglucosamina	S/I	S/I	S/I	S/I

Fuente: elaboración propia.

¹Presenta unión/efecto (+)

²Información contradictoria (Con y sin unión; +/-)

³Sin información (S/I)

⁴No presenta unión/efecto (-)

*Neuraminidasa: enzima de origen viral que disocia el enlace glicosídico entre el ácido siálico y la unidad de sacárido adyacente (121).

5.4- Lectinas como posibles bloqueadores de GP IIb-IIIa

La glicoproteína IIb-IIIa es uno de los receptores que se encuentra en mayor cantidad en la superficie plaquetaria, y debido a esta gran cantidad de copias que expresa la membrana es que juega un importante rol en los procesos de adhesión, activación y agregación plaquetaria (23). Es por esta razón que se ha apuntado las estrategias terapéuticas al bloqueo de este receptor, inhibiendo dichos procesos y evitando la generación de trombos y las enfermedades asociadas (29). Para desarrollar los distintos métodos es necesario conocer no solo la función de la glicoproteína, sino que también la estructura del receptor, poniendo especial atención en la porción extracelular, expresada en la membrana plaquetaria. La glicoproteína IIb-IIIa expone hacia el exterior sacáridos como galactosa, N-acetilglucosamina y en mayor proporción manosa (7).

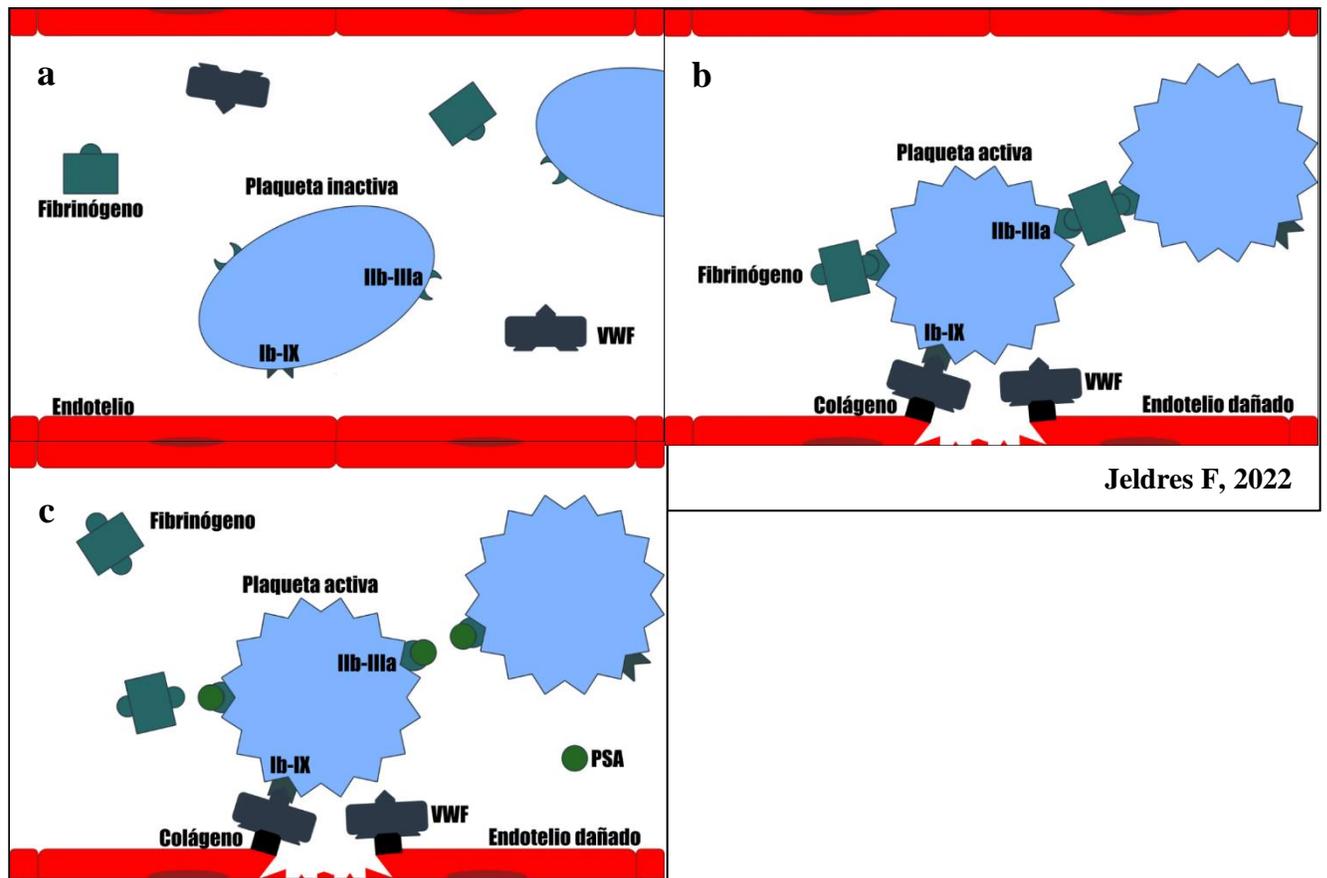
Debido al poco éxito que se ha obtenido con las terapias antiagregantes que se han desarrollado, y a pesar de que se ha intentado mejorar cada uno de los tratamientos que tienen por objetivo bloquear a este receptor, no se ha logrado el objetivo en su totalidad, ya que resultan métodos inestables o traen como consecuencia efectos secundarios en los pacientes a los que se han administrado, por lo que este estudio se ha enfocado en la búsqueda de una nueva terapia antitrombótica. Al realizar un estudio detallado de la naturaleza y la especificidad de un determinado número de lectinas, y la forma en que cada una de ellas interacciona con la plaqueta en cuanto a unión a la membrana y el efecto que ello genera en la célula es que se ha considerado las lectinas como un posible bloqueador de la glicoproteína IIb-IIIa, lo que traería como consecuencia evitar la formación de trombos en patologías que involucran hiperactividad plaquetaria.

Este estudio ha evidenciado que no todas las lectinas son de utilidad para dicho propósito: que puedan comportarse como un bloqueador del receptor depende de la capacidad que estas proteínas presenten para unirse de forma específica a la glicoproteína, lo que está sujeto a la especificidad que tiene cada una de las lectinas por los sacáridos presentes en el receptor, pero no solo depende de dicha unión sino que también lo que esta interacción genera en la plaqueta, ya que la lectina no sería de utilidad si al unirse a la membrana plaquetaria la activa, iniciando los procesos de secreción del contenido de gránulos y posterior agregación plaquetaria, efecto contrario al que se espera lograr. Se ha descrito que algunas lectinas comerciales generan este efecto y aparentemente actúan de igual forma que el ligando para el receptor, como es el caso de las lectinas *Concanavalin A* (96.), *Ricinus Communis agglutinin I* (98), las isoformas de *Phaseolus Vulgaris* (105), entre otras (ver Tabla 3).

Entonces, para que tenga utilidad, se espera de una lectina que esta presente especificidad por los sacáridos presentes en la glicoproteína para que de esta forma logre unirse, pero no activar a la plaqueta, sino que bloquear de forma competitiva la acción del ligando. Un ejemplo de posible lectina a utilizar para bloquear a la glicoproteína IIb-IIIa es *Pisum Sativum Agglutinin*. Se conoce que esta lectina tiene especificidad y por tanto se une a los sacáridos glucosa y manosa (64), siendo este último el sacárido expuesto en mayor cantidad por la subunidad IIIa del receptor en estudio (7). Además, estudios disponibles han descrito que efectivamente la lectina PSA se une a la membrana plaquetaria (98,106), y a diferencia de las lectinas anteriormente mencionadas, cuando *Pisum Sativum Agglutinin* se une a la superficie de la plaqueta, esta interacción produce un efecto similar a los antiagregantes plaquetarios, ya que se ha demostrado que la plaqueta no se activa, no secreta el contenido de gránulos (evidenciado en la falta de secreción de serotonina) y estas plaquetas no se agregan, por lo que evita la formación de trombos (109,116).

Al evaluar el posible efecto que la lectina presentaría in vivo, se sugiere que en un contexto fisiopatológico el fibrinógeno plasmático ante un daño endotelial no se une a su receptor hasta que la plaqueta no se ha activado y el receptor no ha sufrido un cambio conformacional

(25) (ver figura 7A). Para que estos eventos ocurran, el VWF debe unirse primero al colágeno subendotelial que ha sido expuesto luego de un daño en el endotelio, y luego de este cambio conformacional del receptor puede unirse el fibrinógeno a la GP I**IIb-IIIa** (27) (ver figura 7B). Entonces, antes de que el ligando pueda unirse al receptor GP I**IIb-IIIa**, la lectina se habrá unido a estos receptores, bloqueándolos y por ende la agregación, evitando las consecuencias de la hiperreactividad plaquetaria (ver figura 7C).



Jeldres F, 2022

Figura 7. Agregación plaquetaria en condiciones normales y en presencia de PSA.

7a: plaquetas y ligandos en condiciones hemostáticas normales, los ligandos factor von Willebrand (VWF) y fibrinógeno en condiciones de normalidad no se unen a sus receptores Ib-IX y I**IIb-IIIa**, respectivamente. 7b: el endotelio dañado expone colágeno, al cual se une VWF y este a su receptor Ib-IX. La plaqueta activada cambia la conformación del receptor I**IIb-IIIa**, uniendo fibrinógeno y agregando más plaquetas. 7c: GP I**IIb-IIIa** expresa manosa a la superficie. La lectina *Pisum Sativum Agglutinin* es capaz de unirse a ella y bloquear al receptor.

Existe otro grupo de lectinas de las cuales no se conoce su interacción con la membrana plaquetaria, si estas se unen y qué efecto tienen sobre la plaqueta en términos de activación y agregación, por lo que con los estudios descritos en la actualidad sólo una lectina del kit comercial presentaría las condiciones requeridas para actuar como inhibidor del receptor.

En el caso de la lectina *Datura Stramonium Lectin*, un estudio ha descrito que la lectina tuvo acción como antiagregante plaquetario (120), sin embargo se trata de una investigación aislada y se requiere de mayor información para conocer su utilidad como antiagregante plaquetario o bloqueador de receptores glicoproteicos, ya que solo se conoce que lectina es capaz de unirse a la membrana plaquetaria, sin embargo se desconoce si su interacción con la plaqueta genera su activación y secreción de gránulos, procesos que de ocurrir, podrían inducir la agregación. Además, es importante mencionar que estos estudios se han realizado *in vitro*, por lo que debe evaluarse, además de la posible activación y secreción, si fuese de utilidad como terapia antiagregante *in vivo*.

6. CONCLUSIONES

La glicoproteína IIb-IIIa tiene gran relevancia en el proceso de agregación plaquetaria, tanto por la cantidad de copias del receptor en la membrana como por su función.

Se debe ampliar la búsqueda de métodos antiagregantes enfocados en IIb-IIIa debido a la poca eficacia de los ya existentes.

La lectina *Pisum Sativum Agglutinin* podría ser usada como terapia antiagregante porque se une a la membrana plaquetaria y no genera la activación de la plaqueta ni su agregación.

Se requiere desarrollar más estudios, como el comportamiento de la lectina PSA y DSL como antiagregante *in vivo*.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. van der Meijden PEJ, Heemskerk JWM. Platelet biology and functions: new concepts and clinical perspectives. *Nat Rev Cardiol.* marzo de 2019;16(3):166-79.
2. García Mesa M, Coma Alfonso C. Características estructurales y funcionales de las plaquetas. *Rev Cubana Angiol y Cir Vasc.* 2000;1(2):132-41.
3. Vliegthart J, Dorland L, Halbeek H van. High-Resolution, ¹H-Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy as a Tool in the Structural Analysis of Carbohydrates Related to Glycoproteins. *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry.* Academic Press; 1983. p. 209-374.
4. Barber AJ, Jamieson GA. Isolation and Characterization of Plasma Membranes from Human Blood Platelets. *J Biol Chem.* 10 de diciembre de 1970;245(23):6357-65.
5. Kieffer N, Phillips DR. Platelet Membrane Glycoproteins: Functions in Cellular Interactions. *Annu Rev Cell Biol.* 1990;6(1):329-57.
6. Carrell NA, Fitzgerald LA, Steiner B, Erickson HP, Phillips DR. Structure of human platelet membrane glycoproteins IIb and IIIa as determined by electron microscopy. *J Biol Chem.* 10 de febrero de 1985;260(3):1743-9.
7. Bennett JS. Structural biology of glycoprotein IIb-IIIa. *Trends Cardiovasc Med.* 1 de enero de 1996;6(1):31-6.
8. McEver R, Baenziger J, Majerus P. Isolation and structural characterization of the polypeptide subunits of membrane glycoprotein IIb-IIIa from human platelets. *Blood.* 1 de enero de 1982;59(1):80-5.
9. Lowe G, Rumley A, Mackie I. Plasma fibrinogen. *Annals of Clinical Biochemistry.* 2004;41(6):430-440.
10. Sitges M, Bosch X, Sanz G. Eficacia de los bloqueadores de los receptores plaquetarios IIb/IIIa en los síndromes coronarios agudos. *Rev Esp Cardiol.* 1 de enero de 2000;53(3):422-39.
11. Huang TF, Holt JC, Kirby EP, Niewiarowski S. Trigramin: primary structure and its inhibition of von Willebrand factor binding to glycoprotein IIb/IIIa complex on human platelets. *Biochemistry.* 2002;28(2):661-666.
12. Weisel JW, Nagaswami C, Vilaire G, Bennett JS. Examination of the platelet membrane glycoprotein IIb-IIIa complex and its interaction with fibrinogen and other ligands by electron microscopy. *J Biol Chem.* 15 de agosto de 1992;267(23):16637-43.

13. Naim HY, Clemetson KJ, Lüscher EF. Effects of galactose-binding lectins on human blood platelets: Identity of the peanut agglutinin receptor with the von Willebrand factor receptor. *Thromb Res.* 15 de junio de 1982;26(6):431-41.
14. Quach ME, Li R. Structure-function of platelet glycoprotein Ib-IX. *J Thromb Haemost.* 2020;18(12):3131-41.
15. Ruggeri ZM. Structure and Function of von Willebrand Factor. *Thromb Haemost.* 1999;82(8):576-84.
16. Miyata S, Goto S, Federici AB, Ware J, Ruggeri ZM. Conformational Changes in the A1 Domain of von Willebrand Factor Modulating the Interaction with Platelet Glycoprotein Ib. *J Biol Chem.* 12 de abril de 1996;271(15):9046-53.
17. Berliner S, Niiya K, Roberts JR, Houghten RA, Ruggeri ZM. Generation and characterization of peptide-specific antibodies that inhibit von Willebrand factor binding to glycoprotein IIb-IIIa without interacting with other adhesive molecules. Selectivity is conferred by Pro1743 and other amino acid residues adjacent to the sequence Arg1744-Gly1745-Asp1746. *J Biol Chem.* 5 de junio de 1988;263(16):7500-5.
18. Uff S, Clemetson JM, Harrison T, Clemetson KJ, Emsley J. Crystal Structure of the Platelet Glycoprotein Ib α N-terminal Domain Reveals an Unmasking Mechanism for Receptor Activation. *J Biol Chem.* 20 de septiembre de 2002;277(38):35657-63.
19. Chatterjee M, Gawaz M. Clinical significance of receptor shedding-platelet GPVI as an emerging diagnostic and therapeutic tool. *Platelets.* 19 de mayo de 2017;28(4):362-71.
20. Clark JC, Damaskinaki FN, Cheung YFH, Slater A, Watson SP. Structure-function relationship of the platelet glycoprotein VI (GPVI) receptor: does it matter if it is a dimer or monomer? *Platelets.* 18 de agosto de 2021;32(6):724-32.
21. Holinstat M. Normal platelet function. *Cancer Metastasis Rev.* 1 de junio de 2017;36(2):195-8.
22. Sharda A, Flaumenhaft R. The life cycle of platelet granules. *F1000Research.* 28 de febrero de 2018;7:236.
23. Elzey BD, Tian J, Jensen RJ, Swanson AK, Lees JR, Lentz SR, et al. Platelet-Mediated Modulation of Adaptive Immunity: A Communication Link between Innate and Adaptive Immune Compartments. *Immunity.* 1 de julio de 2003;19(1):9-19.
24. Kim HK, Song KS, Chung J-H, Lee KR, Lee S-N. Platelet microparticles induce angiogenesis in vitro. *Br J Haematol.* 2004;124(3):376-84.
25. Sangkuhl K, Shuldiner AR, Klein TE, Altman RB. Platelet aggregation pathway. *Pharmacogenet Genomics.* agosto de 2011;21(8):516-21.

26. Jackson SP. The growing complexity of platelet aggregation. *Blood*. 15 de junio de 2007;109(12):5087-95.
27. Farndale RW. Collagen-induced platelet activation. *Blood Cells Mol Dis*. 1 de marzo de 2006;36(2):162-5.
28. Zucker MB, Nachmias VT. Platelet activation. *Arterioscler Off J Am Heart Assoc Inc*. enero de 1985;5(1):2-18.
29. Davì G, Patrono C. Platelet Activation and Atherothrombosis. *N Engl J Med*. 13 de diciembre de 2007;357(24):2482-94.
30. McNicol A, Israels SJ. Platelet Dense Granules: Structure, Function and Implications for Haemostasis. *Thromb Res*. 1 de julio de 1999;95(1):1-18.
31. Harrison P, Martin Cramer E. Platelet α -granules. *Blood Rev*. 1 de marzo de 1993;7(1):52-62.
32. Li Z, Delaney M, O'Brien, Du X. Signaling during platelet adhesion and activation. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2010;30(12):2341-2349.
33. Jennings LK. Mechanisms of platelet activation: Need for new strategies to protect against platelet-mediated atherothrombosis. *Thromb Haemost*. 2009;102(8):248-57.
34. Natarajan A, Zaman AG, Marshall SM. Platelet hyperactivity in type 2 diabetes: role of antiplatelet agents. *Diab Vasc Dis Res*. 1 de junio de 2008;5(2):138-44.
35. Purdy J, Shatzel. The hematologic consequences of obesity. *European Journal of Haematology*. 2021;106(3):306-319.
36. El Haouari M, Rosado JA. Platelet function in hypertension. *Blood Cells Mol Dis*. febrero de 2009;42(1):38-43.
37. Cooke NM, Egan K, McFadden S, Grogan L, Breathnach OS, O'Leary J, et al. Increased platelet reactivity in patients with late-stage metastatic cancer. *Cancer Med*. 2013;2(4):564-70.
38. Li J, Li Y, Jiang Z, Wang R, Wang X. Elevated mean platelet volume is associated with presence of colon cancer. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2015;15(23):10501-10504.
39. Harrington RA, Becker RC, Ezekowitz M, Meade TW, O'Connor CM, Vorchheimer DA, et al. Antithrombotic Therapy for Coronary Artery Disease: The Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. *Chest*. 1 de septiembre de 2004;126(3, Supplement):513S-548S.

40. Büller HR, Agnelli G, Hull RD, Hyers TM, Prins MH, Raskob GE. Antithrombotic Therapy for Venous Thromboembolic Disease: The Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. *Chest*. 1 de septiembre de 2004;126(3, Supplement):401S-428S.
41. Salem DN, Stein PD, Al-Ahmad A, Bussey HI, Horstkotte D, Miller N, et al. Antithrombotic Therapy in Valvular Heart Disease—Native and Prosthetic: The Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. *Chest*. 1 de septiembre de 2004;126(3, Supplement):457S-482S.
42. Tschoepe D, Roesen P, Schwippert B, Gries FA. Platelets in diabetes: the role in the hemostatic regulation in atherosclerosis. *Semin Thromb Hemost*. 1993;19(2):122-8.
43. Hashemzadeh M, Furukawa M, Goldsberry S, Movahed MR. Chemical structures and mode of action of intravenous glycoprotein IIb/IIIa receptor blockers: A review. *Exp Clin Cardiol*. 2008;13(4):192-7.
44. Jordan RE, Wagner CL, Mascelli MA, Treacy G, Nedelman MA, Woody JN, et al. Preclinical development of c7E3 Fab: a mouse/human chimeric monoclonal antibody fragment that inhibits platelet function by blockade of GP IIb/IIIa receptors with observations on the immunogenicity of c7E3 Fab in humans. *Adhes Recept Ther Targets*. 1996;281-305.
45. Goto S, Tamura N, Ishida H. Ability of anti-glycoprotein IIb/IIIa agents to dissolve platelet thrombi formed on a collagen surface under blood flow conditions. *J Am Coll Cardiol*. 21 de julio de 2004;44(2):316-23.
46. Gould RJ, Polokoff MA, Friedman PA, Huang TF, Holt JC, Cook JJ, et al. Disintegrins: A Family of Integrin Inhibitory Proteins from Viper Venoms. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1 de noviembre de 1990;195(2):168-71.
47. Natchiar SK, Suguna K, Surolia A, Vijayan M. Peanut agglutinin, a lectin with an unusual quaternary structure and interesting ligand binding properties. *Crystallogr Rev*. 1 de enero de 2007;13(1):3-28.
48. Loris R. Principles of structures of animal and plant lectins. *Biochim Biophys Acta BBA - Gen Subj*. 19 de septiembre de 2002;1572(2):198-208.
49. Loris R, Hamelryck T, Bouckaert J, Wyns L. Legume lectin structure. *Biochim Biophys Acta BBA - Protein Struct Mol Enzymol*. 3 de marzo de 1998;1383(1):9-36.
50. Sharon N, Lis H. Lectins: Cell-Agglutinating and Sugar-Specific Proteins. *Science*. 1972;177(4053):949-59.
51. Singh RS, Bhari R, Kaur HP. Characteristics of yeast lectins and their role in cell-cell interactions. *Biotechnol Adv*. 1 de noviembre de 2011;29(6):726-31.
52. Laitinen L. Griffonia simplicifolia lectins bind specifically to endothelial cells and some epithelial cells in mouse tissues. *Histochem J*. 1 de abril de 1987;19(4):225-34.

53. Miettinen M, Holthofer H, Lehto VP, Miettinen A, Virtanen I. Ulex europaeus I Lectin as a Marker for Tumors Derived from Endothelial Cells. *Am J Clin Pathol*. 1 de enero de 1983;79(1):32-6.
54. Pearson TW, Roelants GE, Lundin LB, Mayor-Withey KS. The bovine lymphoid system: binding and stimulation of peripheral blood lymphocytes by lectins. *J Immunological Methods*. 1979;26(3):271-282.
55. Park YM, Kim SJ, Kim K, Han YD, Yang SS, Yoon HC. Lectin-based optical sensing for quantitative analysis of cancer antigen CA15-3 as a breast cancer marker. *Sens Actuators B Chem*. 1 de septiembre de 2013;186:571-9.
56. Khan F, Khan RH, Sherwani A, Mohmood S, Azfer MA. Lectins as markers for blood grouping. *Medical Science Monitor*. 2002;8(12):293-300.
57. Reeke GN, Becker JW, Cunningham BA, Wang JL, Yahara I, Edelman GM. Structure and Function of Concanavalin A. Boston, MA. 1975;13-33.
58. Weatherman RV, Mortell KH, Chervenak M, Kiessling L, Toone E. Specificity of C-Glycoside Complexation by Mannose/Glucose Specific Lectins. *Biochemistry*. 1996;36:19-3624.
59. Etzler ME, Gupta S, Borrebaeck C. Carbohydrate binding properties of the Dolichos biflorus lectin and its subunits. *J Biol Chem*. 10 de marzo de 1981;256(5):2367-70.
60. Hammarstrom S, Murphy LA, Goldstein IJ, Etzler ME. Carbohydrate binding specificity of four N-acetyl-D-galactosamine-"specific" lectins: Helix pomatia A hemagglutinin, soy bean agglutinin, lima bean lectin, and Dolichos biflorus lectin. *Biochemistry*. 14 de junio de 1977;16, 12, 2750–2755.
61. Aakhus AM, Stavem P, Hovig T, Pedersen TM, Solum NO. Studies on a patient with thrombocytopenia, giant platelets and a platelet membrane glycoprotein Ib with reduced amount of sialic acid. *Br J Haematol*. 1990;74(3):320-9.
62. Lotan R, Skutelsky E, Danon D, Sharon N. The purification, composition, and specificity of the anti-T lectin from peanut (*Arachis hypogaea*). *J Biol Chem*. 10 de noviembre de 1975;250(21):8518-23.
63. Li PJ, Anwar MT, Fan CY, Juang DS, Lin HY, Chang TC, et al. Fluorescence "Turn-on" Lectin Sensors Fabricated by Ligand-Assisted Labeling Probes for Detecting Protein-Glycoprotein Interactions. *Biomacromolecules*. 31 de diciembre de 2019; 21, 2, 815–824.
64. Nicolson GL, Blaustein J, Etzler ME. Characterization of two plant lectins from *Ricinus communis* and their quantitative interaction with a murine lymphoma. *American Chemical Society*; 2002; 196-204.

65. de Mejia EG, Bradford T, Hasler C. The Anticarcinogenic Potential of Soybean Lectin and Lunasin. *Nutr Rev.* 1 de julio de 2003;61(7):239-46.
66. Desai NN, Allen AK, Neuberger A. Studies on the chemical modification of soybean agglutinin. *Carbohydr Res.* 15 de julio de 1988;178(1):183-90.
67. Audette GF, Vandonselaar M, Delbaere LTJ. The 2.2 Å resolution structure of the O(H) blood-group-specific lectin I from *Ulex europaeus*. *J Mol Biol.* 1 de diciembre de 2000;304(3):423-33.
68. Allen HJ, Johnson EAZ, Matta KL. A Comparison of the Binding Specificities of Lectins from *Ulex Europaeus* and *Lotus Tetragonolobus*. *Immunol Commun.* 1 de enero de 1977;6(6):585-602.
69. Loris R, De Greve H, Dao-Thi MH, Messens J, Imberty A, Wyns L. Structural basis of carbohydrate recognition by lectin II from *Ulex europaeus*, a protein with a promiscuous carbohydrate-binding site. Edited by R. Huber. *J Mol Biol.* 25 de agosto de 2000;301(4):987-1002.
70. Pusztai A, Ewen SWB, Grant G, Brown DS, Stewart JC, Peumans WJ, et al. Antinutritive effects of wheat-germ agglutinin and other N-acetylglucosamine-specific lectins. *Br J Nutr.* julio de 1993;70(1):313-21.
71. Evans E, Leung A. Adhesivity and rigidity of erythrocyte membrane in relation to wheat germ agglutinin binding. *J Cell Biol.* 1 de abril de 1984;98(4):1201-8.
72. Wu AM, Wu JH, Chen Y yuen, Song S chyung, Kabat EA. Further characterization of the combining sites of *Bandeiraea (Griffonia) simplicifolia* lectin-I, isolectin A4. *Glycobiology.* 1 de noviembre de 1999;9(11):1161-70.
73. Arce E, Nieto PM, Díaz V, García R, Bernad A, Rojo J. Glycodendritic Structures Based on Boltorn Hyperbranched Polymers and Their Interactions with *Lens culinaris* Lectin. *Bioconjugate chemistry* 2003;14(4):817-823.
74. Clemetson KJ, Pfueller SL, Luscher EF, Jenkins CSP. Isolation of the membrane glycoproteins of human blood platelets by lectin affinity chromatography. *Biochim Biophys Acta BBA - Biomembr.* 4 de febrero de 1977;464(3):493-508.
75. Kumada T, Nakano S, Takeda I, Kiriyaama S, Sone Y, Hayashi K, et al. Clinical utility of *Lens culinaris* agglutinin-reactive alpha-fetoprotein in small hepatocellular carcinoma: special reference to imaging diagnosis. *J Hepatol.* 1 de enero de 1999;30(1):125-30.
76. Sharma A, Ng TB, Wong JH, Lin P. Purification and Characterization of a Lectin from *Phaseolus vulgaris* cv. (Anasazi Beans). *J Biomed Biotechnol.* 25 de marzo de 2009;2009:e929568.
77. Felsted RL, Egorin MJ, Leavitt RD, Bachur NR. Recombinations of subunits of *Phaseolus vulgaris* isolectins. *J Biol Chem.* 10 de mayo de 1977;252(9):2967-71.

78. Santidrian S, Marzo F. Effect of feeding tannic acid and kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) on the intestinal absorption of D-galactose and L-leucine in chickens. *J Sci Food Agric*. 1989;47(4):435-42.
79. Debray H, Decout D, Strecker G, Spik G, Montreuil J. Specificity of Twelve Lectins Towards Oligosaccharides and Glycopeptides Related to N-Glycosylproteins. *Eur J Biochem*. 1981;117(1):41-51.
80. Trowbridge IS. Isolation and Chemical Characterization of a Mitogenic Lectin from *Pisum sativum*. *J Biol Chem*. 1 de septiembre de 1974;249(18):6004-12.
81. Konidala P, Niemeyer B. Molecular dynamics simulations of pea (*Pisum sativum*) lectin structure with octyl glucoside detergents: The ligand interactions and dynamics. *Biophys Chem*. 1 de julio de 2007;128(2):215-30.
82. Monsigny M, Sene C, Obrenovitch A, Roche AC, Delmotte F, Boschetti E. Properties of Succinylated Wheat-Germ Agglutinin. *Eur J Biochem*. 1979;98(1):39-45.
83. Johansson B, Magnusson KE. Oxygen metabolites induced by phorbol myristate acetate increase lateral diffusion of wheat germ agglutinin-labeled glycoconjugates in human polymorphonuclear leukocytes. *Inflammation*. 1 de diciembre de 1990;14(6):631-44.
84. Crowley JF, Goldstein IJ, Arnarp J, Lönnngren J. Carbohydrate binding studies on the lectin from *Datura stramonium* seeds. *Arch Biochem Biophys*. 1 de junio de 1984;231(2):524-33.
85. Paris LL, Chihara RK, Sidner RA, Tector AJ, Burlak C. Differences in human and porcine platelet oligosaccharides may influence phagocytosis by liver sinusoidal cells in vitro. *Xenotransplantation*. 2012;19(1):31-9.
86. Sasaki T, Yamazaki K, Yamori T, Endo T. Inhibition of proliferation and induction of differentiation of glioma cells with *Datura stramonium* agglutinin. *Br J Cancer*. octubre de 2002;87(8):918-23.
87. Allodi S, Bressan CM, Carvalho SL, Cavalcante LA. Regionally specific distribution of the binding of anti-glutamine synthetase and anti-S100 antibodies and of *Datura stramonium* lectin in glial domains of the optic lobe of the giant prawn. *Glia*. 2006;53(6):612-20.
88. Wu AM, Wu JH, Tsai MS, Yang Z, Sharon N, Herp A. Differential affinities of *Erythrina cristagalli* lectin (ECL) toward monosaccharides and polyvalent mammalian structural units. *Glycoconj J*. 1 de diciembre de 2007;24(9):591-604.
89. Iglesias JL, Lis H, Sharon N. Purification and Properties of a d-Galactose/N-Acetyl-d-galactosamine-Specific Lectin from *Erythrina cristagalli*. *Eur J Biochem*. 1982;123(2):247-52.

90. Vierbuchen M, Uhlenbruck G, Ortmann M, Dufhues G, Fischer R. Occurrence and distribution of glycoconjugates in human tissues as detected by the *Erythrina cristagalli* lectin. *J Histochemistry & Cytochemistry*. 1988;36(4):367–376.
91. Mikkola M, Toivonen S, Tamminen K, Alfthan K, Tuuri T, Satomaa T, Otonkoski T. Lectin from *Erythrina cristagalli* Supports Undifferentiated Growth and Differentiation of Human Pluripotent Stem Cells. *Stem Cells and Development*. 2013;22(5):707–716.
92. Zhu-Salzman K, Shade RE, Koiwa H, Salzman RA, Narasimhan M, Bressan RA, et al. Carbohydrate binding and resistance to proteolysis control insecticidal activity of *Griffonia simplicifolia* lectin II. *Proc Natl Acad Sci*. 8 de diciembre de 1998;95(25):15123-8.
93. Hurley SD, Streit WJ. *Griffonia simplicifolia* II Lectin Labels a Population of Radial Glial Cells in the Embryonic Rat Brain. *Dev Neurosci*. 1995;17(5-6):324-34.
94. Kabir S. Jacalin: a jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*) seed-derived lectin of versatile applications in immunobiological research. *J Immunol Methods*. 15 de marzo de 1998;212(2):193-211.
95. Peumans WJ, Hause B, Van Damme EJM. The galactose-binding and mannose-binding jacalin-related lectins are located in different sub-cellular compartments. *FEBS Lett*. 21 de julio de 2000;477(3):186-92.
96. Urdiales Viedma M, De Haro Muñoz T, Martos Padilla S, Abad Ortega JM, Varela Durán J, GrandaPaez R. Jacalin, another marker for histiocytes in paraffin-embedded tissues. *Histol Histopathol*. 1995,
97. Nachbar MS, Oppenheim JD. Tomato (*Lycopersicon esculentum*) lectin. *Methods in Enzymology*. 1982:363-8.
98. Robertson RT, Levine ST, Haynes SM, Gutierrez P, Baratta JL, Tan Z, et al. Use of labeled tomato lectin for imaging vasculature structures. *Histochem Cell Biol*. 1 de febrero de 2015;143(2):225-34.
99. Mazzetti S, Frigerio S, Gelati M, Salmaggi A, Vitellaro-Zuccarello L. *Lycopersicon esculentum* lectin: an effective and versatile endothelial marker of normal and tumoral blood vessels in the central nervous system. *Eur J Histochem*. 2004;48(4):423-8.
100. Kieliszewski MJ, Showalter AM, Leykam JF. Potato lectin: a modular protein sharing sequence similarities with the extensin family, the hevein lectin family, and snake venom disintegrins (platelet aggregation inhibitors). *Plant J*. 1994;5(6):849-61.
101. Higashihara M, Ozaki Y, Ohashi T, Kume S. Interaction of *solanum tuberosum* agglutinin with human platelets. *Biochem Biophys Res Commun*. 31 de mayo de 1984;121(1):27-33.

102. Ashford D, Menon R, Allen AK, Neuberger A. Studies on the chemical modification of potato (*Solanum tuberosum*) lectin and its effect on haemagglutinating activity. *Biochem J.* 1 de noviembre de 1981;199(2):399-408.
103. Sequeira L, Graham TL. Agglutination of avirulent strains of *Pseudomonas sofanacearum* by potato lectin. *Physiol Plant Pathol.* 1 de julio de 1977;11(1):43-54.
104. Kaladas PM, Kabat EA, Kimura A, Ersson B. The specificity of the combining site of the lectin from *Vicia villosa* seeds which reacts with cytotoxic T-lymphoblasts. *Mol Immunol.* 1 de noviembre de 1981;18(11):969-77.
105. Silva ML, Rangel MGH. A *Vicia villosa* agglutinin biosensor for cancer-associated Tn antigen. *Sens Actuators B Chem.* 1 de noviembre de 2017;252:777-84.
106. Fortune F, Lehner T. Phenotypic expression of *Vicia villosa* binding T cell subsets, as markers of contrasuppressor cells in systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Immunol.* octubre de 1988;74(1):100-4.
107. Patscheke H, Wörner P. Common activation of aggregation and release reaction of platelets. *Thromb Res.* 1 de septiembre de 1977;11(3):391-402.
108. Patscheke H, Brossmer R. Platelet-release reaction induced by the lectin concanavalin A. *Naturwissenschaften.* 1 de abril de 1974;61(4):164-6.
109. Greenberg JH, Jamieson GA. The effects of various lectins on platelet aggregation and release. *Biochim Biophys Acta BBA - Biomembr.* 29 de abril de 1974;345(2):231-42.
110. Patscheke H, Wörner P, Brossmer R. The relationship between shape change and release reaction of lectin-stimulated platelets. Effects of cytochalasin B and prostaglandin E1. *Thromb Res.* 1 de marzo de 1977;10(3):465-74.
111. Patscheke H, Brossmer R, Wörner P. D-galactose-binding lectins induce a differential response of blood platelets. *Biochem Biophys Res Commun.* 7 de marzo de 1977;75(1):200-6.
112. Khan F, Khan RH, Sherwani A, Mohmood S, Azfer MA. Lectins as markers for blood grouping. *Med Sci Monit.* 27 de diciembre de 2002;8(12):RA293-300.
113. Manso M, De Dios I, Alberca L, Vicente V. Studies on platelet surface carbohydrates in normal and uraemic platelets using 125I-labelled lectins. *Blut.* 1 de mayo de 1985;50(5):287-92.
114. Moroi M, Jung SM. Selective staining of human platelet glycoproteins using nitrocellulose transfer of electrophoresed proteins and peroxidase-conjugated lectins. *Biochim Biophys Acta BBA - Gen Subj.* 24 de abril de 1984;798(3):295-301.
115. Signorello MG, Leoncini G. The molecular mechanisms involved in lectin-induced human platelet aggregation. *Biol Chem.* 1 de diciembre de 2017;398(12):1335-46.

116. Seiko T, Tsutomu T, Hiroshi T, Toshiaki O. Interaction of human platelet membrane glycoproteins with collagen and lectins. *Biochim Biophys.* 24 de enero de 1984;797(1):10-9.
117. Signorello MG, Ravera S, Leoncini G. Lectin-induced oxidative stress in human platelets. *Redox Biol.* 1 de mayo de 2020;32:101456.
118. Gorudko IV, Loiko EN, Cherenkevich SN, Timoshenko AV. Formation of stable platelet aggregates by lectin from *Solanum tuberosum*. *Biophysics.* 1 de octubre de 2007;52(5):476.
119. Stivala S, Gobbato S, Infanti L, Reiner MF, Bonetti N, Meyer SC, et al. Amotosalen/ultraviolet A pathogen inactivation technology reduces platelet activatability, induces apoptosis and accelerates clearance. *Haematologica.* octubre de 2017;102(10):1650-60.
120. Joshua PE, Abonyi UC, Eze CS, Asomadu RO, Obeta JN, Nnamani IV, et al. Comparative Effects of *Datura stramonium* Leaf and Seed Extracts on Membrane Stabilization and Platelet Aggregation In-vitro. *Afr J Biomed Res.* 30 de septiembre de 2019;22(3):363-8.
121. Varghese JN, McKimm-Breschkin JL, Caldwell JB, Kortt AA, Colman PM. The structure of the complex between influenza virus neuraminidase and sialic acid, the viral receptor. *Proteins Struct Funct Bioinforma.* 1992;14(3):327-32.