

LECTINAS: ¿METABOLITOS SECUNDARIOS DE LAS PLANTAS CON EFECTO ANTIHELMÍNTICO EN OVINOS?¹

Ríos-de Álvarez, L.^{1,2}, Jackson, F.², Grant, G.³, Huntley, J.F.²

1. Instituto de Producción Animal, Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. 2. Moredun Research Institute, Parasitology Division, Pentlands Science Park, Bush Loan, Midlothian, EH26 0PZ. 3. Rowett Research Institute, Aberdeen, Scotland.
leyla.rios@moredun.ac.uk

INTRODUCCIÓN

El control de nemátodos gastrointestinales en rumiantes se ha basado tradicionalmente en el uso profiláctico y terapéutico de compuestos antihelmínticos comerciales (Coop and Sykes, 2002). Sin embargo, el uso continuo de estos productos ha resultado en la aparición a nivel mundial, de resistencia en los nemátodos (Waller, 1997). Debido a los crecientes problemas de resistencia y también debido a la contaminación que estos antihelmínticos causan tanto al ambiente como a los alimentos de origen animal, algunos investigadores se han avocado al estudio de formas alternativas de control parasitario. Algunos de los métodos alternativos son considerados de largo plazo, incluyendo estos la generación de ganado con resistencia genética a parásitos y también el desarrollo de vacunas. Alternativas como el consumo de forrajes ricos en metabolitos secundarios por parte de los animales y el control biológico a través del uso de hongos pueden ser consideradas alternativas de corto plazo. El estudio del efecto de metabolitos secundarios de plantas sobre el control de parásitos en ovinos se ha enfocado principalmente en los taninos, el presente trabajo recopila los primeros resultados obtenidos *in vitro* usando metabolitos distintos como son las lectinas.

El término lectinas es usado para todas aquellas proteínas que son capaces de enlazarse con carbohidratos, no poseen actividad enzimática y no son producto de una respuesta inmune. (Goldstein *et al.*, 1980; Varki *et al.*, 1999). Las lectinas han sido encontradas en plantas, bacterias, invertebrados y vertebrados. Las lectinas provenientes de las plantas son producidas como metabolitos secundarios de las mismas, con funciones diversas tales como: regulación fisiológica, defensa contra el ataque de patógenos e insectos, almacén de proteínas (Pusztai, 1980) y transporte de carbohidratos. El uso de lectinas ha sido estudiado en diversas ciencias incluyendo la biología, bioquímica y medicina, encontrando aplicaciones diversas para estos compuestos, tales como: la aglutinación de eritrocitos, estimulación mitogénica e inhibición del crecimiento de tumores (Goldstein *et al.*, 1980; Hernández-Cruz *et al.*, 2005).

Trabajos previos demuestran que las lectinas pueden tener efecto directo sobre algunos parásitos. En éste sentido, Tobata-Kudo *et al.* (2005) usando larvas L₃ de *Strongyloides ratti* en una prueba de migración de larvas, encontraron que algunas de las enzimas y lectinas utilizadas suprimían significativamente la migración de las mismas. Estos autores sugerían que las funciones quimo-sensoriales del parásito eran alteradas. Las lectinas utilizadas en este estudio eran la concaavalina A (ConA), aglutinina del germen de trigo (WGA) y la aglutinina de la soya o soja (SBA) a concentraciones de 0.5 mg/ml.

El presente estudio se enfoca en el uso *in vitro* de lectinas vegetales a fin de evaluar su potencial para el control de parásitos gastrointestinales en ovinos. Para el mismo se utilizó el ensayo *in vitro* de inhibición de ingestión larvaria (Álvarez-Sánchez *et al.*, 2005), con tres diferentes especies de parásitos gastrointestinales, *Teladorsagia circumcincta*, *Haemonchus contortus* y *Trichostrongylus colubriformis*.

MATERIALES Y MÉTODOS

A partir de las heces de ovinos donantes infectados monoespecíficamente, se extrajeron huevos de las distintas especies de parásitos que fueron incubados por 24 horas a 22 °C. Luego de la eclosión y una vez obtenidas las larvas de primer estadio (L₁), estas se incubaron en lectinas durante dos horas, luego las larvas se alimentaron con 10 µl de *E. coli*

¹ Trabajo financiado parcialmente por CDCH-Universidad Central de Venezuela

fluorescente (5-isotiocianato de fluoresceína-FITC, Sigma Chemical) y luego se incubaron por otras 18 horas a la misma temperatura. Las larvas con fluorescencia en el tracto digestivo fueron contadas como larvas alimentadas. Para esta determinación se usó un microscopio fluorescente invertido con filtro azul (longitud de onda 470 nm) (Álvarez-Sánchez *et al.*, 2005). Las lectinas fueron evaluadas en concentraciones de 0.5 hasta 500 µg/ml en triplicado y comparadas con agua destilada como control positivo. Las distintas concentraciones usadas y el porcentaje de larvas con fluorescencia fueron analizadas usando ANOVA de dos vías y luego graficadas. Los datos fueron analizados usando el logaritmo de las concentraciones, a través del análisis Probit a fin de calcular la Dosis Eficaz 50 (DE₅₀) para cada lectina, que corresponde a la concentración inhibitoria del 50% de las larvas expuestas a la lectina. El paquete estadístico utilizado fue el Minitab (Versión 13.1, 2000).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Luego del realizar estudios preliminares con trece lectinas distintas, las 3 más potentes fueron escogidas (*Lec1*, *Lec2* y *Lec3*). Las Figuras 1 a, b y c muestran para las distintas especies parasitarias, el número de larvas fluorescentes para el control y las tres lectinas, en todos los casos se encontró una clara relación dosis-respuesta. Los resultados que se muestran en la Tabla 1 señalan los valores de DE₅₀.

Aun cuando todas las lectinas tuvieron un efecto inhibitorio sobre las larvas L₁, cuando el % de larvas alimentadas fue comparada entre lectinas y especies parasitarias, se encontró que *Lec1* produjo la mayor inhibición (P<0.0001) y la especie *T. colubriformis* resultó ser la más susceptible (P=0.0034). Estos resultados encontrados con lectinas y parásitos gastrointestinales son novedosos y demuestran que aun cuando los taninos han sido estudiados como los principales metabolitos secundarios de plantas con potencial antihelmíntico, deben incluirse nuevos metabolitos y profundizar la investigación con éstos tanto *in vitro* como *in vivo*.

Tabla 1. Efecto de las lectinas, expresado como Dosis Eficaz 50 (DE₅₀), sobre larvas L₁ de tres especies distintas de parásitos gastrointestinales.

Parásito	Lectinas	DE ₅₀ (µg/ml)			
		Media	se	Rango	
<i>Haemonchus contortus</i>	<i>Lec1</i>	8.26	5.8	6.58	10.97
	<i>Lec2</i>	58.65	10.3	42.17	84.17
	<i>Lec3</i>	69.39	15.1	46.57	111.03
<i>Teladorsagia circumcincta</i>	<i>Lec1</i>	7.31	1.6	5.05	11.97
	<i>Lec2</i>	59.05	14.1	37.86	97.94
	<i>Lec3</i>	78.86	20.2	49.61	137.46
<i>Trichostrongylus colubriformis</i>	<i>Lec1</i>	4.27	0.9	2.84	7.043
	<i>Lec2</i>	8.06	2.5	4.56	15.96
	<i>Lec3</i>	27.98	9.9	16.02	97.82

se: error estándar

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Álvarez-Sánchez, M.A., et al. 2005. The larval feeding inhibition assay for the diagnosis of nematode anthelmintic resistance. *Exp. Parasitol.* 110:56-61.
- Coop, R. L. and Sykes, A.R. 2002. Interactions between gastrointestinal parasites and nutrients. In: Freer, M. and Dove, H. (eds) *Sheep Nutrition*. CAB International. pp. 313-331.
- Goldstein I.J., Hughes R.C., et al. 1980. What should be called a lectin? *Nature* 66:285-286.
- Hernández-Cruz P., et al. 2005. Las lectinas vegetales como modelo de estudio de las interacciones proteína-carbohidrato. *REB* 24(1):21-27.
- Pusztai A.J. 1991. *Plant lectins*. Cambridge University Press. England.
- Tobata-Kudo, H., et al. 2005. *Strongyloides ratti*: Chemokinesis of glycolytic enzyme- and lectin treated third stage infective larvae in vitro. *Parasitol Int.* 54:147-152.
- Varki A., Cummings, R., et al. 1999. *Essentials of Glycobiology*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, La Jolla, California, USA. 653 p.
- Waller, P. 1997. Anthelmintic resistance. *Vet. Parasitol.* 72:391-412

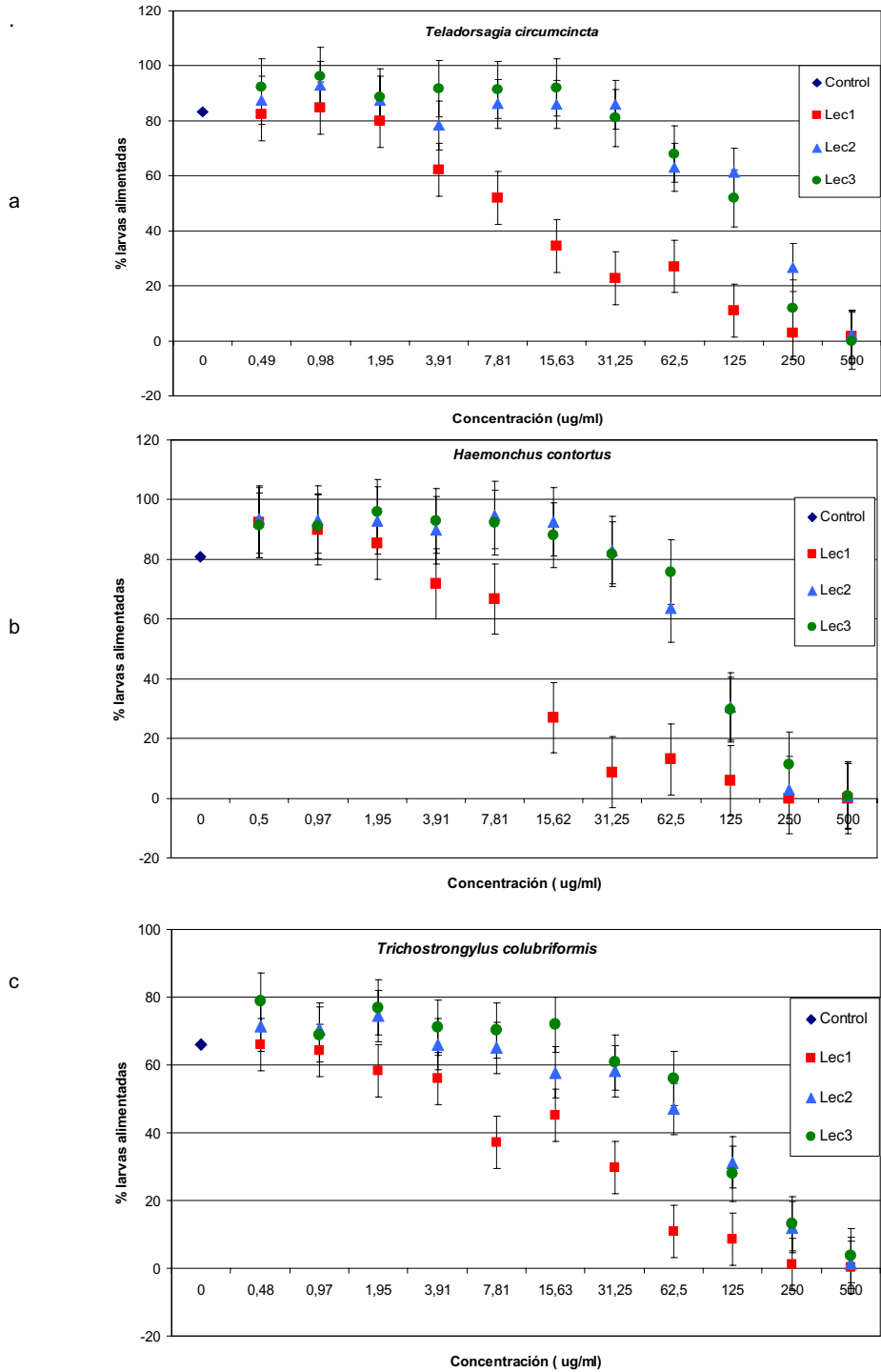


Figura 1 a, b, c. Efecto de las lectinas sobre distintas especies de parásitos gastrointestinales