

TRABAJOS ORIGINALES

Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos

EFECTO INMUNOMODULADOR DE LA FITOHEMAGLUTININA DE *PHASEOLUS VULGARIS*

Dr. Vladimir Ruiz Álvarez, Dra. María de los Ángeles Boffill Cárdenas, Dra. Olga Lidia González González, Dra. Maira Masjuan del Pino y Téc. Freisman Blanco Machado

RESUMEN

Se desarrolló un modelo experimental *in vivo* para evaluar la potencialidad de la fitohemaglutinina de 2 variedades de *Phaseolus vulgaris* de modular el sistema inmunológico. Ratas Wistar macho recibieron 10 y 20 mg/kg de peso de fitohemaglutinina obtenida de las variedades de frijol "Cueto" y "Judía roja Santo Domingo". Ambos extractos fueron inocuos, incrementaron la masa corporal de los animales y no modificaron el hematocrito ni los conteos celulares de polimorfonucleares neutrófilos, eosinófilos y monocitos. La fitohemaglutinina BETERA obtenida del *Phaseolus vulgaris* de la variedad "Cueto" fue más efectiva para producir incrementos en el número total de leucocitos y linfocitos circulantes y estimular a los linfocitos B para la producción de anticuerpos.

Palabras clave: Fitohemaglutinina, efecto inmunomodulador, *Phaseolus vulgaris*, ratas Wistar.

La fitohemaglutinina (PHA) del *Phaseolus vulgaris* aglutina hematíes y leucocitos; es capaz de unirse a oligosacáridos y estimula la mitosis en diferentes estirpes celulares, incluidos los linfocitos.¹ Esta comprende 5 glicoproteínas tetraméricas (PM= 115 000 ± 4130 D),² isolectinas formadas por 2 polipéptidos (L= leucocito y E= eritrocito) en combinaciones L₄, L₃E₁, L₂E₂, L₁E₃, E₄.^{1,2} Las subunidades tipo E (PM= 31 700 ± 600 D),

mayores que las L, son responsables de la eritroaglutinación, pero muestran poca actividad mitogénica o ninguna. Las subunidades L (PM= 29 900 ± 200 D) confieren propiedades leucoaglutinantes a la proteína nativa y tienen la máxima actividad estimulante de la mitosis.^{3,4}

La PHA fue utilizada inicialmente para separar células sanguíneas,⁵ después como marcador histológico⁶ y en la producción y mejoramiento de medios diagnósticos y ana-

líticos.⁷⁻⁹ Resultados *in vitro* avalan el posible uso terapéutico de la isoforma mitogénica L₄ como modificador de respuestas biológicas,¹⁰ de versátil administración, no sensibilizante, poco tóxica, con máxima efectividad a bajas dosis, no inductora de estrés, no oncogénica, no infecciosa, compatible con diversas modalidades terapéuticas; probablemente compatible con el embarazo y con una adecuada relación costo-efectividad en sus análisis económicos.

Las potencialidades de la PHA como inmunomodulador se fundamentan en la inducción de la actividad y proliferación linfocitaria *in vitro*; efecto observado *in vivo* solo con dosis excesivas de PHA eritroaglutinante y nocivas para el sistema circulatorio de pequeños animales de laboratorio. La restringida disponibilidad del mitógeno en forma no aglutinante ha limitado un estudio más exhaustivo en el ser humano. La subestimación de su eficacia ha limitado también su producción industrial en cantidades requeridas para ensayos clínicos.¹¹ Su posible efecto de modulación mitogénica podría ser de utilidad en la terapéutica del cáncer, infecciones graves y anemia aplásica.¹²⁻¹⁴

El Instituto Superior de Ciencias Médicas de Villa Clara ha llevado a cabo el aislamiento y la purificación de la PHA y ha detectado, además, un diferente comportamiento electroforético de la proteína obtenida de distintas variedades de *Phaseolus vulgaris* (Bofill MA, comunicación personal). El contenido diferente de las isoformas de PHA en las variedades de frijol se ha valorado como posible agente causal. Fue objetivo de este trabajo evaluar, mediante un modelo experimental *in vivo*, la potencialidad de la PHA de diferentes variedades de *Phaseolus vulgaris* de modular el sistema inmunológico.

MÉTODOS

Se utilizaron 2 preparaciones de PHA de *Phaseolus vulgaris*, una producida en los laboratorios BETERA de Ciudad de La Habana (PHA-BETERA),¹⁵ con la variedad "Cueto" de este frijol, suministrado por el Instituto de Investigaciones Fundamentales de la Agricultura Tropical (INIFAT). La otra preparación fue aislada y purificada por los laboratorios de Bioquímica del Instituto Superior de Ciencias Médicas de Villa Clara (PHA-VC), a partir de la variedad "Judía roja Santo Domingo" suministrada por el Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT).

La evaluación del efecto inmunomodulador se desarrolló de acuerdo con la propuesta de *Godhwani* y otros,¹⁶ para estudios de extractos de plantas en roedores. Para ello se utilizaron 50 ratas Wistar macho (170-190 g de peso) de 7-8 semanas de edad, suministradas por el Centro Nacional de Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB), mantenidas por 7 d en cuarentena para comprobación de parámetros de calidad. Los animales se alojaron en un cuarto experimental a 20 ± 2 °C, 40-70 % de humedad ambiental y fotoperíodo de 12 h y fueron alimentadas con Ratonina esterilizable SPF y agua *ad libitum*.

DISEÑO EXPERIMENTAL

Los animales fueron divididos en 5 grupos de 10 y sometidos al tratamiento siguiente:

- Grupo I: Control, no PHA
- Grupo II: PHA-BETERA (1 mg/mL) suministrada a 10 mg/kg de peso
- Grupo III: PHA-BETERA (2 mg/mL) suministrada a 20 mg/kg de peso
- Grupo IV: PHA-VC (1 mg/mL) suministrada a 10 mg/kg de peso

Grupo V: PHA-VC (2 mg/mL) suministrada a 20 mg/kg de peso

En los días 1, 3 y 5 del experimento se inoculó, por vía intraperitoneal, una suspensión de hemáties de carnero 20 % en solución salina (0,9 %) a los 5 grupos. El día 6 se extrajo, a todos los animales, una muestra de sangre del seno venoso retroorbital e inmediatamente se comenzó la inoculación, por vía intraperitoneal, de las soluciones de PHA con las concentraciones y a las dosis antes señaladas. La administración de la PHA se realizó diariamente durante 10 d. El día 16 se extrajo la segunda muestra de sangre a todos los animales, de la misma manera que la primera. Las muestras de sangre fueron sometidas según *Godhwani* y otros a los análisis siguientes:¹⁶

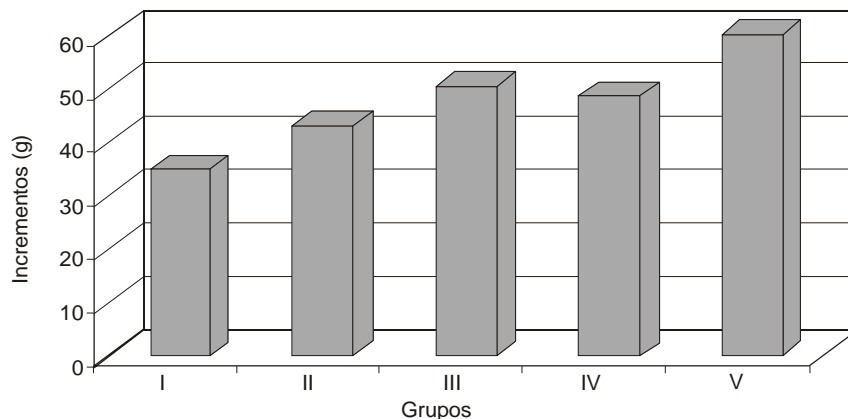
- Frotis sanguíneo para estudio de la morfología celular.
- Hematócrito.
- Conteo global de leucocitos.
- Conteo absoluto de las diferentes estirpes celulares del diferencial.
- Prueba de microhemaglutinación (título de anticuerpos).

DISEÑO ESTADÍSTICO

Los datos obtenidos del estudio fueron procesados con el paquete estadístico SPSS para Windows Versión 10.0. Se aplicaron los tests de Kolmogorov-Smirnov y de Shapiro-Wilks para comprobar normalidad. Como la mayoría de las variables no seguían una distribución normal se decidió utilizar pruebas no paramétricas para el análisis de varianza unifactorial. Se empleó el test de Kruskal-Wallis para el análisis vertical de los datos y como test de rangos para localizar las diferencias entre grupos pareados, la U de Mann-Whitney. Para el análisis horizontal se aplicó el test de Friedman y como solo se compararon 2 momentos (antes y después de administrar la PHA) no se empleó test de rangos en este caso.

RESULTADOS

La ganancia de peso generada por el suministro de PHA fue diferente en cada grupo (fig. 1). Todos los grupos con PHA tuvieron mayores incrementos en el peso corporal que el grupo control. La dosis de



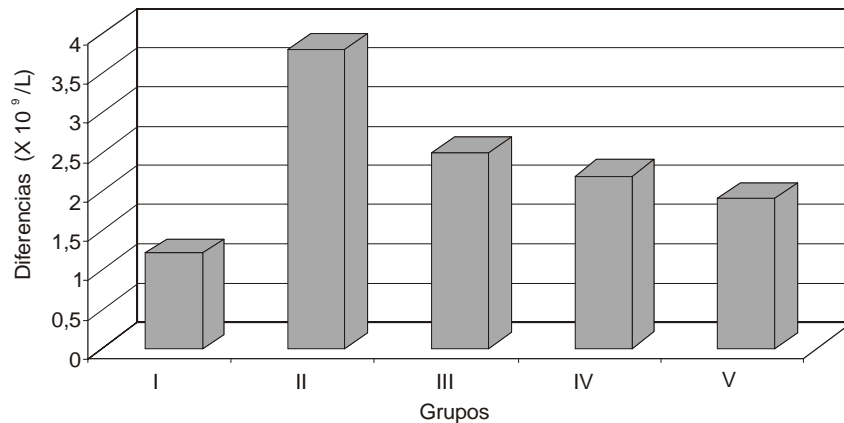
Fuente: Unidad de Toxicología Experimental

Fig. 1. Incremento en la masa corporal de los animales después de concluir la administración de fitohemaglutinina.

20 mg/kg de PHA-VC tuvo el mayor efecto positivo ($p= 0,004$).

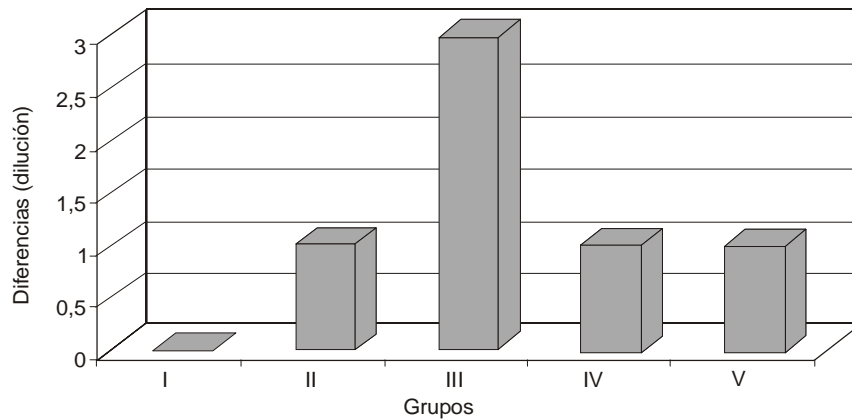
No se detectaron diferencias significativas en los indicadores de laboratorio entre los grupos de ensayo al inicio del experimento; sin embargo, el suministro de las distintas PHA a diferentes dosis generó

modificaciones con alta significación en el conteo absoluto de polimorfonucleares neutrófilos ($p= 0,000$) y el título de anticuerpos contra los hematíes de carnero ($p= 0,000$). El suministro de 20 mg/kg de peso de PHA-BETERA (2 mg/mL) (Grupo III) produjo los mayores incrementos en el



Fuente: Laboratorio de Investigaciones Bioquímicas

Fig. 2. Diferencias medias entre los valores del conteo absoluto de linfocitos antes y después de administrar la fitohemaglutinina.



Fuente: Laboratorio de Investigaciones Bioquímicas

Fig. 3. Diferencias medias entre los títulos de los anticuerpos contra hematíes de carnero antes y después de administrar la fitohemaglutinina.

título de anticuerpos ($p= 0,002$), el cual fue 8 veces superior al efecto de la dosis inferior o al uso de la PHA-VC en cualquiera de las dosis. Esto generó, por tanto, las mayores diferencias entre los grupos. La PHA-BETERA a dosis de 10 mg/kg (Grupo II) y también la PHA-VC (Grupo IV) produjeron las más manifiestas diferencias en el conteo absoluto de neutrófilos, a pesar de que estas diferencias no estuvieron avaladas desde el punto de vista estadístico (Grupo II $p= 1,000$ y Grupo IV $p= 0,206$). El reducido tamaño de la muestra analizada pudiese ser responsable de estos resultados.

El tratamiento con los 2 tipos de PHA a distintas dosis no produjo diferencias significativas (Inter) en el conteo absoluto de linfocitos. Sin embargo, individualmente el suministro de cada una causó una elevación significativa de este parámetro después del tratamiento en algunos grupos (tabla).

La dosis de 10 mg/kg (Grupos II y IV) vs. 20 mg/kg y el uso de PHA-BETERA (Grupos II y III) vs. PHA-VC (Grupos IV y V) provocaron las mayores diferencias del

conteo absoluto de linfocitos antes y después de su suministro (fig. 2).

En la figura 3 se reflejan las diferencias medias entre los títulos de anticuerpos generados contra los hematíes de carnero antes y después de administrar las PHA, en este caso también los grupos tratados con la lectina mejoraron significativamente los títulos, efecto que fue más acentuado con el suministro de 20 mg/kg peso de PHA-BETERA a 2 mg/mL de concentración (Grupo III).

El examen microscópico del frotis sanguíneo antes de comenzar la administración de la PHA, no mostró alteraciones morfológicas en hematíes, leucocitos y plaquetas, ni se observaron células atípicas en ninguno de los animales. Al finalizar la administración del mitógeno se mantuvo este mismo patrón de normalidad en todos los casos.

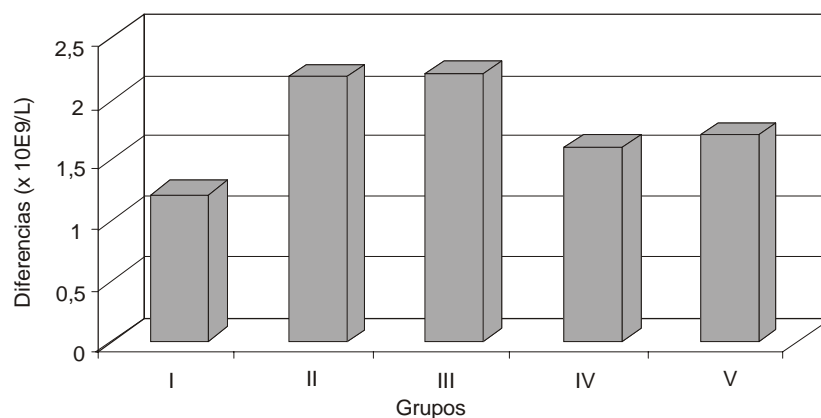
El resto de los indicadores analizados no mostró diferencias desde el punto de vista estadístico en la comparación horizontal. Aunque el conteo global de leucocitos mostró una tendencia al incremento en todos

TABLA. Efecto de la fitohemaglutinina (PHA) sobre el conteo absoluto de linfocitos y el título de anticuerpos contra hematíes de carnero

Grupo	Momento	Variable		Significación	
		CAL x 10 ⁹ /L media ± DE	Título (dilución) media ± DE	p1	p2
I	Antes	6,5 ± 1,7	1024 ± 2	0,206	1,000
	Después	7,7 ± 2,4	1024 ± 2		
II	Antes	5,9 ± 1,6	1024 ± 2	0,034	0,025
	Después	9,7 ± 5,0	2048 ± 2		
III	Antes	5,7 ± 0,8	1024 ± 2	0,011	0,002
	Después	8,2 ± 2,3	8192 ± 2		
IV	Antes	7,4 ± 1,0	1024 ± 2	0,011	0,034
	Después	9,6 ± 2,6	2048 ± 2		
V	Antes	6,6 ± 1,5	1024 ± 2	0,058	0,034
	Después	8,5 ± 2,0	2048 ± 2		

Antes: antes de administrar la PHA, Después: después de administrar la PHA, CAL: conteo absoluto de linfocitos, Título: título de anticuerpos desarrollados contra hematíes de carnero, p1 y p2: significación para el conteo absoluto de linfocitos y título de anticuerpos contra hematíes de carnero respectivamente.

Fuente: Laboratorio de Investigaciones Bioquímicas.



Fuente: Laboratorio de Investigaciones Bioquímicas

Fig. 4. Diferencias medias entre los valores del conteo global de leucocitos antes y después de administrar la fitohemaglutinina.

los grupos, tal como se refleja en la figura 4, solo en los grupos que recibieron las PHA los incrementos fueron significativos desde el punto de vista biológico. Los animales inoculados con la PHA-BETERA mostraron incrementos que fueron prácticamente el doble al valor del control, sin relación directa entre dosis de PHA empleada y magnitud del incremento.

DISCUSIÓN

La evolución del peso corporal tiene gran importancia en cualquier estudio de toxicidad, pues este parámetro es un reflejo del estado de salud general y a su vez es uno de los primeros índices que se afectan cuando existe algún daño orgánico o los animales están sometidos a cualquier estrés. Las PHA utilizadas mostraron un efecto anabólico importante independientemente de la fuente de procedencia. El peso corporal se incrementó más en los grupos que recibieron 20 en lugar de 10 mg/kg de peso corporal de PHA (grupos III y V), pero estos incrementos no tuvieron suficiente soporte

estadístico ($p= 0,226$ para PHA-BETERA; $p= 0,588$ para PHA-VC).

El tipo de fitohemaglutinina, además de la dosis, tuvo un efecto individual sobre el incremento de peso. La PHA producida en la provincia de Villa Clara generó mayores valores de aumento de peso que la PHA producida en los laboratorios BETERA, Ciudad de La Habana. Estas diferencias recibieron suficiente apoyo estadístico cuando se comparó cada grupo de ensayo con el grupo control (grupo II $p= 0,042$), (grupo III $p= 0,016$), (grupo IV $p= 0,013$), (grupo V $p= 0,0002$).

La respuesta proliferativa global de los linfocitos fue analizada mediante el conteo absoluto. En todos los grupos se puso de manifiesto una tendencia al incremento de este indicador después del suministro de las PHA (tabla). Sin relación directa con la dosis empleada, los grupos tratados con la PHA-BETERA respondieron con mayores incrementos respecto al grupo control que aquellos a los que se les administró la PHA-VC (fig. 2). En los primeros el aumento promedio fue 3,2 veces para el grupo II y

2,1 veces para el grupo III; mientras que en los segundos el incremento promedio fue 1,8 veces para el grupo IV y 1,6 veces para el grupo V.

Los resultados obtenidos en el conteo absoluto de linfocitos en los animales estudiados requieren de consideraciones particulares. Las opiniones son divergentes respecto a si la proliferación de linfocitos T se acompaña también de proliferación de células B, aunque la mayoría de los informes coinciden en que la blastogénesis inducida por la estimulación mitogénica ocurre fundamentalmente en células T, al menos *in vitro*.¹⁷⁻²⁰

Los incrementos en los conteos de linfocitos en estos animales pudiesen haber estado generados ciertamente por la proliferación de linfocitos T, sin descartar la posibilidad de que linfocitos B también hayan sido estimulados, bien directamente por la PHA, o mediante el auxilio de células T ya estimuladas; aunque no se encontraron referencias sobre estudios realizados *in vivo* que apoyen estos criterios.

A la PHA se le adjudica también un efecto inmunosupresor estudiado solo *in vitro*.²¹⁻²⁵ *Borrebaeck* y *Schon*²⁵ en trabajos con células T han encontrado que la PHA produce inhibición de la proliferación y la síntesis de ADN dependiente de la dosis. Tanto con la PHA-BETERA como con la PHA-VC (fig. 2), los incrementos en el conteo global de linfocitos en los grupos con dosis de 20 mg/kg fueron inferiores a los observados con 10 mg/kg, lo que podría ser una consecuencia de la generación de inhibidores inespecíficos inducidos por productos solubles liberados por los linfocitos estimulados; productos que al parecer estarían más aumentados en los animales que recibieron una mayor concentración de la PHA. Esta fundamentación estaría en concordancia

con los planteamientos de *Larsson* y *Blomgren*,²³ al respecto. Al mismo tiempo, los incrementos del conteo absoluto de linfocitos en este ensayo fueron, de forma general, inferiores para la PHA-VC, motivo por el cual, de manifestarse en este caso el efecto inmunosupresor, este sería más marcado para la lectina proveniente de la variedad de *Phaseolus vulgaris* "Judía roja Santo Domingo" que para la derivada de la variedad "Cueto".

De acuerdo con los resultados del título de anticuerpos puede concluirse que tanto la PHA proveniente de la variedad "Cueto" de *Phaseolus vulgaris*, como la derivada de la variedad "Judía roja Santo Domingo", es capaz de inducir incrementos en la producción de anticuerpos. Ello permite afirmar que, de algún modo, los linfocitos B de los animales expuestos a los mitógenos fueron estimulados a proliferar y diferenciarse en células plasmáticas productoras de inmunoglobulinas, lo cual confirma el criterio expuesto sobre la posibilidad de estimulación de dicha subpoblación de linfocitos.

La relación entre los títulos de anticuerpos y el conteo de linfocitos (figs. 2 y 3) muestra en los casos tratados con la PHA-VC que existe una correspondencia entre los resultados de los 2 indicadores. En estos, los incrementos fueron prácticamente idénticos. Sin embargo, impresiona como aparente contradicción el hecho de que el suministro de 10 mg/kg PHA-BETERA (grupo 2) tuviese mayores incrementos en el conteo de linfocitos e inferiores títulos de anticuerpos; mientras que una elevación del suministro de fitohemaglutinina a 20 mg/kg (grupo III) generó un efecto contrario. Procedería entonces la posible explicación de que la fitohemaglutinina estimule subpoblaciones de linfocitos T supresores,²³ estimulación que estaría inversamente relacionada con la

dosis, de manera que estas células estarían más aumentadas en el grupo II que en el III e inhibirían, de esta forma, la síntesis de inmunoglobulinas por las células B, en mayor medida para el grupo que recibió la menor dosis. Aun cuando en algún momento existiese inhibición de la proliferación, aquellos linfocitos B que ya han proliferado pudiesen responder, produciendo anticuerpos en mayor magnitud, en correspondencia con el incremento en la concentración de la PHA, la cual por otra parte estaría estimulando directamente a los linfocitos B. Esta podría aceptarse como una posible respuesta a los resultados. No puede descartarse, tampoco, el hecho de que ambas situaciones pudiesen estar ocurriendo de forma simultánea.

Se concluye, que ambas PHA tienen un efecto anabólico manifestado en incrementos de la masa corporal, correlacionado con la dosis aplicada y más evidente para la lectina derivada de la variedad "Judía roja Santo Domingo" de *Phaseolus vulgaris*. Ninguna de las PHA produce modificaciones en la morfología de las diferentes estirpes celulares del frotis sanguíneo. Los conteos celulares de polimorfonucleares neutrófilos, eosinófilos y monocitos, así como el hematócrito no sufren modificaciones atribuibles a la influencia de la PHA. La PHA-BETERA es más efectiva para producir incrementos en el número absoluto de linfocitos y su administración *in vivo* estimula a los linfocitos B a producir anticuerpos, propiedad más manifiesta para la lectina obtenida en los laboratorios BETERA.

IMMUNOMODULATOR EFFECT OF FITOHEMAGLUTININ OF *PHASEOLUS VULGARIS*

SUMMARY

An *in vivo* experimental model was developed to evaluate the potentiality of fitohemagglutinin from 2 varieties of *Phaseolus vulgaris* to modulate the immunological system. Male Wistar rats received 10 and 20 mg/kg of weight of fitohemagglutinin obtained from the varieties of "Cueto" dry bean and "Santo Domingo" red kidney bean. Both extracts were innocuous, increased the body mass of animals and did not modify either the haematocrit or the cellular counts of polymorphonuclear neutrophils, eosinophiles and monocytes. BETERA fitohemagglutinin obtained from *Phaseolus vulgaris* of the "Cueto" variety was more effective to produce increases in the number of circulating leukocytes and lymphocytes and to stimulate lymphocytes B for producing antibodies.

Key words: Fitohemagglutinin, immunomodulator effect, *Phaseolus vulgaris*, Wistar rats.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hamelryck TW, Dao-Thi MH, Poormans F, Chrispeels MJ, Wyns L, Loris R. The crystallographic structure of phytohemagglutinin-L. *J Biol Chem* 1996;271(34):20479-85.
2. Leavitt RD, Felsted RL, Bachur NR. Biological and biochemical properties of *Phaseolus vulgaris* isolectins. *J Biol Chem* 1977;252(9):2961-6.
3. Monsigny M, Jeune-Chung KH, Perrodon Y. Separation and biological properties of *Phaseolus vulgaris* isolectins. *Biochimie* 1978;60(11-12):1315-22.

4. Felsted RL, Leavitt RD, Chen C, Bachur NR, Dale RM. Phytohemagglutinin isolectin subunit composition. *Biochem Biophys Acta* 1981;668(1):132-40.
5. Li TJ, Osgood EE. A method for the rapid separation of leukocytes and nucleated erythrocytes from blood or marrow with phytohemagglutinin from red beans (*Phaseolus vulgaris*). *Blood* 1949;4:670.
6. Goto M, Swanson LW. Axonal projections from the parasubthalamic nucleus. *J Comp Neurol* 2004;469(4):581-607.
7. Lazaris AC, Chatzigianni EB, Paraskevskou H, Tseleni-Balafouta S, Davaris PS. Lectin histochemistry as a predictor of dysplasia grade in colorectal adenomas. *Pathol Oncol Res* 2000;6(4):265-71.
8. Hampel DJ, Kottgen B, Dudenhausen JW, Kottgen E. Fetal fibronectin as a marker for an imminent (preterm) delivery. A new technique using the glycoprotein lectin immunosorbent assay. *J Immunol Methods* 1999;224(1-2):31-42.
9. Ijima S, Kimura M, Shiba K. New detection method after cellulose acetate membrane isoelectric focusing: Activity staining for lactate dehydrogenase, detection for sugar chains using lectin and simple Western Blotting. *J Clin Lab Anal* 1999;13(5):234-40.
10. Wimer BM. Characteristics of PHA-L4, the mitogenic isolectin of phytohemagglutinin, as an ideal biologic response modifier. *Mol Biother* 1990;2(1):4-17.
11. Wimer BM. Putative effects of mitogenic lectin therapy corroborated by alloactivation data. *Cancer Biother Radiopharm* 1996;11(1):57-75.
12. Wimer BM. PHA for aplastic anemias: the alpha but not the omega of mitogen therapies. *Cancer Biother Radiopharm* 1998;13(2):109-20.
13. Wimer BM. Curative potential of foremost mitogen applications. *Cancer Biother Radiopharm* 2003;18(6):903-16.
14. Wimer BM, Morris RE. Mitogens for curative therapy of HIV-1 infections; an update. *Cancer Biother Radiopharm*. 2002;17(2):175-82.
15. Hernández P, Martín O, Rodríguez de Pablos Y, Ganen FA. Estudio de la fitohemagglutina proveniente del frijol colorado (*Phaseolus vulgaris*). *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* 1999;15(3):210-4.
16. Godhwani S, Godhwani JL, Vyas DS. *Ocimum sauctum*- A preliminary study evaluating its immunomodulatory profile in albino mice. *J Ethnofarmacol* 1988;24:193-8.
17. Shankey TV, Daniele RP, Nowell PC. Kinetics of mitogen-induced proliferation and differentiation of human peripheral blood B lymphocytes. *Clin Exp Immunol* 1981;44(1):156-66.
18. Utsinger PD, Yount WJ, Fallon JG, Loge MJ, Fuller CR, Elliot D. Cytofluorometric analysis of the kinetics of lymphocyte transformation after phytohemagglutinin stimulation: comparison with the kinetics of thymidine incorporation. *Blood* 1977;49(1):33-46.
19. Clement LT, Dagg MK, Lehmyer JE, Kiyotaki M. Two phenotypically distinct suppressor T cell subpopulations inhibit the induction of B cell differentiation by phytohemagglutinin. *J Immunol* 1983;131(3):1214-7.
20. Knuutila S, Kovanen PE. Relative proportions of mitotic T and B cells in PHA-stimulated lymphocyte cultures. *Cancer Genet Cytogenet* 1987;20(1):151-4.
21. Kurnick JT, Bell C, Grey HM. PHA-induced activation of suppressor cells in normal human peripheral blood lymphocytes. *Scand J Immunol* 1976;5(6-7):771-8.
22. Mawas C, Charnot D, Comoy A, Sasportes M. Suppression of generation of human cytotoxic effectors by lectins or lectin-activated peripheral blood lymphocytes. *Eur Immunol* 1977;7(1):11-5.
23. Larsson EL, Blomgren H. Evidence that nonspecific inhibitors are induced by soluble products of activated human lymphocytes. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1978;57(4):333-40.
24. Wimer BM. Immunosuppressive applications of PHA and other plant mitogens. *Cancer Biother Radiopharm* 1998;13(2):99-107.
25. Borrebaeck CA, Schon A. Antiproliferative response of human leukemic cells: lectin induced inhibition of DNA synthesis and cellular metabolism. *Cancer Res* 1987;47(16):4345-50.

Recibido: 9 de enero de 2004. Aprobado: 4 de febrero de 2005.

Dr. *Vladimir Ruiz Álvarez*. Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos. Departamento de Bioquímica y Fisiología. Calzada de Infanta 1158, entre Clavel y Llinás, CP 10300, Ciudad de La Habana, Cuba. Teléfono: (537) 87 95183; Correo electrónico: vladimirruiz@infomed.sld.cu; vlavo2003@hotmail.com