

EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD *IN VITRO* E *IN VIVO* DE LECTINAS DE FRIJOL TÉPARI

EVALUATION OF THE TOXICITY *IN VITRO* AND *IN VIVO* OF LECTINS OF TEPARY BEAN

LÓPEZ-SÁNCHEZ C.
LÓPEZ-MARTÍNEZ FJ.
CASTAÑEDA-CUEVAS AL.
YLLESCAS-GASCA L.
FERRIZ-MARTÍNEZ RA.
TORRES-ARTEAGA IC.
GARCÍA-GASCA T.
Facultad de Ciencias Naturales.
Universidad Autónoma
de Querétaro.
tggasca@gmail.com

GALLEGOS-CORONA MA.
RODRÍGUEZ-MÉNDEZ AJ.
Facultad de Medicina. Universidad
Autónoma de Querétaro.

MENDIOLA-OLAYA E.
BLANCO-LABRA A.
Departamento de Biotecnología
y Bioquímica. Centro de Investi-
gación y Estudios Avanzados del
Instituto Politécnico Nacional.
Unidad Irapuato.

Introducción

El interés en el estudio de las leguminosas ha aumentado debido a su contenido de fitoquímicos (Anderson *et al.*, 1999), algunos de ellos considerados como compuestos antinutricios, como el caso de las lectinas (González de Mejía *et al.* 1989; Idouraine y Yensen, 1991). Dichas proteínas, en su mayoría glicoproteínas, están presentes en la mayoría de los seres vivos. Particularmente, las lectinas vegetales son capaces de reconocimiento específico para un determinado carbohidrato uniéndose reversiblemente, por lo que pueden aglutinar células de diferentes tipos (Sharon y Lis, 2002; Castillo y Abdullaev, 2005; González de Mejía y Prisecaru, 2005). Entre las alteraciones que sufren las células cancerígenas están los cambios en los patrones de glicosilación de membrana (Nishimura *et al.* 2004). Dichos cambios se presentan de forma diferente en cada tipo de cáncer y en diferentes estadios de la enfermedad (Cummings, 2008). Algunas lectinas vegetales inhiben el crecimiento de células cancerosas en función de la concentración y de manera diferencial (Kiss *et al.* 1997; Lyu *et al.* 2002; Maier y Fiebig, 2002).

Estudios previos realizados en nuestro laboratorio han mostrado que fracciones proteínicas de frijol tépari

Resumen

Las lectinas de la dieta han sido consideradas como factores antinutricios y algunas de ellas son tóxicas para el ser humano. Ciertas lectinas presentan propiedades anticancerígenas por lo que es necesario evaluar su perfil toxicológico. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de fracciones semipuras de lectina de frijol tépari en la sobrevivencia de diferentes tipos de células de cáncer humano y sus efectos tóxicos *in vivo*. La fracción semipura (LFT) mostró un efecto citotóxico diferencial sobre células de cáncer humano en función de la concentración. Por otro lado, la fracción concentrada en lectina (FCL) presentó baja toxicidad por vía oral, tanto a nivel agudo como subcrónico sin embargo, se observaron efectos antinutricios. Los resultados sugieren que la dosis de 50 mg/kg de peso podría ser probada para iniciar los estudios contra cáncer.

Palabras clave: Citotoxicidad, frijol tépari, lectina, *Phaseolus acutifolius*, toxicidad.

Abstract

Dietary lectins have been considered anti-nutritional factors and some of them are toxic to humans. Some lectins have anticancer properties, therefore is necessary to evaluate their toxicological profile. The aim of this study was to evaluate the effect of semipure fractions of tepary bean lectin on survival of different types of human cancer cells and its toxic effects *in vivo*. Semipure fraction (LFT) showed differential cytotoxic effect on human cancer cells as a function of concentration. On the other hand, the concentrated lectin fraction (FCL) showed low oral toxicity, both on acute and subchronic levels however, anti-nutritional effects were observed. The results suggest that the dose of 50 mg/kg could be tested to begin studies against cancer.

Key words: Cytotoxicity, lectin, *Phaseolus acutifolius*, tepary bean, toxicity.

presentan actividad citotóxica (García-Gasca, 2002) y se observó que una fracción proteínica concentrada en lectina de frijol tépari afectó diferencialmente a fibroblastos de ratón 3T3 normales y cancerígenos ya que, para provocar la muerte de los últimos, se requirió aproximadamente ocho veces más proteína que la requerida para provocar el mismo efecto sobre las células normales (Hernández, 2005). Resulta importante determinar el potencial de lectinas de frijol tépari como agente contra cáncer sin embargo, es necesario contar previamente con los datos toxicológicos para conocer la dosis segura que podrá ser empleada en estudios contra cáncer in vivo.

Material y Métodos

Obtención de la FCL. Las semillas de frijol tépari (*Phaseolus acutifolius*) fueron adquiridas en un el mercado local de Hermosillo, Sonora. La FCL se obtuvo mediante cromatografía de exclusión de peso molecular (García-Gasca, 2002). A cada fracción se le determinó la concentración de proteína por el micrométodo de Bradford (1976) y se colectaron en una sola fracción aquellas con actividad aglutinante (Jaffé, 1980) utilizando eritrocitos de conejo fijados con glutaraldehído (Turner y Liener, 1975). Posteriormente se obtuvo una segunda fracción semipura de lectina de frijol tépari (LFT) mediante cromatografía de intercambio iónico (López, 2007). Debido a la disponibilidad de cada fracción, la LFT fue utilizada únicamente para los ensayos *in vitro*, mientras que para los estudios *in vivo* se utilizó la FCL.

Determinación del efecto citotóxico de la fracción concentrada de la lectina de frijol tépari. Se utilizaron líneas celulares humanas de cáncer cérvico-uterino (SiHa (VPH16), HeLa (VPH18) y C33A (VPH negativo)); mama (MCF7 (tipo glandular) y ZR-75-1 (tipo ductal)) y colon (CaCo2). Asimismo, se utilizaron células IEC-18, de íleon normal murino como contraparte normal de células CaCo2. Las células se mantuvieron según indicaciones en cada caso (ATCC, 2005). Para el ensayo biológico se sembraron (1×10^4 ó 3×10^4 células por pozo) en placas de 24 pozos en DMEM suplementado de acuerdo a los requerimientos de cada línea celular. Después de 24 h, se contó el número de células de dos pozos de cada placa para obtener el control inicial del experimento y el medio de cultivo del resto de los pozos se cambió por DMEM adicionado con 0.5% de

albúmina sérica de bovino (ASB, Serologicals) y diferentes concentraciones de la fracción semipura de lectina. Después de 24 ó 72 horas de incubación, según el caso, el número celular se determinó cosechando las células con tripsina al 0.15% y contándolas con un hemocitómetro (García-Gasca *et al.* 2002). El porcentaje de sobrevivencia se obtuvo respecto al control inicial del experimento.

Estudio de toxicidad aguda oral. Todas las pruebas toxicológicas en animales fueron llevadas a cabo observando los lineamientos de la NOM-062-ZOO-1999 y de la FDA S1B. Los animales se mantuvieron en jaulas individuales a una temperatura aproximada de 22° C con una humedad relativa de al menos el 30%, la iluminación fue artificial con ciclos de luz-oscuridad de 12 h cada uno. La alimentación fue en base a una dieta convencional para roedores de laboratorio y agua ad libitum. Se seleccionaron los animales al azar, se marcaron para permitir su identificación individual y se les mantuvo en sus jaulas por al menos 5 días previos a la administración de la dosis como periodo de adaptación. Para el estudio de toxicidad aguda se utilizaron las dosis previamente establecidas de acuerdo a la guía clásica de la toxicidad aguda (OECD 423, 2001). Se utilizaron tres ratas Sprague Dawley por cada grupo, hembras sanas, nulíparas y no gestantes, de 8 semanas de edad, divididas en 1 grupo control y 4 grupos con tratamiento (5, 50, 300 y 2000 mg/kg de peso). Los animales fueron puestos en ayuno durante toda la noche previa a la administración de la dosis y se dejó el agua a libre demanda. Posterior al periodo de ayuno, cada uno de los animales fue pesado y se calculó la dosis a administrar en base al peso corporal. El concentrado de lectina se administró como dosis única por vía intragástrica en un volumen constante no mayor de 1 mL/100 gr de peso corporal. La alimentación se reinició en un periodo de 3-4 h posterior a la administración y se observaron de manera individual por al menos una vez durante los primeros 30 min posteriores a la administración y periódicamente durante las primeras 24 h (con especial atención durante las primeras 4 h) y posteriormente diariamente hasta completar un total de 14 días. Todas las observaciones fueron registradas sistemáticamente de forma individual.

Los animales fueron sacrificados por dislocación cervical y se les realizó una necropsia gruesa en la que se observaron, se pesaron y se disecta-

ron los siguientes órganos: hígado, riñones, bazo, timo, estómago, corazón, pulmones, intestino delgado y colon. En el caso de estómago, intestino delgado y colon, previo al registro de peso, se colocaron en recipientes con solución salina fría, se cortaron longitudinalmente para realizar la limpieza (eliminar restos de alimento y heces), se pesaron y se colocaron en frascos de formol al 10% para su procesamiento. Las muestras fijadas fueron incluidas en parafina con el fin de permitir su corte y teñidas con hematoxilina y eosina para permitir su estudio al microscopio.

Estudio de toxicidad subcrónica oral. Para el estudio de toxicidad subcrónica se incluyó un grupo control y 3 grupos con tratamiento (OECD 407, 2006). Se utilizó la dosis máxima obtenida en el estudio de toxicidad aguda que no haya ocasionado efectos tóxicos y dos dosis inferiores (5, 10 y 50 mg/kg de peso). Se utilizaron 20 ratas Sprague Dawley de 8 semanas de edad (10 hembras sanas, nulíparas y no gestantes y 10 machos) para cada grupo experimental. El concentrado de lectina se administró diariamente en un volumen constante por vía intragástrica. Cada uno de los animales fue pesado semanalmente y se determinó diariamente el consumo de alimento hasta completar un periodo de 28 días en el que fueron sacrificados por dislocación cervical y se siguió la metodología descrita anteriormente para el estudio de toxicidad aguda.

Análisis estadístico. Para los análisis estadísticos se llevaron a cabo comparación de medias entre dos muestras (t de student, $p < 0.05$), ANOVA para la comparación entre varios tratamientos (Tukey, $p < 0.05$) o para comparar cada tratamiento respecto a su control (Dunnnett, $p < 0.05$) utilizando el programa SPSS versión 12.0. Para calcular las concentraciones letales cincuenta (CL50) se realizaron regresiones lineales del porcentaje de sobrevivencia contra el logaritmo de la concentración.

Resultados y Discusión

Efecto citotóxico de la LFT. Se determinó que la LFT provocó efecto citotóxico diferencial en función de la concentración sobre células de diferentes tipos de cáncer humano (Tabla 1). La Figura 1 muestra los valores para las CL50 en cada caso. Las células más sensibles al efecto citotóxico de la LFT fueron las de cáncer de colon CaCO₂ y las de cáncer de mama glandular MCF-7. Las células más resistentes al efecto de la LFT fueron las células HeLa de cáncer cérvico-uterino. Debido al resultado anterior, se determinó el efecto de la LFT sobre células normales y cancerígenas. Dado que las células CaCO₂ fueron las más sensibles, se utilizaron células IEC-18 de epitelio intestinal normal como su contraparte.

Tabla 1. Porcentajes de sobrevivencia de células de cáncer tratadas con la LFT.

	CÉLULAS MCF-7	CÉLULAS ZR-75-1	CÉLULAS C-33A	CÉLULAS SiHa	CÉLULAS HeLa	CÉLULAS CaCO ₂
TRATAMIENTO (μ g proteína/mL)	% S ¹	% S	% S	% S	% S	% S
Control inicial	100 (b)	100 (b, c)	100 (a, b)	100 (b, c)	100 (b, c)	100 (b, c)
Control	97.2 (b)	179.72 (c, d*)	186.12 (c, d*)	103.17 (b, c)	130.67 (c)	188 (d*)
0.0109	ND	197.25 (d*)	ND	134.5 (c)	ND	128.7 (c, d)
0.109	96.63 (b)	169.75 (c, d)	215.1 (d*)	109 (b, c)	ND	93.9 (b, c)
1.09	66.96 (a, b)	120.67 (b, c, d)	145.66 (b, c)	ND	120.67 (b, c, d)	64.9 (a, b, c)
10.9	36.25 (a, b*)	49.45 (a, b)	51.72 (a)	73.33 (b)	65.33 (a, b)	27.7 (a, b*)
85	4.72 (a*)	13 (a*)	34.46 (a*)	11.83 (a*)	37.5 (a*)	7.4 (a*)

1. El porcentaje de sobrevivencia se calculó tomando como 100% el número de células al inicio del experimento (control inicial). Las letras minúsculas indican diferencia estadística significativa entre los diferentes tratamientos y controles (Tukey, $p \leq 0.05$). Los asteriscos (*) indican diferencia estadística significativa entre cada tratamiento respecto al control correspondiente (Dunnnett, $p \leq 0.05$). ND: No determinado

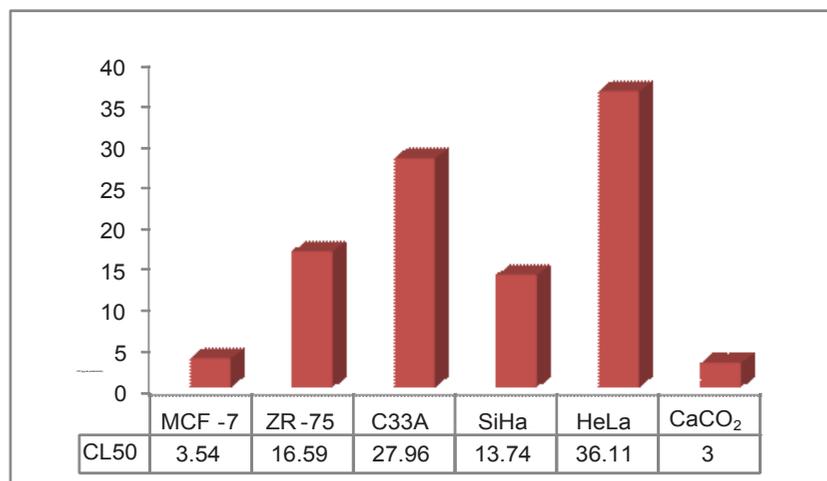


Figura 1. Comparaciones de las CL_{50} calculadas para células de diferentes tipos de cáncer humano tratadas durante 72 horas con la LFT. A partir de los resultados obtenidos en las curvas dosis-respuesta se calcularon los porcentajes de sobrevivencia celular. En cada caso se calculó la CL_{50} mediante regresiones lineales del porcentaje de sobrevivencia, respectivamente, contra el logaritmo de la concentración.

A diferencia de los experimentos anteriores, se determinó el efecto a 24 horas de tratamiento (Tabla 2). La LFT presentó efecto citotóxico sobre las dos líneas celulares en función de la concentración. Se calcularon las CL_{50} para cada caso (Figura 2) en donde se observó que la CL_{50} obtenida para $CaCO_2$ fue aproximadamente tres veces menor que la obtenida para las células normales. El efecto citotóxico diferencial de la LFT se debe, probablemente, a los cambios a nivel de glicocáliz característicos de las células cancerígenas (Cummings, 2008 Nishimura *et al.* 2004).

Tabla 2. Porcentajes de sobrevivencia de células de cáncer de colon y células de epitelio intestinal normal tratadas con la LFT.

TRATAMIENTO (μg proteína/mL)	CÉLULAS $CaCO_2$	CÉLULAS IEC-18
	% S ¹	% S
Control inicial	100 (d)	100 (c)
Control	85.9 (c, d)	135.8 (d*)
$1.09e^{-2}$	87 (c, d)	128.8 (c, d*)
$1.09e^{-1}$	76.5 (c, d)	106.1 (c)
1.09	53 (b, c*)	68.5 (b*)
10.9	28.3 (a, b*)	47.2 (a, b*)
85	13.9 (a*)	22.3 (a*)

1. El porcentaje de sobrevivencia se calculó tomando como 100% el número de células al inicio del experimento (control inicial). Las letras minúsculas indican diferencia estadística significativa entre los diferentes tratamientos y controles (Tukey, $p \leq 0.05$). Los asteriscos (*) indican diferencia estadística significativa entre cada tratamiento respecto al control correspondiente (Dunnett, $p \leq 0.05$). ND: No determinado.

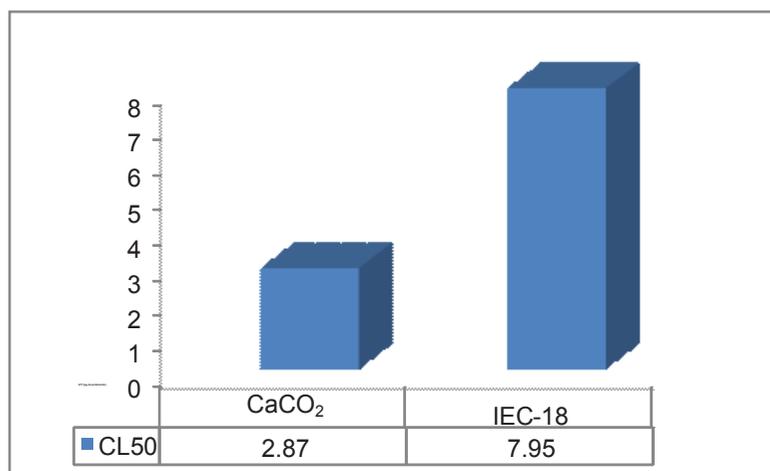


Figura 2. Comparación de las CL₅₀ calculadas para células de cáncer de colon y células de epitelio intestinal normal tratadas durante 24 horas con la LFT. A partir de los resultados obtenidos en las curvas dosis-respuesta se calcularon los porcentajes de sobrevivencia celular. En cada caso se calculó la CL₅₀ mediante regresiones lineales del porcentaje de sobrevivencia, respectivamente, contra el logaritmo de la concentración.

Estudio de toxicidad in vivo. Después de la administración oral de las diferentes dosis únicas de la FCL se observaron signos clásicos de toxicidad por lectinas, como aletargamiento, piloerección y diarrea durante las primeras 48 horas con las dosis más altas probadas (300 y 2000 mg/kg de peso corporal) sin embargo, los animales se recuperaron totalmente a partir de las 48 h. En este caso se presentaron los signos de toxicidad a nivel gastrointestinal pero no se observó falta de crecimiento ni la muerte de los animales en estudio, lo que sugiere baja toxicidad de la lectina estudiada con respecto a otras (Patocka, 2008). Reynoso y col. (2003) observaron que la lectina de frijol tépari por vía intraperitoneal en dosis de 700 μ g de lectina/g de peso corporal produjo diarrea en ratones CD-1, además de que por esta vía de administración la dosis letal cincuenta (DL50) fue de 1100 y 1120 mg de lectina/kg de peso corporal para machos y hembras, respectivamente. En este estudio no fue posible determinar la DL50 debido a que la toxicidad disminuyó dada la vía de administración.

El consumo diario de alimento y el peso corporal no presentaron variaciones significativas

($p < 0.05$) entre los grupos de estudio (datos no mostrados). No se observaron alteraciones macroscópicas en los órganos estudiados al realizar la necropsia, tampoco se observaron diferencias en el peso de los órganos, excepto en riñones, en los que se observó una disminución ($p \leq 0.05$) en los grupos de 50 y 300 mg/kg respecto al grupo control (Figura 3). Algunos autores han señalado que con la administración oral de la lectina de frijol común (PHA) a dosis de 0.5-1 g/kg se presenta un ligero agrandamiento de los riñones, además de una moderada reducción en el peso de hígado (Pusztai y Bardocz, 1996). Sin embargo, aún a dosis elevadas, dichos efectos no fueron observados para la toxicidad aguda de la FCL. En el caso de la toxicidad aguda de la lectina de frijol tépari por vía intraperitoneal, se reportó un aumento del peso del bazo, una marcada disminución en el peso del timo y una disminución del peso del hígado y riñones en los animales tratados con la lectina (Reynoso *et al.* 2003). En este caso también se presentó una disminución del peso de los riñones y será necesario confirmar si este efecto se debe a alguna alteración funcional o sólo a variación individual.

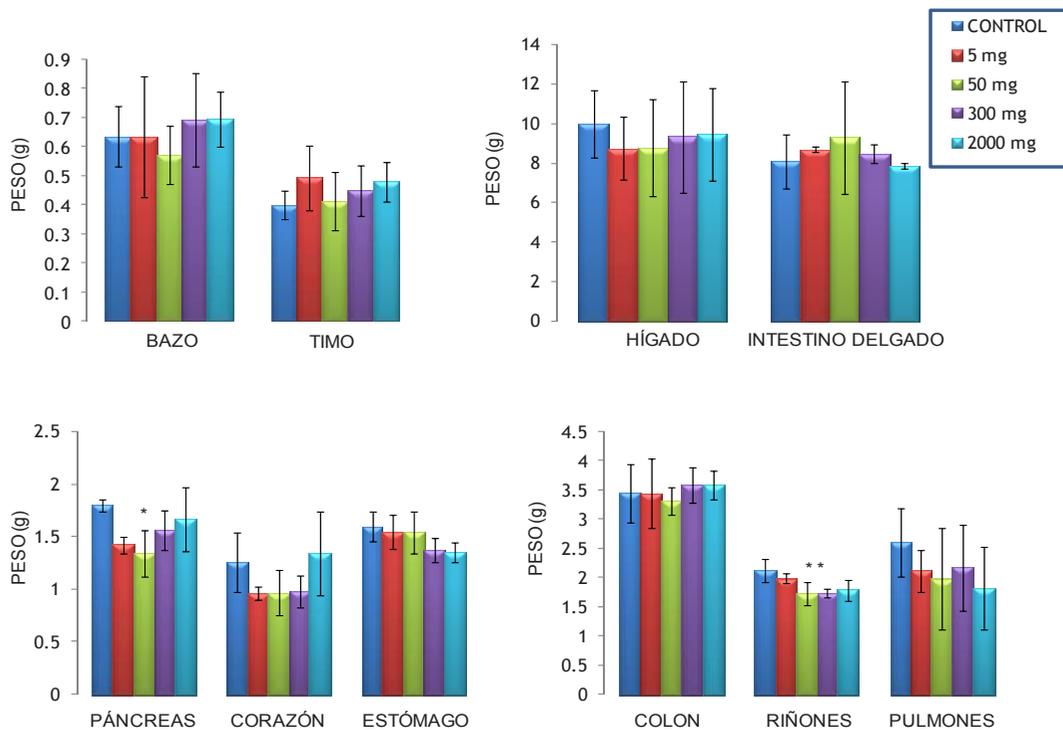


Figura 3. Peso de los órganos obtenidos a de animales sometidos al estudio de toxicidad aguda de la FCL. Después de la necropsia se realizó un análisis macroscópico de los órganos, se pesaron y se fijaron el formol. Las letras minúsculas indican diferencias estadísticas del peso de los órganos entre tratamientos (Tukey $p \leq 0.05$). Los asteriscos indican diferencias estadísticas respecto al control (Dunnett $p \leq 0.05$)

Los análisis histopatológicos de los órganos estudiados no mostraron alteraciones (Figura 4). Debido a que la dosis de 50 mg/kg de peso no presentaron efectos tóxicos o adversos, se determinó utilizarla como dosis máxima en el estudio de la toxicidad subcrónica por vía oral.

Estudios de toxicidad subcrónica. Se administraron tres dosis de la FCL (5, 10 y 50 mg/ kg de peso corporal). Únicamente se observó una disminución ($p < 0.05$) al séptimo día con la dosis más baja probada para el caso del consumo de alimento de machos. En ninguno de los demás casos se observaron diferencias en el consumo de alimento y peso corporal en hembras y machos (datos no mostrados).

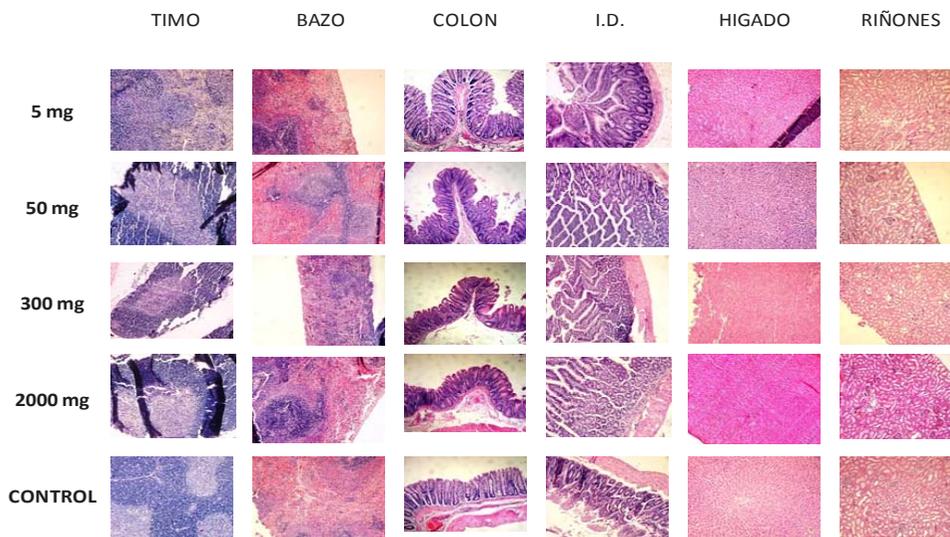


Figura 4. Análisis histopatológico de los órganos de animales sometidos al estudio de toxicidad aguda de la FCL. Después de la necropsia se realizó un análisis macroscópico de los órganos, se pesaron y se fijaron el formol. Posteriormente se realizaron los cortes histopatológicos y se observaron a un aumento de 40x.

No se observaron alteraciones macroscópicas evidentes en ninguno de los órganos estudiados en las ratas de ambos sexos al realizar la necropsia. Se determinó el peso de órganos de hembras y machos (Figura 5) y se realizó el análisis histopatológico para órganos de hembras y de machos. El peso del intestino delgado presentó una disminución ($p \leq 0.05$) en el grupo de 5 mg/kg con respecto a los diferentes tratamientos, tanto en hembras como en machos. Se ha observado que la inclusión de proteína de *Phaseolus vulgaris* en la dieta de ratas provoca un aumento del doble del peso del intestino delgado (Greer *et al.* 1985). Algunos autores han reportado que la unión de la lectina al epitelio es obligatoria para la estimulación del crecimiento y la actividad del factor de crecimiento está determinada por la duración e intensidad de su unión (Pusztai y Bardocz, 1996). En este caso, se observó una disminución del peso del intestino delgado con la dosis más baja y en las hembras se observó solo una tendencia no significativa al incrementar la concentración.

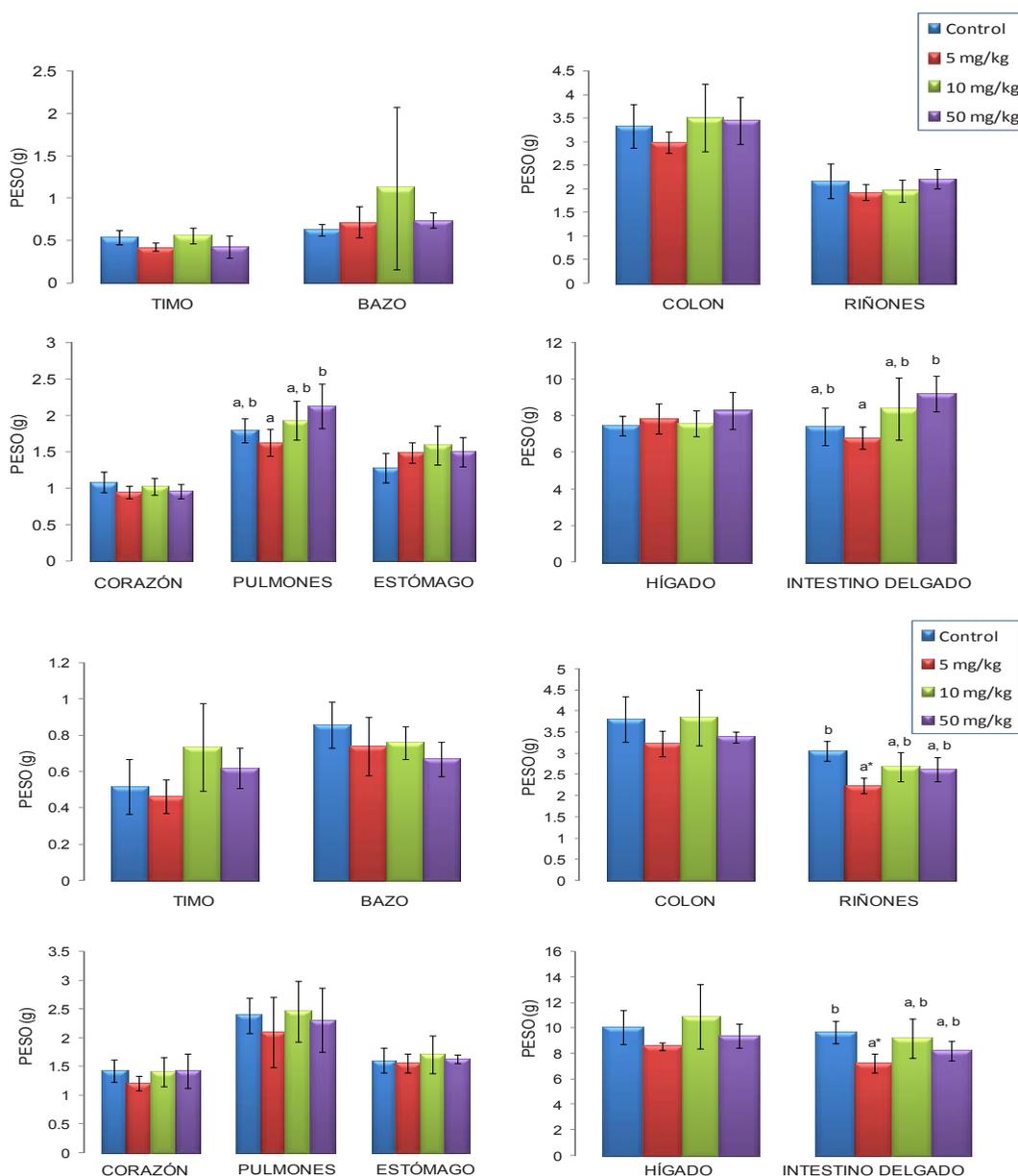


Figura 5. Peso de los órganos obtenidos a de animales hembra (A) y macho (B) sometidos estudio de toxicidad subcrónica de la FCL. Después de la necropsia se realizó un análisis macroscópico de los órganos y se pesaron. Las letras minúsculas indican diferencias estadísticas entre tratamientos (Tukey $p \leq 0.05$). Los asteriscos indican diferencias estadísticas respecto control (Dunnett $p \leq 0.05$).

El peso de hígado y riñones para hembras y para machos no mostraron alteraciones excepto para los riñones del grupo de machos con la dosis de 5 mg/kg ya que se observó disminución del peso ($p \leq 0.05$). Nuevamente llama la atención que el efecto se haya presentado con la dosis de 5 mg/kg de peso. Será importante determinar si dosis bajas de la FCL presentan alguna alteración a nivel de función renal. No se observaron alteraciones del peso de timo y bazo en hembras ni en machos. De igual forma, no se observaron efectos en el peso de corazón y estómago. Los análisis histopatológicos no mostraron alteraciones en ninguno de los órganos estudiados (datos no mostrados).

Entre los efectos adversos presentados por algunas lectinas se ha observado que dietas que contienen proteína de *Phaseolus vulgaris* afectan el peso de algunos órganos internos, tales como atrofia de timo (Greer et al. 1985). Algunas lec-

tinias administradas oralmente, como la de frijol navy crudo, pueden provocar también un incremento de peso en el corazón e hígado graso así como múltiples lesiones histológicas (Tareq al-Ati, 2001). Sin embargo, algunos estudios han mostrado que las lectinas también pueden reducir el peso del corazón (Pusztai y Bardocz, 1996). Lo anterior muestra que el efecto dependerá de la lectina estudiada, ya que su mecanismo de acción dependerá a su vez de su especificidad a órganos blanco.

Algunos estudios han reportado que el frijol tépari es muy tóxico en su estado crudo causando gran pérdida de peso, proporción de eficiencia negativa de proteínas, utilización neta negativa de proteínas, pobre digestión de proteínas y la muerte de ratas y ratones al cabo de 10 días (Osman et al. 2003). No obstante lo anterior, en este estudio no se observaron las alteraciones mencionadas.

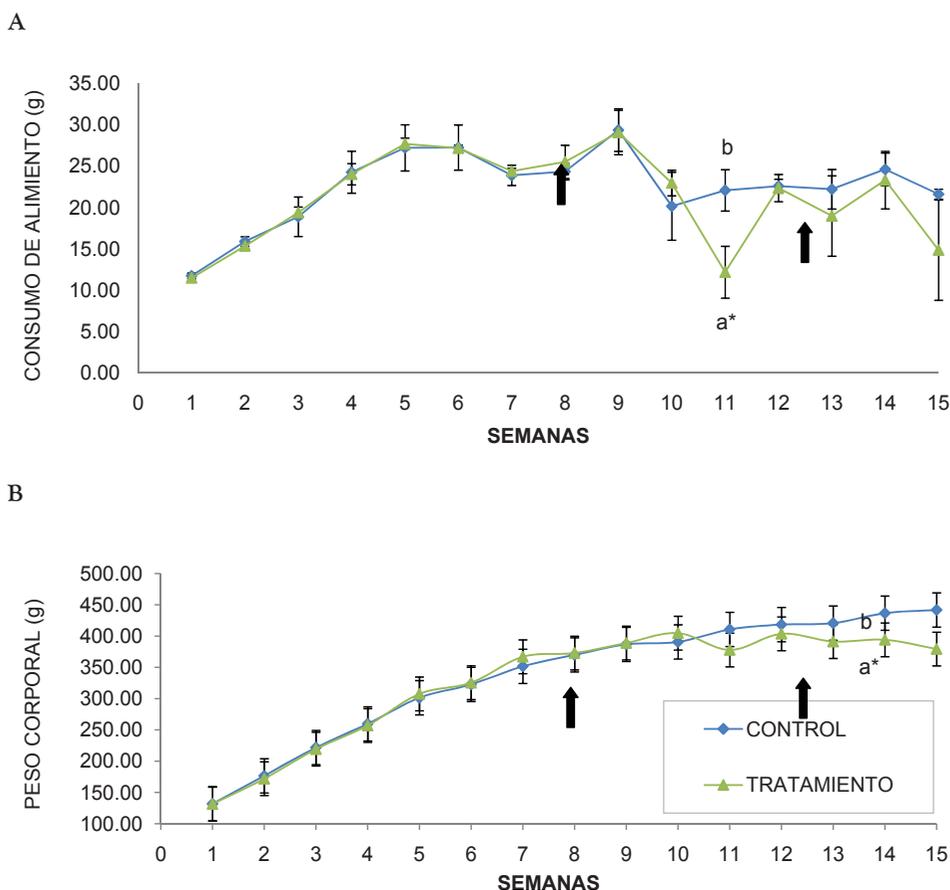


Figura 6. Consumo de alimento y peso corporal de ratas Sprague Dawley tratadas con 50 mg/kg de FCL en el estudio de toxicidad subcrónica. El consumo de alimento (A) y el peso de los animales (B) fue registrado semanalmente, indicando con flechas el inicio y el final del tratamiento con FCL. Las letras minúsculas indican diferencias estadísticas del peso de los órganos entre tratamientos (Tukey $p \leq 0.05$). Los asteriscos indican diferencias estadísticas respecto al control (Dunnett $p \leq 0.05$).

Debido a que la dosis de FCL 50 mg/kg de peso no presentó efectos tóxicos evidentes, se realizó una prueba en ratas macho en la que se incluyeron marcadores clínicos de toxicidad bajo un esquema de administración vía intragástrica tres veces por semana por un periodo de 6 semanas. Se observó una disminución significativa en el consumo de alimento en la tercera semana de haber iniciado el tratamiento, teniendo una recuperación en las siguientes tres semanas de la administración (Figura 6A). El peso corporal no se alteró durante el tratamiento con FCL sin embargo, se observó disminución al término del tratamiento ($p < 0.05$) (Figura 6B). La comparación de los pesos de los diferentes órganos analizados no mostraron diferencia significativa ($p < 0.05$) entre el control y el tratamiento (datos no mostrados).

El efecto tóxico del FCL a la dosis de 50 mg/kg no presentó efectos significativos en pruebas de suero sanguíneo para daños hepáticos y renales (Tabla 3) sin embargo, se observó disminución en los niveles de albumina ($p < 0.05$). Algunas lectinas se unen a el epitelio intestinal de las ratas e interfieren con la absorción de nutrientes (Lajolo

y Genovese, 2002). Al incluirlas en una dieta de 0.73 mg/g, las lectinas de la soya han mostrado una reducción en la retención del nitrógeno y un aumento de la excreción de nitrógeno a través de la orina, indicando interferencia con el metabolismo de la proteína (Czerwinski *et al*, 2005). En conjunto, la disminución de peso al final del tratamiento y la disminución de los niveles de albúmina sugieren efecto antinutricio de la FCL. Lo anterior deberá ser confirmado prestando especial atención en estos y otros marcadores del estado nutricio de los animales. Será necesario confirmar los datos obtenidos con la finalidad conocer los posibles efectos adversos pero, por sus características toxicológicas, la FCL en dosis de 50 mg/kg de peso puede resultar adecuada para iniciar el estudio de la evaluación del potencial anticancerígeno.

Agradecemos el apoyo económico de PROMEP (103.5/04/2830), FOMIX (QRO-2007-C01-78221). Gracias a Botello-Pacheco R, Picones-Puebla C, González-Arroyo AB, Castro-Guillén JL, Padilla-Torres JA y Ángeles-Zaragoza MV por el apoyo técnico.

Tabla 3. Comparación del efecto toxico de FCL sobre hígado, riñón y nutrición.

GRUPOS	PRUEBA	Control	Lectina	Valores de referencia ¹
TOXICIDAD HEPATICA	TGP (U/L)	65.4±14	67.7±15.9	35-80
	TGO (U/L)	246.8±92.9	184±29.7	39-262
	BT (mg/dL)	0.2±0.094	0.1±0.042	0.2-0.5
	BD (mg/dL)	0.1±0.024	0.1±0.036	ND
TOXICIDAD RENAL	CREATININA (mg/dL)	0.9±0.05	0.85±0.10	0.5-1
	UREA (g/dL)	49.8±6.1	53.3±6.5	ND
MARCADORES NUTRICIOS	GLUCOSA (g/dL)	61.2±10.7	70±12.5	50-160
	COLESTEROL (mg/dL)	55±12.06	56±25.07	40-130
	TRIGLICERIDOS (mg/dL)	29.4±5.98	31±12.33	ND
	HDL (mg/dL)	22.8±3.19	22.5±7.72	ND
	PROTEÍNA TOTAL (g/dL)	6.8±0.0207	6.6±0.036	5.9-7.9
	ALBUMINA (g/dL)	3.5±0.089	3.2±0.058 *	2.8-4.4

1. Valores de referencia para ratas de laboratorio (Canadian Council on Animal Care, 2005)

Referencias Bibliográficas

- Anderson JW, Smith BM, Washnock CS. 1999. Cardiovascular and renal benefits of dry bean and soybean. *American Journal of Clinical Nutrition*. 70 Suppl:464-474
- ATCC. American Type of Culture Collection. 2005. <<http://www.atcc.org>> 11 de enero del 2009.
- Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye-binding. *Analytical Biochemistry*. 72:248-252.
- Canadian Council on Animal Care. 2005. <<http://www.ccac.ca>> 12 de enero del 2010
- Castillo C, Adbullaev F. 2005. Lectinas vegetales y sus efectos en el cáncer. *Revista de Investigación Clínica*. 57(1):55-64
- Cummings RD. 2008. Plant Lectins. En: *Essentials of glycobiology*. Varki, A.; Cummings, R.D.; Esko, J.D.; Freeze, H.H.; Stanley, P.; Bertozzi, C.R.; Hart, G.W.; Etzler, M.E., eds. 2^o edition. Plainview (NY): Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Czerwinski JH, Leontowicz M, Gralak MA. 2005. Response of rats to a moderate intake of soybean lectin. *Journal of Animal and Feed Sciences*. 14 (suppl 1):537-540
- FDA S1B. Testing for Carcinogenicity of Pharmaceuticals. <<http://www.fda.gov/cder/Guidance/index.htm#Investigational%20New%20Drug%20Applications>> 17 de septiembre del 2008
- García-Gasca T. 2002. Efectos biológicos de una fracción proteínica de Frijol Tépari con actividad Antiproteolítica y Citoaglutinante Sobre Fibroblastos Murinos Transformados. Tesis doctoral. Facultad de Química. Posgrado en Alimentos del Centro de la República (PROPAC). Santiago de Querétaro, Qro.
- García-Gasca T, Salazar Olivo LA, Mendiola-Olaya E, Blanco-Labra A. 2002. The effects of a protease inhibitor fraction from tepary bean (*Phaseolus acutifolius*) on in vitro cell proliferation and cell adhesion of transformed cells. *Toxicology In Vitro*: 16:229-233.
- González de Mejía E, Hankins CN, Paredes-López O, Shannon ML. 1989. The lectins and lectin-like proteins of tepary beans (*Phaseolus acutifolius*) and tepary-common bean (*Phaseolus vulgaris*) hybrids. *Journal of Food Biochemistry*. 14:117-126
- González de Mejía E. y Prisecaru V. I. 2005. Lectins as Bioactive Plant Proteins: A Potential in Cancer Treatment. *Crit Rev Food Sci Nutr* 45:425-445.
- Greer F, Brewer AC, Pusztai A, 1985. Effect of kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) toxin on tissue weight and composition and some metabolic functions of rats. *British Journal of Nutrition*. 54(1):95-103
- Hernández Rivera E. 2005. Efecto citotóxico de una fracción rica en lectina de frijol tépari (*Phaseolus acutifolius*) sobre células cancerígenas. Tesis para obtener el grado de Químico en Alimentos. Facultad de Química. Universidad Autónoma de Querétaro. 32-41 pp
- Idouraine A, Yensen S.1991. Tepary bean flour, albumin and globulin fractions functional properties compares with soy protein isolate. *Journal of Food Science*. 56:1316-1318.
- Jaffé W. 1980. Hemagglutinins (lectins). In: *Toxic constituents of plant foodstuffs*. Academic Press. New York, N. Y. 73-102 pp.
- Kiss R, Camby I, Duckworth D, De-Decker R, Salmon I. 1997. In vitro influence of *Phaseolus vulgaris*, *Griffonia simplicifolia*, *Concavalin A*, wheat germ and peanut agglutinins on HCT-15, LoVo and SW 837 human colorectal cancer cell growth. *Gut*; 40: 253-261
- Lajolo F, Genovese M. 2002. Nutritional significance of lectins and enzyme inhibitors from legumes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50, 6592-6598
- López Martínez FJ. 2007. Efecto in vitro de una lectina de frijol tépari sobre células de cáncer de colon humano. Tesis de Licenciatura en

- Biología. Universidad Autónoma de Querétaro. pp 1-55.
- Lyu S, Choi SH, Park WB. 2002. Korean mistletoe lectin-induced apoptosis in hepatocarcinoma cells is associated with inhibition of telomerase via mitochondrial controlled pathway independent of p-53. *Archives of Pharmacal Research*. 25(1): 93-101.
- Maier G, Fiebig H. 2002. Absence of tumor growth stimulation in a panel of 16 human tumor cell lines by mistletoe extracts in vitro. *Anti-Cancer Drugs*. 13: 373-379
- Nishimura H, Nishimura M, Oda R, Yamanaka K, Matsubara T, Ozaki Y, Sekiya K, Hamada T, Kato Y. 2004. Lectins induce resistance to proteases and/or mechanical stimulus in all examined cells—including bone marrow mesenchymal stem cells—on various scaffolds. *Experimental Cell Research*. 295: 119-127.
- Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. <<http://148.243.71.63/default.asp?doc=743>> 25 de septiembre del 2008
- OECD 407, 2006. OECD Guideline for testing chemicals. Repeated Dose 28-day Oral Toxicity Study in Rodents. www.oecd.org/document/55/0,2340,en_2649_34377_23496_87_1_1_1_1,00.html 3 de abril del 2008
- OECD 423, 2001. OECD Guideline for testing chemicals. Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method. www.oecd.org/document/55/0,2340,en_2649_34377_23496_87_1_1_1_1,00.html 3 de abril del 2008
- Osman M, Reid P, Weber Ch. 2003. The effect of feeding Tepary Bean (*Phaseolus acutifolius*) proteinase inhibitors on the growth and pancreas of young mice. *Pakistan Journal of Nutrition* 2 (3):111-115
- Patocka J. Abrin And Ricin. 2008 - Two Dangerous Poisonous Proteins. Department of Toxicology, Military Medical Academy, Hradec Kralove, Czech Republic. <http://www.asanltr.com/newsletter/01-4/articles/Abrin&RicinRev.htm>
- Pusztai A, Bardocz S. 1996. Biological effects of plant lectins on the gastrointestinal tract: metabolic consequences and applications. *Trends Glycosilation and Glicotechnology*. 8:149-165
- Reynoso-Camacho R, Gonzalez de Mejia E, Loarca-Piña G. 2003. Purification and acute toxicity of a lectin extracted from tepary bean (*Phaseolus acutifolius*). *Food and Chemical Toxicology* 41(1): 21-27
- Sharon N, Lis H. 2002. How proteins bind carbohydrates: Lessons from legume lectins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50(22):6586–6591.
- Tareq al-Ati, 2001. Plant lectins. Poisonous Plants Homepage: Animal Science at Cornell University. <http://www.ansci.cornell.edu/plants/toxicagents/lectins.html> 8 de septiembre del 2008.
- Turner RH, Liener IE. 1975. The use of glutaraldehyde-treated erythrocytes for assaying the agglutinating activity of lectins. *Analytical Biochemistry*. 68:651-653