

Universidad Autónoma de Querétaro

Facultad de Ciencias Naturales



“Efecto de la administración oral aguda de lectina recombinante de frijol

Tépari (rTBL-1) en ratones CD-1”

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Licenciado en Nutrición

Presenta

Berenice Wendoline Balderrama Ocádiz

Dirigido por

Dr. Roberto Augusto Ferriz Martínez.

Santiago de Querétaro, Querétaro 2023



Dirección General de Bibliotecas y Servicios Digitales de
Información



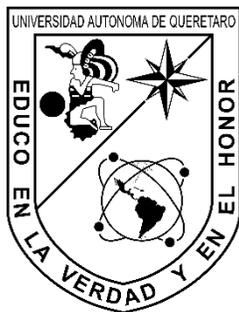
Efecto de la administración oral aguda de lectina
recombinante de frijol Tépari (rLTB-1) en ratones CD-1

por

Berenice Wendoline Balderrama Ocadiz

se distribuye bajo una [Licencia Creative Commons
Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

Clave RI: CNLIN-231931-0123-123



Universidad Autónoma de Querétaro

Facultad de Ciencias Naturales

Licenciatura en Nutrición

Efecto de la administración oral aguda de lectina recombinante de frijol Tépari (rLTB-1) en ratones CD-1

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de

Licenciado en Nutrición

Presenta:

Berenice Wendoline Balderrama Ocádiz

Dirigido por:

Dr. Roberto Augusto Ferriz Martínez

SINODALES

Dr. Roberto Augusto Ferriz Martínez

Presidente

Dra. Margarita Teresa de Jesús García Gasca

Secretario

Dra. Dulce María Palmerin Carreño

Vocal

Dr. Jorge Luis Chávez Servin

Suplente

MNH Francisco Josue López Martínez

Suplente

Firma

Firma

Firma

Firma

Firma

Centro Universitario
Querétaro, Qro.
18-enero-2023
México

Dedicatoria

Quiero dedicar esta tesis en primera instancia, a Dios por darme la oportunidad de completarla de manera satisfactoria, llena de salud y conocimiento.

A mis padres y hermanos por acompañarme en cada paso desde el inicio de mi carrera. Este logro es por y para ustedes, mis compañeros y amores de mi vida.

A mí por tener la valentía de culminar una etapa y recordarme que puedo lograr todo aquello que me proponga.

Agradecimientos

A la Dra. Dulce María Palmerín Carreño por su apoyo incondicional en la enseñanza y producción de la rTBL-1 y por las palabras de aliento en momentos donde la frustración sea hacía visible; gracias a su compromiso y apoyo, mi tesis pudo llegar a su fin.

A el Dr. Roberto Esquivel García por su paciencia, ayuda y disponibilidad desde el inicio hasta el fin de este proyecto; gracias a usted, mi tesis pudo ser satisfactoriamente terminada.

A el MNH. Francisco Josué López Martínez por animar, escuchar y resolver cuando alguna duda surgía, así como la disponibilidad para ayudar.

A mis compañeros LN. Misael Ríos Ortiz, LM. Juan Brandon Araujo Mendoza, QFB. Sergio Francisco Villicaña Álvarez y PMVZ Daniela Muñiz Chavarría por su compromiso, apoyo y sostén en todo proceso de mi tesis.

A la Dra. Verónica Patricia Andrade Portillo por su tiempo, compartir su conocimiento y su habilidad durante los procesos de matanza.

A la Dra. Xóchitl Zambrano Estrada por su tiempo, paciencia y su guía en los procesos de matanza y reconocimiento de órganos.

A la Dra. Margarita Teresa de Jesús García Gasca por permitirme formar parte de su grupo de proyectos durante el tiempo de la realización de mi tesis.

A el Dr. Roberto Augusto Ferriz Martínez por su apoyo y amistad desde el inicio de mi carrera hasta el último instante, por sus palabras y consejos en el ámbito académico y personal, gracias por estar siempre al pendiente e insistirme a dar el máximo de mi cuando era necesario. Por su guía, amistad y profesionalismo es por lo que esta tesis y mi vida universitaria puede llegar a su fin satisfactoriamente.

A todo mi grupo de sinodales por su tiempo y comentarios para perfeccionar mi tesis y entregar un trabajo de calidad e importancia científica.

A mis amigas, la familia que yo elegí, por animarme y escucharme cuando lo necesitaba.

Y por última instancia, a mi alma mater, la Universidad Autónoma de Querétaro por albergarme y vivir la mejor etapa de mi vida, conocer amistades, crecer profesional y personalmente, así como ampliar mi conocimiento.

Índice

	Página
Dedicatoria	ii
Agradecimientos.....	iii
Índice.....	v
Índice de tablas.....	vii
Índice de figuras.....	vii
Resumen.....	viii
Abstract.....	ix
Introducción.....	1
I. Antecedentes.....	2
1.1. Leguminosas.....	2
1.2. El frijol	3
1.3. Lectinas.....	6
1.3.1. Consumo de lectinas y beneficio en la salud.....	8
1.4. Pruebas de toxicidad.....	11
1.4.1. Efecto toxicológico de las lectinas de frijol.....	12
1.5. Lectina recombinante de frijol Tépari	15
1.6. Modelo animal para pruebas de experimentación.....	15
II. Justificación	17
III. Hipótesis.....	18
IV. Objetivos	19
4.1. Objetivo general	19
4.2. Objetivos específicos	19
V. Materiales y métodos	20

5.1. Aprobación bioética.....	20
5.2. Material	20
5.3. Tipo de estudio y modelo animal.....	20
5.3.1. Administración oral aguda de la rTBL-1.....	21
5.3.2. Periodo de observación	21
5.3.3. Obtención de muestras sanguíneas y análisis macroscópico	21
5.3.4. Análisis estadístico	22
VI. Resultados y Discusión	23
VII. Conclusión.....	33
VIII. Literatura citada.....	34

Índice de tablas

Tabla 1. Tabla de contenido de macronutrientes en 100 g de leguminosas más consumidas en México.	4
Tabla 2. Tabla de contenido de micronutrientes en 100 g de leguminosas más consumidas en México.	5
Tabla 3. Biometría hemática de los ratones hembra del estudio de toxicidad aguda.	27
Tabla 4. Bioquímica sanguínea de los ratones hembra del estudio de toxicidad aguda.	28

Índice de figuras

Figura 1. Peso corporal de los ratones hembra tratados con diferentes dosis de rTBL-1 en el estudio de toxicidad oral aguda.	25
Figura 2. Consumos de alimento y agua de los ratones hembra tratados con diferentes dosis de rTBL-1 en el estudio de toxicidad oral aguda.	26
Figura 3. Peso relativo del intestino delgado, intestino grueso e hígado de los ratones hembra tratados con rTBL-1 del estudio de toxicidad oral aguda.	29
Figura 4. Índice de longitud de intestino delgado e intestino grueso de ratones hembra tratados con rTBL-1 de estudio de toxicidad oral aguda.	29
Figura 5. Peso relativo del corazón, pulmones y riñones de ratones hembra tratados con rTBL-1 de estudio de toxicidad oral aguda.	30
Figura 6. Peso relativo del estómago, páncreas y cerebro de ratones hembra tratados con rTBL-1 de estudio de toxicidad oral aguda.	31
Figura 7. Peso relativo de bazo, timo y ovarios de ratones hembra tratados con rTBL-1 de estudio de toxicidad oral aguda.	32

Resumen

Los frijoles son las principales leguminosas consumidas en México, está conformado por hidratos de carbono, proteínas y compuestos antinutricios como los fenoles, inhibidores de proteasas, fitatos y lectinas. Dentro de los compuestos antinutricios del frijol están las lectinas a las que se les han atribuido beneficios como efectos antiparasitarios, antivirales y anticancerígenos. Lectinas del frijol Tépari (TBLF) han demostrado, en estudios previos, tener efectos sobre las células cancerígenas, así como baja toxicidad tras su administración en ratas. La purificación de la TBLF ha tenido complicaciones en cuestiones de costos y rendimiento, por lo que surgió la necesidad de obtener una molécula de lectina por un método recombinante en la levadura *Picchia pastoris* (rTBL-1) de la cual no se tiene conocimiento actual de su toxicidad.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la administración oral aguda de la rTBL-1 en ratones CD-1 a través de un estudio de tipo longitudinal, utilizando una población de 30 ratones hembra de 5 semanas de edad divididas aleatoriamente en 6 grupos: control, 5 mg/kg, 30 mg/kg, 50 mg/kg, 100 mg/kg y 300 mg/kg administrando una dosis única vía oral. Se recabaron datos por medio de una bitácora para las pruebas observacionales y toma de muestra sanguínea por medio de punción cardíaca, se analizaron los parámetros de biometría hemática completa, marcadores hepáticos (TGP y TGO) y renales (urea y creatinina); se realizó la observación y peso relativo de órganos, así como índice de longitud para intestinos. Se analizaron los datos por medio de un ANOVA y un post-hoc de Dunnett con una $p < 0.05$. Debido a la supervivencia de todos los ratones y al no presentar signos o síntomas de toxicidad, el estudio permitió evaluar la toxicidad de la administración oral aguda de la rTBL-1 como baja, posicionando a la sustancia en la categoría 3 con baja toxicidad permitiendo clasificarse en una categoría de mayor seguridad realizando los estudios pertinentes.

Palabras clave:

Lectina, frijol Tépari, administración oral, prueba de toxicidad aguda, leguminosas.

Abstract

Beans are the main legumes consumed in Mexico, and are composed of carbohydrates, proteins and anti-nutritional compounds such as phenols, protease inhibitors, phytates and lectins. Among the anti-nutritional compounds in beans are lectins, which have been attributed benefits such as antiparasitic, antiviral and anticancer effects. Tepary bean lectins (TBLF) have been shown in previous studies to have effects on cancer cells, as well as low toxicity after administration in rats. Purification of TBLF has had complications in terms of cost and yield, so the need arose to obtain a lectin molecule by a recombinant method in the yeast *Picchia pastoris* (rTBL-1) of which there is no current knowledge of its toxicity.

The objective of this work was to evaluate the effect of acute oral administration of rTBL-1 in CD-1 mice through a longitudinal study, using a population of 30 female mice of 5 weeks of age randomly divided into 6 groups: control, 5 mg/kg, 30 mg/kg, 50 mg/kg, 100 mg/kg and 300 mg/kg administered in a single oral dose. Data were collected by means of a logbook for observational tests and blood sampling by cardiac puncture, the parameters of complete blood biometry, liver markers (TGP and TGO) and renal markers (urea and creatinine) were analyzed; the observation and relative weight of organs, as well as the length index for intestines were performed. Data were analyzed by ANOVA and Dunnett's post-hoc with $p < 0.05$. Due to the survival of all mice and the fact that they did not present signs or symptoms of toxicity, the study allowed evaluating the toxicity of acute oral administration of rTBL-1 as low, positioning the substance in category 3 with low toxicity, allowing it to be classified in a category of greater safety by carrying out the pertinent studies.

Keywords:

Lectin, Tepary bean, oral administration, acute toxicity test, legume.

Introducción

El interés de estudiar los elementos presentes en los alimentos, así como el impacto de ellos en los seres humanos, ha permitido la correlación entre el consumo de alimentos pertenecientes a grupos específicos y el posible efecto sobre enfermedades de tipo crónico, ejemplo de ello son las leguminosas y en México, principalmente los frijoles.

El contenido nutrimental de los frijoles es muy amplio, siendo una excelente fuente de hidratos de carbono, fibra, proteína y componentes denominados antinutricios como los inhibidores de tripsina, los taninos, el ácido fítico y las lectinas. Investigaciones recientes indican que algunos factores antinutricios pueden tener un impacto en la prevención o tratamiento de enfermedades, por ejemplo, las lectinas han demostrado su funcionalidad como agentes antivirales, antiparasitarios, anticoagulantes y anticancerígenos (Domínguez y col., 2012). En el caso de las lectinas de frijol Tépari su acción anticancerígena se ha probado en líneas celulares, así como en modelos animales donde se ha mostrado que tienen un potencial importante en el diagnóstico y tratamiento del cáncer de colon.

Así mismo, las lectinas purificadas del frijol Tépari han mostrado en animales de experimentación, efectos toxicológicos como la resistencia a la digestión, disminución de la absorción de nutrimentos debido a la interacción de la lectina, hipertrofia pancreática, y a nivel intestinal se ha registrado alargamiento y afectación en las vellosidades (Alatorre-Cruz, et al., 2018; Ferriz-Martínez et al., 2015; Torres & Castro, 2016).

El método de purificación de la lectina del frijol Tépari era un proceso costoso y con un rendimiento bajo. Al realizar un cambio en el sistema de obtención, la lectina recombinante del frijol Tépari (rTBL-1) resultó con un aumento del rendimiento y disminución en costos. Por ser una nueva molécula y perfilándola dentro del desarrollo de fármacos, es necesario conocer la toxicidad de la rTBL-1 para identificar su rango de seguridad y posteriormente definir su eficacia en pruebas preclínicas y clínicas.

I. Antecedentes

1.1. Leguminosas

México cuenta con una riqueza natural muy extensa, se estima que en su territorio están presentes aproximadamente 23,314 especies de plantas, posicionándose solamente detrás de Brasil, China y Colombia en este rubro (Villaseñor, 2016). Las plantas como huauzontles, quelites, romeritos y verdolagas forman parte de la cultura alimentaria de los mexicanos fungiendo como elementos de gran importancia debido a su facilidad de crecimiento en cultivos como el maíz, cacao, café, chile y el frijol los cuales eran el pilar de la actividad agrícola, así como de su alimentación (Gómez y Velázquez, 2019; Guevara y col., 1993; Román-Cortés y col., 2018).

En la actualidad, la búsqueda de mejorar la calidad de vida de los seres humanos por medio de la alimentación se ha convertido en un punto de interés colectivo, por lo cual, el conocimiento científico respecto a los alimentos y sus componentes ha ido creciendo y adaptándose conforme a las necesidades de los individuos. El descubrimiento de los nutrimentos ha marcado una pauta importante para la clasificación nutrimental y comprender los procesos desencadenantes en el cuerpo humano debido a la obtención o carencia de estos, por lo tanto, se ha vuelto un estímulo para crear recomendaciones, guías, programas educativos e investigaciones profundas respecto a los compuestos activos dentro de cada uno de ellos (Aguirre, 2019; Héctor y Lutz, 2003; Olagnero y col., 2007; Durán y Valenzuela, 2010).

En México, la Norma Oficial Mexicana de servicios básicos de salud, promoción y educación para la salud en materia alimentaria y criterios para brindar orientación (NOM-043-SSA2-2012) funge como una guía con respaldo científico para brindar una orientación alimentaria a la población utilizando herramientas gráficas como el plato del bien comer. En la NOM-043-SSA2-2012 se encuentran los grupos de alimentos clasificados de acuerdo con su aporte nutrimental, agrupados en frutas, verduras, cereales, leguminosas y alimentos de origen animal (Norma Oficial Mexicana, 2013).

Con el paso de los años, se han podido establecer correlaciones con la disminución de enfermedades crónicas como el cáncer, diabetes e hipertensión con el consumo de alimentos pertenecientes a los grupos de frutas, verduras, cereales y leguminosas (Cortés-Sánchez y col., 2016; Gómez y Velázquez, 2019; Héctor y Lutz, 2003).

El grupo de alimentos de las leguminosas está caracterizado por su fruto en forma de legumbre, alojando la semilla de la planta; dentro de este grupo se pueden encontrar a las lentejas, soya, alubias y frijoles. De las leguminosas mencionadas, los frijoles son los principales consumidos en México y catalogados como un alimento básico y completo debido a su aporte nutrimental (Badui Dergal, 2013; Heredia, 2017; Mora-Uzeta y col., 2019; Obispo Gavino, 2019; Olmedilla Alonso y col., 2010; Secretaría de Agricultura y Desarrollo rural, 2015).

1.2. El frijol

Las especies de frijol se encuentran dentro del género *Phaseolus* L., y pertenecen a la familia Fabaceae (Ulloa y col., 2011). México es considerado como uno de los posibles orígenes de esta leguminosa debido a su aparición en algunos hallazgos arqueológicos de las culturas precolombinas desde un tiempo aproximado de 5,000 años antes de Cristo. El paso del frijol por las múltiples culturas generó una variedad de nombres de identificación, tales como poroto, alubia, judías, nuña, habichuela, vainita, caraota y feijao (Miranda Colín, 1967; Ulloa y col., 2011).

Actualmente, se han generado más de 142 variedades de frijol a través del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) predominando las criollas, siendo cultivadas en otras regiones del país y un aproximado de cincuenta son variedades del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) clasificadas de acuerdo con dos criterios, con el color como pintas, claras, amarillas, negras, etc. Y por peso siendo pequeñas (25 g o menos en 100 granos), medianos (25 a 40 g en 100 granos) y grandes (desde 40 g en 100 granos) (FIRA, 2001; Ulloa y col., 2011).

En México, se reporta la presencia de 70 especies de frijol (Lépiz y Ramírez, 2010) de las cuales cinco son las más cultivadas: *Phaseolus vulgaris* L. (frijol común), *Phaseolus acutifolius* A. Gray (frijol Tépari), *Phaseolus lunatus* L. (frijol lima), *Phaseolus coccineus* L. (frijol escarlata) y *Phaseolus polyanthus* Greenm. (frijol anual) (Lépiz y Ramírez, 2010; López Ibarra, 2018). En las tablas de contenido de macronutrientos (**Tabla 1**) y micronutrientos (**Tabla 2**) se encuentra la información nutrimental de las especies más cultivadas y consumidas en México (Degrossi, 1987; Muñoz, 2014).

Los frijoles están compuestos en mayor porcentaje por hidratos de carbono, abarcando del 47.7 al 71% (Elías y col., 1976) conformados principalmente por fibra, a la cual se le atribuye la sensación de saciedad así como el control de colesterol y triglicéridos; así mismo, lo integran hidratos de carbono complejos de bajo índice glucémico que al interactuar con la microbiota intestinal se convierten en precursores de ácidos grasos de cadena corta aumentando la excreción de lípidos al igual que la regulación de la presión arterial. Los compuestos como el ácido fólico e isoflavonas han resaltado en investigaciones recientes debido a su actividad inhibitoria o retardar el cáncer de mama y colon, así como la capacidad de secuestrar metales pesados a nivel sanguíneo (Barrón Hoyos, 2010; Gómez y Velázquez, 2019; Sánchez Chino, 2019; Ulloa y col., 2011).

Tabla 1. Tabla de contenido de macronutrientos en 100 g de leguminosas más consumidas en México.

Nombre común	Nombre científico	Energía (Kcal)	Humedad (%)	Fibra (g)	HC (g)	P (g)	L.Total (g)	Sat (g)	MSat (g)	PSat (g)
Alubia promedio	<i>P. vulgaris</i>	337	9.20	4.30	57.97	22.33	1.80	0.44	0.38	0.98
Frijol amarillo	<i>P. vulgaris</i>	329	10.26	4.90	57.14	20.50	2.0	0.53	0.49	0.98
Frijol azufrado	<i>P. vulgaris</i>	345	9.50	5.67	58.60	19.63	1.90	0.36	0.24	0.90
Frijol bayo gordo	<i>P. vulgaris</i>	331	10.10	5.52	57.30	21.28	1.80	0.59	0.59	0.62
Frijol blanco	<i>P. vulgaris</i>	327	10.58	5.78	56.44	21.50	1.70	0.48	0.22	1.00
Frijol garbancillo	<i>P. vulgaris</i>	316	12.54	5.90	59.06	16.00	1.70	0.70	0.39	0.61
Frijol negro	<i>P. vulgaris</i>	332	10.62	4.00	58.26	21.60	1.42	0.58	0.34	0.50
Frijol negro cocido	<i>P. vulgaris</i>	131	66.00	0.90	22.80	8.72	0.58	0.12	0.06	0.23
Frijol ojo de liebre	<i>P. vulgaris</i>	322	10.02	5.56	58.22	19.00	1.50	0.70	0.46	0.34
Frijol palacio	<i>P. vulgaris</i>	339	9.60	4.30	60.10	21.20	1.50	0.65	0.50	0.35
Frijol rosita	<i>P. vulgaris</i>	323	10.20	4.90	58.99	18.56	1.45	0.50	0.21	0.42
Frijol común (harina)	<i>P. vulgaris</i>	328	11.01	4.60	57.39	19.80	2.10	0.80	0.85	0.45
lbes o haba de lima	<i>P. lunatus</i>	338	10.32	4.30	60.38	20.40	1.60	0.35	1.00	0.25
Frijol ayocote	<i>P. coccineus</i>	330	10.70	5.40	59.60	19.00	1.70	0.50	0.46	0.74
Frijol Tépari	<i>P. acutifolius</i>	331	10.00	9.80	61.50	24.00	1.77	0.59	0.42	0.75

HC: Hidratos de carbono; P: Proteína; L.Total: Lípidos totales; Sat: Ácidos grasos saturados; MSat: Ácidos grasos monoinsaturados; PSat: Ácidos grasos poliinsaturados; NR: No registrados (Degrossi, 1987; Muñoz, 2014).

Tabla 2. Tabla de contenido de micronutrientos en 100 g de leguminosas más consumidas en México.

Nombre común	Nombre científico	Minerales								Vitaminas					
		Ca (mg)	P (mg)	Fe (mg)	Mg (mg)	Se (µg)	Na (mg)	K (mg)	Zn (mg)	A (µg)	B1 (mg)	B2 (mg)	B3 (mg)	B6 (mg)	B9 (µg)
Alubia promedio	<i>P. vulgaris</i>	132	247	5.49	1.88	5	18	1,316	3.65	0.5	0.45	0.19	2	0.40	399
Frijol amarillo	<i>P. vulgaris</i>	347	488	4.8	222	2	12	1,042	2.83	0.5	0.62	0.12	2.1	0.44	389
Frijol azufrado	<i>P. vulgaris</i>	254	483	5.3	222	2	12	1,042	2.83	0.5	0.52	0.14	1.3	0.44	389
Frijol bayo gordo	<i>P. vulgaris</i>	200	247	5.7	159	2	25	1,038	2.5	0	0.69	0.14	1.7	0.44	506
Frijol blanco	<i>P. vulgaris</i>	185	445	4.6	170	1.2	12	1,196	3.67	0	0.60	0.15	1.8	0.44	399
Frijol garbancillo	<i>P. vulgaris</i>	300	531	4.9	222	2	12	1,042	2.83	0	0.54	0.14	1.7	0.44	386
Frijol negro	<i>P. vulgaris</i>	183	352	5.02	222	3.6	12	1,042	3.65	0	0.63	0.17	1.8	0.44	386
Frijol negro cocido	<i>P. vulgaris</i>	26	121	2.09	25	1.22	1.2	355.2	1.1	0	0.96	0.18	1.86	0.20	0
Frijol ojo de liebre	<i>P. vulgaris</i>	307	430	5.02	159	3	25	1,038	2.54	0.5	0.72	0.13	1.5	0.44	506
Frijol palacio	<i>P. vulgaris</i>	159	369	6.9	159	2.7	25	1,038	2.5	1.5	0.85	0.13	1.6	0.44	506
Frijol rosita	<i>P. vulgaris</i>	262	415	6.77	182	5	8	1,464	2.55	0	0.59	0.1	1.1	0.53	463
Frijol común (harina)	<i>P. vulgaris</i>	146	280	13.5	182	2.45	8	1,464	2.55	0	0.62	0.14	1.7	0.40	4
lbes o haba de lima	<i>P. lunatus</i>	84	439	5.6	224	4	18	1,724	2.83	0	0.29	0.15	1	0.51	395
Frijol ayocote	<i>P. coccineus</i>	116	262	5.9	138	1	12	1,359	2.79	0.5	0.42	0.19	1.9	0.40	394
Frijol Tépari	<i>P. acutifolius</i>	286	246	195	188	335	NR	1,555	NR	NR	0.3	0.1	2.7	NR	NR

Ca: Calcio; P: Fósforo; Fe: Hierro; Mg: Magnesio; Se: Selenio; Na: Sodio; K: Potasio; Zn: Cinc; Vit A: Equivalente de actividad a retinol-vitamina A; VB1: Tiamina-vitamina B1; VB2: Riboflavina-vitamina B2; VB3: Niacina-vitamina B3; VB6: Piridoxina-vitamina B6; VB9: Ácido fólico-vitamina B9; NR: No registrados (Bhardwaj y Hamama, 2004, 2005; Degrossi, 1987; Idouraine, 1993; M. Muñoz, 2014).

El frijol está conformado por un 20 a 30% de proteína (Quintana y col., 2000; Rehman y col., 2001), siendo considerada de alta calidad y que al llevar un método de cocción puede alcanzar un 70% (utilizando a los alimentos de origen animal como comparativo siendo el 100%), de acuerdo con la clasificación de Osborne, la proporción de globulinas y albúminas va a depender de la especie de frijol, pero principalmente se encuentran de 54 a 79% de globulinas y un 14 a 20% de albuminas (Chel-Guerrero y col., 2003; Guéguen y Cerletti, 1994; López Ibarra, 2018).

Dentro de la composición de los frijoles se encuentran compuesto denominados antinutricios los cuales son responsables de proteger a la planta de plagas, pero al consumo humano son causantes de flatulencias, inflamación y tiempos alargados de cocción. Los más predominantes en los frijoles son los compuestos fenólicos (taninos, isoflavonas), inhibidores de proteasa, fitatos y lectinas (Heredia, 2017; Reyes-Moreno y Paredes-López, 1993).

Se ha reportado que el frijol Tépari, a diferencia de otras leguminosas, posee proteína de superior calidad biológica a la del *P. vulgaris*, así como cantidad de hierro y fibra mayor a otras especies. Actualmente, se ha encontrado que compuestos del frijol Tépari benefician a la salud, tales como la reducción del contenido de colesterol en sangre, disminución de enfermedades cardiovasculares al igual que prevención de enfermedades como algunos tipos de cáncer (Bhardwaj y Hamama, 2004, 2005). Los compuestos presentes como la fibra, los oligosacáridos, los inhibidores de tripsina, el ácido fítico, los compuestos fenólicos y las lectinas reconocidos como benéficos, actúan como antioxidantes, antitumorales, moduladores enzimáticos, reductores del colesterol (Arechiga Chávez, 2020; Heredia, 2017).

1.3. Lectinas

Las lectinas son proteínas de origen no inmune que tienen la propiedad de enlazarse de forma específica y reversible a hidratos de carbono, ya sean libres o que formen parte de estructuras más complejas presentando afinidades de acuerdo con la estructura de sus grupos proteico y glucosídico. El resultado de esta interacción será dependiente del receptor o del antígeno en cuestión (Aguilar-García, 2004; Álvarez Montes de Oca y col., 1996; Bencomo y col., 1985; Bird, 1988; García Rosasco y col., 2001; González de Mejía y Prisecaru, 2005; Merlín Linares y col., 2006; Muñoz y col., 1993). Se han convertido en un punto de interés para estudios histoquímicos, bioquímicos, biofísicos y estructurales pese a su especificidad y la facilidad con la que se puede obtener la proteína pura (Gallego del Sol y col., 2006).

Las lectinas se localizan comúnmente en los tallos, hojas, cortezas y en los frutos siendo mayor la concentración en hojas y cortezas, esto dependerá de la especie y de las partes del vegetal. A nivel celular, son sintetizadas, procesadas y transportadas como proteínas en el retículo endoplásmico rugoso, posteriormente son almacenadas en vacuolas y organelos denominados vacuolas de almacenamiento (Domínguez col., 2012; Hernández y col., 2005; Maree, 2005; Singht y col., 2006).

La actividad que se les atribuye a las lectinas en los vegetales son mecanismos de defensa, presencia en la germinación y la unión de bacterias fijadoras de nitrógeno en las raíces de las leguminosas, almacenamiento de hidratos de carbono y glicoproteínas, almacenamiento de nitrógeno y la regulación de mecanismos enzimáticos (Albersheim y Anderson, 2007).

En la actualidad, se ha encontrado que las lectinas en frutas y plantas tienen relación con la capacidad de adhesión por reconocimiento en la membrana celular como mitosis, elongación polipeptídica, reconocimiento y almacenamiento de hidratos de carbono e intermediarios como mecanismo de defensa.

- Mitosis. La lectina galectina-3 regula el crecimiento celular, permitiendo la supervivencia y crecimiento de células inhibiendo el proceso de apoptosis (Hernández y col., 2005; Yang y col., 2006), las modificaciones estructurales oligosacáridicas de las proteínas de membrana se han asociado con la capacidad de invadir y colonizar otros tejidos (Domínguez y col., 2012).
- Elongación polipeptídica. Por su naturaleza proteica, son conocidas por inducir la elongación polipeptídica. Algunas lectinas, como la ricina y la abrina, inducen a la modificación química en ribosomas y promueven procesos moleculares de elongación a nivel celular; las lectinas crotin I y crotin II se han reportado reacciones moleculares parecidas a la ricina y abrina (Bradley y col., 2011).
- Reconocimiento y almacenamiento de hidratos de carbono. Existen diversos mecanismos de interacción molecular como el reconocimiento de receptores glicosilados en la superficie celular. Se ha encontrado que leguminosas como soya, frijol y cacahuate cuentan con glicoproteínas con capacidad de reconocimiento específico de hidratos de carbono sobre la membrana celular de eritrocitos (Garred y col., 2003; Hernández y col., 2005).
- Intermediarios en mecanismos de defensa. La interacción manosa-lectina es el principal mecanismo para la defensa en contra de patógenos (Hwang y Hwang, 2011). Existen lectinas presentes en hojas y cáscaras de frutos responsables

de la toxicidad para insectos como moscas o pulgas o como factores antinutricios con plagas siendo más potentes que incluso las lectinas presentes en legumbres (Annabel y col., 2005; Domínguez y col., 2012; Trigueros y col., 2003). De igual manera, fungen como mecanismos ante agentes externos climáticos que generan ambientes de estrés para las plantas (D'Mello, 1995; Huisman y Tolman, 1992).

1.3.1. Consumo de lectinas y beneficio en la salud

La purificación de las lectinas ha permitido atribuir efectos benéficos y aplicaciones funcionales para los seres humanos. Se han descubierto actividades como agentes antivirales, actividad antibacteriana, actividad antiparasitaria, anticoagulantes y efectos anticancerígenos (Domínguez y col., 2012).

Las propiedades antivirales fueron observadas en fracciones proteicas hemoaglutinantes en lectinas aisladas de chícharos frente al virus de inmunodeficiencia humana (VIH) mostrando efectos inhibidores del virus. Se ha identificado que las lectinas presentes en suero y en fluidos pulmonares pudieran tener la capacidad de reconocer y destruir el virus de la influenza como mecanismo inmuno-modulatorio innato (Fang y col., 2012; Lam y Ng, 2011).

La actividad antibacteriana y antifúngica es de las funciones más estudiadas de las lectinas, el reconocimiento de hidratos de carbono es la característica que se le atribuye a esta función (Islam y Khan, 2012). En la superficie de ciertas bacterias y hongos se encuentran estructuras como ácidos teicóicos (presentan en uno de sus extremos *N*-acetilglucosamina o *N*-acetilgalactosamina, dependiendo del tipo de bacteria) e hidratos de carbono los cuales, al ser reconocidos por las lectinas, tienen la capacidad de aglutinar o inhibir el crecimiento por medio de la interacción con las estructuras presentes en las membranas (Yoshiyuki y col., 2004).

Parte de las diversas investigaciones realizadas para estudiar su efecto bactericida y antifúngico, se realizó la caracterización de una proteína denominada bacteriocina producida por la bacteria Gram negativa *Pseudomona sp* (Soberón, 2011). Para corroborar la acción de dicha lectina, se realizó un estudio en el cual *Escherichia coli* fue inhibida por la bacteriocina producida por la *Pseudomona sp* (Annabel y col., 2005; Cambi y col., 2005).

Como actividad antiparasitaria se observó que la unión lectina a manosa (MBL) funciona como regulador del grado de parasitemia causada por el *Plasmodium falciparum*, el parásito que provoca la malaria (Garred y col., 2003).

Otra de sus funciones conocidas es el efecto anticoagulante, tal como la lectina extraída de *Moringa oleífera* Lam. prolongando significativamente el tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa) que el tiempo de protombina (TP); se han encontrado que otras lectinas tienen la capacidad de incrementar el tiempo de coagulación de ambos parámetros, tales como la semilla de *Cratylia mollis* Mart. ex Benth. aumentando casi el doble de tiempo de coagulación de TTPa y TP. La lectina de *Bauhinia forficata* Link solamente aumenta el tiempo de coagulación de TTPa (de Andrade y col., 2013).

Una de las aplicaciones médicas más estudiadas en la actualidad es el efecto anticancerígeno de las lectinas, desempeñando un papel de suma importancia en el diagnóstico y tratamiento. Se han desarrollado estudios utilizando diversas lectinas donde se ha mostrado que cuentan con un mecanismo inhibitorio del crecimiento tumoral al igual que la detección de alteraciones estructurales en las membranas de las células. Pueden inducir células T colaboradoras influyendo en los niveles de interleucinas, interferón o factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y la expresión de diferentes quinasas (Alfonso-Cardoso y col., 2011; Breitenbach Barroso Coelho y col., 2017; Domínguez y col., 2012; Lagarda-Díaz y col., 2017; Lara Vizúete & Lema Balseca, 2020).

Debido a la capacidad de reconocer hidratos de carbono específicos presentes en las membranas celulares, las lectinas fungen un papel importante en el diagnóstico, principalmente con la presencia de la glucosilación tumoral lo cual permite un mejor diagnóstico y pronóstico del tumor canceroso (Gorelik y col., 2001; Mody y col., 1995). El desempeño de las lectinas en el tratamiento gira entorno a su actividad antitumoral y los efectos citotóxicos, siendo que algunas lectinas son internalizadas por las células cancerígenas causando la programación de la muerte celular por medio de inactivación ribosomal o, externamente, pueden iniciar cascadas de señalización llevando a la apoptosis y la autofagia (Estrada-Martínez y col., 2017; Moreno-Celis y col., 2020).

Las lectinas cuentan con tres mecanismos de acción más reconocidos: la inducción de la apoptosis, a nivel fisiológico, bioquímico y molecular (Deepa et al., 2012; Delebinski et al., 2012; Fu et al., 2011; Kabir et al., 2013; Yoshiyuki et al., 2004):

- La inducción de la apoptosis: No necesariamente se debe a una internalización de las lectinas, esta puede surgir por medio de la interacción de las lectinas con los receptores celulares de las membranas; la apoptosis se puede generar de diversas maneras, esta dependerá de la activación intracelular de caspase-8/FLICE, la activación de caspase-3 y rompimiento de Poli (ADP-ribosa) polimerasa (PARP), la activación de Bax (proteína reguladora de apoptosis) y la inhibición de Bcl-2 (supresor de apoptosis) y telomerasa.
- Nivel fisiológico: Se ha observado que el enlace lectina-linfocito es desencadenante de la liberación de citocinas en sangre, activación y liberación de linfocitos del bazo, activación de macrófagos y células NK (*Natural killer*) y producción de factor antiangiogénico, lo cual en conjunto con la hiperplasia intestinal genera una reducción de la disponibilidad de nutrientes, resultando con efectos citotóxicos en las células tumorales.
- Nivel bioquímico y molecular: Se han reportado varios mecanismos, uno describe que la adhesión de las lectinas con las moléculas de la superficie participa en una amplia variedad de señales de transducción importantes en la

regulación celular; otro mecanismo sugiere que las lectinas afectan el proceso celular fundamental para la división de las células.

En estudios previos se han reportado los efectos anticancerígenos de las lectinas García-Gasca y col., 2012 realizaron un estudio de los efectos de inhibidores de proteasa y fracciones semipuras de lectinas de frijol Tépari (*P. acutifolius*) en el cual, se reportaron efectos citotóxicos diferenciales sobre diferentes líneas de células de cáncer de mama, cérvix y colon.

Moreno-Celis y col. (2020) realizaron un estudio de la inducción de apoptosis celular en líneas de cáncer de colon, reportando que la actividad de la TBLF genera un aumento en fosforilación de p53 (proteína supresora tumoral) en ser46, la cual está relacionada con la inducción de apoptosis y deteniendo el ciclo celular.

Torres Arteaga y col., 2016 mostraron que los efectos citotóxicos de las lectinas de frijol Tépari no estaban relacionados a la actividad de hemaglutinación.

1.4. Pruebas de toxicidad

El estudio de moléculas nuevas como agentes funcionales y con un posible uso clínico requiere que sean regulados, por lo tanto, la toxicología es una ciencia que se encarga de ello. Por definición es *“la ciencia que se encarga del estudio de los venenos (tóxicos) y sus efectos”* considerando veneno como *“cualquier sustancia tóxica que causa efectos nocivos y/o letales en dosis muy pequeñas, ya sea por accidente o de forma planeada cuando se administra a un organismo vivo”* (Peningroth, 2010; Smart y Hodgson, 2008). La toxicología está presente en todo, desde el cuidado del medio ambiente, principalmente en el correcto desecho de sustancias y el impacto de ellas, hasta en el desarrollo de medicamentos procurando la menor presencia de efectos secundarios y atendiendo a la regulación sanitaria, así como brindar información de los efectos generados (Roldan, 2016).

Para evaluar la toxicidad de una sustancia se utilizan modelos *in vitro* e *in vivo*. En los modelos *in vivo* las dosis del agente a probar por cierta cantidad de tiempo y frecuencia son administradas en un organismo vivo. En estos primeros acercamientos a la sustancia se utilizan principalmente los roedores, aunque la tendencia actual es emplear métodos alternativos que puedan brindar la información de toxicidad de la molécula. La periodicidad de la administración del agente es lo que permite hacer la clasificación de los agentes tóxicos, dividiéndolos por el tiempo en agudos, subcrónicos y crónicos (Roldan, 2016; Smart y Hodgson, 2008).

Las pruebas de toxicidad aguda son aquellas que su principal objetivo es causar la muerte animal expuesto en una sola administración de la sustancia utilizando diferentes dosis, generalmente elevadas, con relación al peso del animal (Lommis y Hayes, 1996). Las pruebas de toxicología subcrónica tiene como diferencia la administración repetida del agente a estudiar, en dosis bajas, e identificando el daño a órganos y tejidos para encontrar una dosis de administración segura al igual que el reporte de los efectos generados. También permite observar y medir el tiempo en el cual se puede realizar recuperaciones en el organismo posteriores a la administración. La interacción de los compuestos tóxicos puede inducir efectos en los mecanismos fisiológicos y metabólicos del organismo en el que se prueban (Penningroth, 2010; Roldan, 2016). Finalmente, los estudios de toxicidad crónicos son aquellos en los que, por un tiempo prolongado de 6 meses a un año como mínimo, se analiza al agente y los efectos que tiene sobre el organismo de prueba.

1.4.1. Efecto toxicológico de las lectinas de frijol

Las lectinas son capaces de resistir la digestión y degradación bacteriana intestinal sin perder su función biológica e inmunológica. Durante su paso por el tracto digestivo, se unen a hidratos de carbono de las membranas celulares, principalmente en el yeyuno y duodeno, causando daño en el tejido intestinal provocando deterioro en el transporte de nutrimentos por la pared. Genera afecciones en las células endócrinas intestinales atrofiando la producción hormonal, hipertrofia e hiperplasia intestinal impactando en la

microbiota, inhiben las hidrolasas del borde del cepillo intestinal incrementando el crecimiento y adherencia de cepas. Debido a efectos generados a su paso, desencadenan afecciones a nivel sistémico como el desarrollo de anticuerpos antilectinas de la clase de IgG (Casso y Montero, 2016; Ferriz-Martínez y col., 2015; Gueguen y col., 1993; Lajolo y Genovese, 2002; Liener, 1989; Pusztai, 1989; Rhodes, 1999).

Se han reportado afectaciones en el borde del cepillo intestinal, disminución en la proliferación celular, apoptosis y estrés oxidativo después de 48 h de tratamiento con ricina, abrina y lectinas presentes en semillas de *Myracrodruon urundeuva* Allemão en insectos, así como la recuperación de la lectina con funciones intactas después de su paso por el tracto gastrointestinal en ratones posteriores a 24 h. La concavalina A fue recuperada al 90% en heces de ratones a las 4 h de su ingesta y la aglutinina de soya en ratas se encuentra intacta en su forma libre en un 8% después de su administración, mostrando ambas lectinas la característica de resistencia a la digestión (Lajolo y Genovese, 2002; Lima y col., 2017; Nakata y Kimura, 1985). Las lectinas purificadas de frijol y de soya afectan el crecimiento en ratas e inducen alargamiento del intestino delgado causando daño al epitelio, así como daño en el páncreas generando hipertrofia e hiperplasia, causa una reducción de la actividad de maltasa e invertasa de la mucosa intestinal e interferencia con el transporte de glucosa. A niveles elevados, las lectinas de frijol inducen depleción del cuerpo, músculo esquelético, lípidos y glucógeno (Lajolo y Genovese, 2002).

Las lectinas de frijol común (*P. vulgaris*) interfieren con la función intestinal, generando cambios en el metabolismo, disminuyendo la glucosa, lípidos, vitamina B12 y disponibilidad de nitrógeno, hierro y zinc. Se ha reportado que las ratas alimentadas con el *P. vulgaris* en estado crudo presentan hipertrofia renal y en corazón, atrofia pancreática acinar, hígado graso y lesiones histológicas en el timo, ulceración epitelial intestinal, necrosis del intestino, atrofia muscular, modulación del sistema endócrino, aumento en el catabolismo proteico, lipídico y de hidratos de carbono, así como inhibición del crecimiento e incluso la muerte de los animales (Castillo-Villanueva y

Abdullaev, 2005; Gueguen y col., 1993; Herzing y col., 1997; Liener, 1989; Puszta, 1989; Welch y Graham, 2004; Welch y House, 1984).

Se reporta que el frijol Tépari (*P. acutifolius*) es muy tóxico en estado crudo, causando pérdida de ganancia de peso, utilización negativa y pobre de proteínas. La administración oral de un extracto salino de *P. acutifolius* en gran cantidad reportó la destrucción extensa de microvellosidades de las células intestinales, la ruptura del contorno retículo endoplásmico, así como la muerte en ratas y ratones diez días posteriores a su administración (Rhodes, 1999).

La administración de un tratamiento de 6 a 12 semanas de la fracción semipura de lectina de frijol Tépari (TBLF) en ratas Sprague Dawley reportó signos de efectos antinutricios tales como pérdida de ganancia de peso, atrofia en las vellosidades intestinales, hiperplasia en las criptas de Lieberkühn e incremento de linfoides de la placa de Peyer. La administración subcrónica oral de 50 mg/kg de esta fracción provocó un daño intestinal, particularmente en el duodeno, presentando una recuperación parcial. De igual forma, se ha reportado que la fracción de *P. acutifolius* resiste la digestión y 72 h posteriores a su administración es posible recuperarla con sus funciones intactas. La administración de lectinas de *P. acutifolius* durante cuarenta y tres días a ratas Sprague Dawley reportó alargamiento del intestino, atrofia intestinal persistente, disminución de las criptas del colon, así como hipertrofia pancreática (Alatorre-Cruz, y col., 2018; Ferriz-Martínez y col., 2015; Torres Arteaga y col., 2016).

Estudios realizados con la TBLF compuestas por dos glicoproteínas TBL-1 y TBL-2 ha mostrado capacidad de reconocer células de cáncer en seres humanos a bajas concentraciones con mayor sensibilidad con células cancerígenas de colon y mama. La purificación de la TBLF es costosa, lenta y el rendimiento final es bajo por lo que para atender estas desventajas se realizó la producción de una lectina recombinante de frijol Tépari (rTBL-1) en un sistema de expresión heteróloga, la levadura *Pichia pastoris* (Palmerín-Carreño y col., 2021). La literatura afirma que las modificaciones postraduccionales en lectinas pueden influir en la fijación y alterar las funciones

biológicas, por lo tanto, es importante realizar los estudios toxicológicos de la nueva molécula de rTBL-1 (Martínez-Alarcón y col., 2020; Palmerín-Carreño y col., 2021).

1.5. Lectina recombinante de frijol Tépari

Martínez-Alarcón y col., 2019 reportaron la expresión de una lectina cisgénica producida en plántulas de frijol Tépari, la cual era secretada exitosamente por medio de exudados de raíz y continuaba con las funciones de unión a hidratos de carbono, tal como la lectina nativa. Debido a que el proceso era muy complejo y la proteína obtenida era insuficiente para realizar estudios *in vivo*, se procedió a otra manera de obtención. Posterior a ello, se produjo la lectina en la levadura *Pichia pastoris* (rTBL-1) permitiendo que la lectina recombinante fuera recuperada del medio de cultivo debido a la unión con el factor α proveniente de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, el cual es un péptido señalizador que redirecciona la proteína de interés para su secreción (Martínez-Alarcón y col., 2020).

Palmerín-Carreño y col., 2021 optimizaron la producción de la rTBL-1 por medio de glicerol crudo, obteniendo como resultado la disminución de costos, aumento de rendimiento final, así como el mantenimiento de las características de la rTBL-1, como la citotoxicidad similar a la de la TBLF sobre células de cáncer de colon. Vega-Rojas y col., 2021 realizaron un estudio con la rTBL-1 en el cual reportó una resistencia a la digestión, sugiriendo un proceso parcial de absorción o internalización de la proteína, se determinó la permeabilidad de la rTBL-1 o péptidos derivados ya que pueden cruzar por la membrana intestinal dentro del enterocito y se reportó una probable interacción con los receptores intestinales. Actualmente no se cuenta con evidencia científica o reportes de toxicidad de la rTBLF-1 en modelos *in vivo*.

1.6. Modelo animal para pruebas de experimentación

En la actualidad, la búsqueda de tratamientos para enfermedades crónicas ha ido acompañadas por la experimentación en modelos *in vivo*. Algunas especies son

sometidas a modificaciones genéticas con la finalidad de sobreexpresar o silenciar proteínas de interés (Mañé Almero, 2007).

Para aplicar los tratamientos se deben de evaluar las características toxicas de las sustancias, estas brindan información de seguridad sobre los efectos generados por la exposición corta o crónica de las sustancias. La guía 423 de Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OECD, 2001) recomienda para las pruebas de toxicidad aguda el uso de roedores hembras. Las cepas de ratones más utilizadas para estos estudios son BALB/c, C₅₇BL/6, C3H, CD-1 y las cepas de ratas más comunes son Sprague Dawley, Fischer-344 y Wistar. De igual forma, las cepas mencionadas son comúnmente utilizadas para estudios con células cancerígenas (Álvarez Montes de Oca y col., 1996). Las mutaciones originadas por el desarrollo de las células cancerígenas o reacciones toxicológicas no son parecidas a las humanas, pero los procesos y mutaciones génicas claves en el control celular muestran una gran proximidad fenotípica (Mañé Almero, 2007).

II. Justificación

Las modificaciones realizadas a la lectina nativa del frijol Tépari han abierto un gran nicho de investigación para la nueva molécula rTBL-1 permitiendo la realización de futuras intervenciones donde se muestre la funcionalidad y beneficios en la salud como agente contra cáncer de colon. Debido a la literatura descrita, la lectina nativa tiene posibilidades de impacto positivo en la salud, de igual forma presenta efectos toxicológicos en los organismos vivos. La rTBL-1 muestra funciones similares y potencializadas de ella, por lo tanto, es imperativo la búsqueda de los efectos adversos generados por la administración aguda de esta molécula, teniendo como objetivo la búsqueda de una dosis segura que permita la nula o menor aparición de efectos secundarios para continuar investigando sobre la eficacia farmacológica de este agente.

Los efectos registrados de la lectina nativa están relacionados con aspectos nutricionales, tales como el peso, talla, función hepática y pancreática, por lo tanto, es necesario registrar los efectos generados por la nueva molécula rTBL-1 en un modelo *in vivo* como lo es el ratón.

III. Hipótesis

La administración oral aguda en rango de 5 a 300 mg/kg de la lectina recombinante del frijol Tépari rTBL-1 no presenta toxicidad en ratones CD-1.

IV. Objetivos

4.1. Objetivo general

Evaluar el efecto de la administración oral aguda de la lectina recombinante del frijol Tépari rTBL-1 en ratones CD-1.

4.2. Objetivos específicos

- Determinar la presencia de signos y síntomas de toxicidad por el efecto de la administración oral aguda de rTBL-1 en ratones CD-1.
- Analizar el efecto de la administración oral aguda de rTBL-1 sobre marcadores hemáticos y bioquímicos en ratones CD-1.
- Analizar macroscópicamente el efecto de la administración oral aguda de rTBL-1 en órganos diana como los renales, hepáticos y digestivos.

V. Materiales y métodos

5.1. Aprobación bioética

El protocolo de investigación fue revisado y aprobado por el Comité de Bioética de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro con el número 29FCN2021. En todo momento se atendieron los lineamientos y recomendaciones de la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999) sobre las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.

5.2. Material

La lectina recombinante de frijol Tépari (*rTBL-1*) se obtuvo de acuerdo con el método propuesto por Martínez-Alarcón et al., 2020 y Palmerín-Carreño y col., 2021.

5.3. Tipo de estudio y modelo animal

El estudio fue longitudinal y experimental donde se utilizaron 30 ratones hembra de la cepa CD-1 debido a su alta sensibilidad para las pruebas toxicológicas en estudios agudos (OECD, 2001). Los ratones se encontraban clínicamente sanos con 5 semanas de edad cuando fueron adquiridos del bioterio del Instituto de Neurobiología de la Universidad Nacional Autónoma de México (INB-UNAM) campus Juriquilla. Los ratones se mantuvieron en el bioterio de la FCN-UAQ donde se realizaron los procedimientos experimentales bajo las siguientes condiciones: temperatura de 22 ± 2 °C, humedad relativa de 45 a 60%, ciclos de 12 h luz y 12 h oscuridad. El alimento y el agua se proporcionaron *ad libitum*; el alimento comercial de roedor (Nutricubos® Agribrands Purina México, S.A. de C.V.) fue tratado térmicamente en autoclave (temperatura de 105 °C durante 15 minutos a 6 psi) para la inactivación de lectinas presentes.

5.3.1. Administración oral aguda de la rTBL-1

Después de una semana de aclimatación a las condiciones del bioterio de la FCN-UAQ, los ratones fueron divididos aleatoriamente en 6 grupos de 5 animales cada uno. Se asignaron 5 grupos de estudio a los que se administró, por vía oral con ayuda de una cánula intragástrica, una dosis única de la rTBL-1 de 5, 30, 50, 100 y 300 mg/kg de peso a cada grupo respectivamente; mientras que al grupo control se administró el vehículo que fue solución salina, en ninguno de los grupos se excedió el volumen de 10 mL/kg y los ratones tenían 2 h de ayuno previas al tratamiento respetando las recomendaciones de buenas prácticas de laboratorio (Diehl y col., 2001) .

5.3.2. Periodo de observación

Los grupos experimentales se mantuvieron en observación después de ser administrados los tratamientos de manera constante la primera media hora, periódicamente durante las siguientes 24 horas y 2 veces al día durante los próximos 13 días para presenciar signos y síntomas de toxicidad, tales como: aspecto físico (posiciones extrañas, piloerección, posición de la cola, lagrimeo, excretas, pérdida de peso), comportamiento (consumo de agua y alimentos, actividad/inactividad, comportamiento exploratorio, agresividad, sedación); otras alteraciones (temblores musculares, convulsiones, parálisis, alteración de los reflejos, tamaño de pupila, opacidad corneal).

5.3.3. Obtención de muestras sanguíneas y análisis macroscópico

Al día 14 después de la administración de las dosis de la rTBL-1 se procedió a la eutanasia de los ratones por el método de isoflurano (Norma Oficial Mexicana, 2001). Se obtuvieron muestras de sangre por punción cardíaca para las determinaciones hematológicas (biometría hemática completa) en tubos con EDTA-K₂ como anticoagulante y para las determinaciones bioquímicas (marcadores hepáticos:

alanina-aminotransferasa (TGP) y aspartato-aminotransferasa (TGO); y marcadores renales: urea y creatinina) en tubos con gel separador que fueron centrifugados a 3000 rpm durante 5 minutos. Las muestras sanguíneas fueron analizadas el mismo día de su obtención por Unidad de Servicios Clínicos de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro.

Los órganos de los animales se observaron, fueron extraídos y se mantuvieron en recipientes con solución salina 0.9% fría tratando de registrar su peso lo más rápido posible. El peso relativo de cada órgano se calculó utilizando la siguiente ecuación:

$$\text{Peso relativo}(\%) = \frac{\text{Peso del organo}}{\text{Peso corporal}} \times 100$$

Mientras que para el índice de longitud de los intestinos se determinó como:

$$\text{Índice de longitud} = \frac{\text{Longitud del intestino}}{\text{Peso corporal}}$$

5.3.4. Análisis estadístico

Los resultados experimentales fueron expresados como media \pm desviación estándar (DE), el tamaño de muestra se describe en las Figuras y Tablas de la sección de resultados de cada uno de los ensayos realizados. Las comparaciones entre medias de grupos se realizaron por un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba post-hoc Dunnett según correspondió ($p < 0.05$). Las bases de datos se realizaron en Microsoft 365® Excel. El análisis estadístico se efectuó en el programa JMP 6 y los gráficos fueron desarrollados en GraphPad Prism 8.

VI. Resultados y Discusión

La fracción de lectinas de frijol Tépari (TBLF) mostró baja toxicidad y buena tolerabilidad en ratas a las que fue administrada por vía oral (Alatorre-Cruz y col., 2018; Ferriz-Martínez y col., 2015; López-Sánchez y col., 2010), además de resultados positivos en su eficacia contra el cáncer de colon en ensayos *in vitro* e *in vivo* (Moreno-Celis y col., 2017, 2020). Ante las dificultades de obtención de la TBLF y la necesidad de purificar a las principales lectinas en la fracción para definir las actividades biológicas de estos compuestos por separado se desarrolló a partir de la lectina nativa TBL-1 una lectina recombinante (rTBL-1) mediante un sistema de expresión heteróloga (Martínez-Alarcón y col., 2020; Palmerín-Carreño y col., 2021). Por lo anterior, en el presente trabajo se evaluó el efecto de la administración oral aguda de la lectina recombinante del frijol Tépari rTBL-1 en ratones CD-1 para contar con la evidencia necesaria de su seguridad en el desarrollo de la nueva lectina como candidato terapéutico contra el cáncer de colon.

La toxicidad de lectinas de frijol Tépari se estudió anteriormente administrándola en ratones por vía intraperitoneal en dosis de 20 a 1,200 mg/kg (Reynoso-Camacho y col., 2003) y no se había ensayado de nuevo en estos animales hasta el presente estudio, aunque ahora se empleó una vía de administración distinta, la vía oral. En los ratones a los que se administró oralmente la rTBL-1 en las diferentes dosis (5-300 mg/kg) no se observó ningún signo o síntoma de toxicidad al comparar con respecto al grupo control. Los animales no mostraron aletargamiento, piloerección, diarrea, vómito, alteraciones en la postura y marcha, cambios en el comportamiento conductual o diferencia en las expresiones faciales. Todos los ratones sobrevivieron al ensayo en los distintos niveles de dosis administradas.

La rTBL-1, aunque con una vía de administración diferente, mostró mayor seguridad que lectinas semipuras de frijol Tépari en los ratones. Ya que por vía intraperitoneal causaron la muerte del 12.5 y 66.4% de los ratones hembra en los grupos que recibieron las dosis de 800 y 1,200 mg/kg respectivamente (dosis letal media (DL₅₀) de

1,110 y 1,120 mg de lectina/kg de peso corporal para ratones macho y hembra, respectivamente), así como inflamación del abdomen en los ratones que sobrevivieron (Reynoso-Camacho y col., 2003). En la comparación, la rTBL-1 también mostró tener menor grado de desarrollo de eventos adversos, ya que en los ensayos con ratas se describió la presencia de aletargamiento, piloerección y diarrea durante las primeras 48 h posteriores al tratamiento oral agudo con la TBLF (López-Sánchez y col., 2010).

El peso corporal y la ingesta alimento y agua son parámetros que permiten detectar de forma temprana la presencia de toxicidad de los compuestos administrados (Repetto Jiménez y Repetto Khun, 2009). Los ratones tratados con la rTBL-1 mantuvieron, conforme su crecimiento, la ganancia de peso de manera similar a los animales del grupo control (**Figura 1**). De manera similar, en el ensayo de toxicidad aguda de la TBLF, la administración de lectinas tampoco afectó el peso corporal de las ratas tratadas con respecto a los grupos control (López-Sánchez y col., 2010). Sin embargo, la administración de lectinas semipuras de frijol Tépari en ratones (ambos sexos) en dosis de 200, 400 y 600 mg/kg vía intraperitoneal; al día 4 se ha observado disminución del peso corporal, no obstante, al final del estudio agudo solo los machos alcanzaron el mismo peso que los controles, pero esto no sucedió con las hembras (Reynoso-Camacho y col., 2003), quizás porque los ratones hembra son más susceptibles a manifestar signos y síntomas de toxicidad (OCDE, 2001).

Los ratones tratados con la rTBL-1 no mostraron diferencia estadísticamente significativa al comparar los consumos de alimento y agua con los registros de consumo de los animales control (**Figura 2**). En el estudio de toxicidad aguda en ratas, cuando la TBLF fue administrada vía oral no se afectó la ingesta de alimento y agua, pese a la diarrea presentada durante las primeras 48 h posteriores al tratamiento, y tampoco repercutió en cambios del peso corporal como se describió previamente con respecto a los grupos control (López-Sánchez y col., 2010). En cambio, en los ratones a los que se administró por vía intraperitoneal la TBLF, se observó una disminución severa en la ingesta de alimento que pudo relacionarse con la pérdida de peso corporal (Reynoso-Camacho y col., 2003).

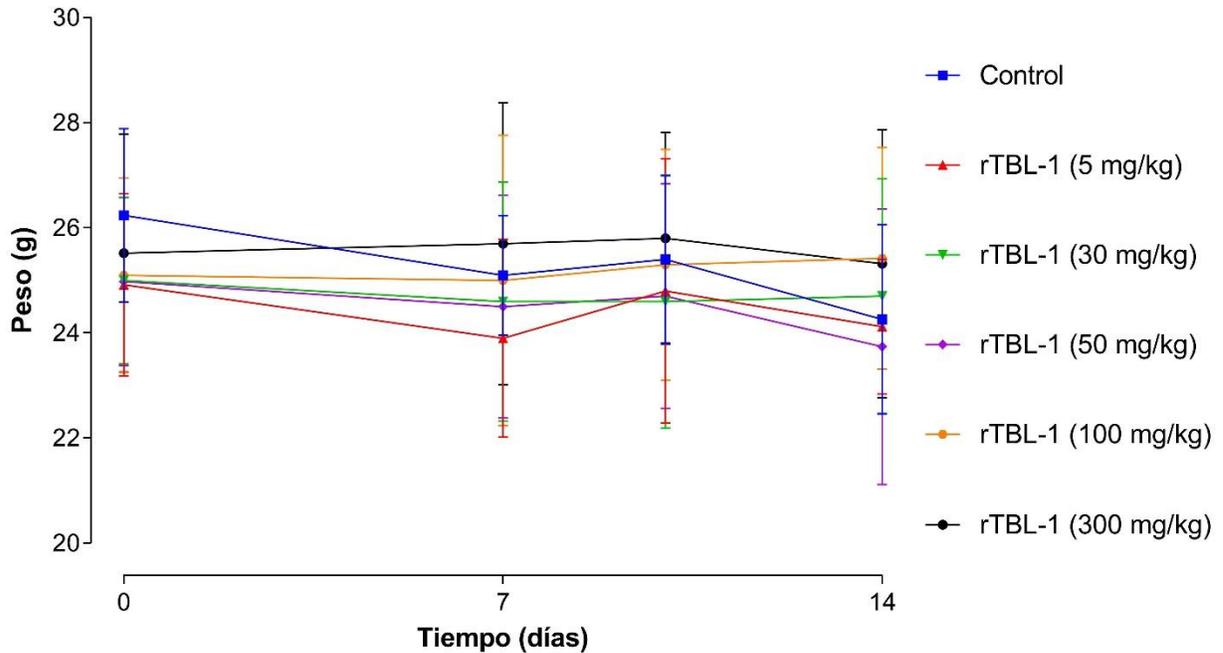


Figura 1. Peso corporal de los ratones hembra tratados con diferentes dosis de rTBL-1 en el estudio de toxicidad oral aguda.

Se muestran los valores promedio \pm desviación estándar de 5 ratones por grupo. Grupos que son diferentes significativamente con respecto al grupo control se señalan con un asterisco (*). ANOVA una vía, seguida de la prueba post-hoc de Dunnett para comparación de medias, $p < 0.05$.

Al completar el periodo de estudio se recolectó una muestra sanguínea para determinación de parámetros hematológicos. El análisis permitió identificar que en los ratones de los grupos administrados con la rTBL-1 la cantidad de células sanguíneas (eritrocitos, leucocitos y plaquetas) fue similar a la del grupo control (**Tabla 3**). En ratas del estudio de toxicidad oral aguda se describió que una dosis de 50 mg/kg de TBLF incrementó hasta 50% el número de leucocitos y que una dosis de 2,000 mg/kg provocó una disminución del 25% de estas células sanguíneas en los animales tratados (López Sánchez, 2008), pero esto no fue observado en la sangre de los ratones tratados con las diferentes dosis de rTBL-1.

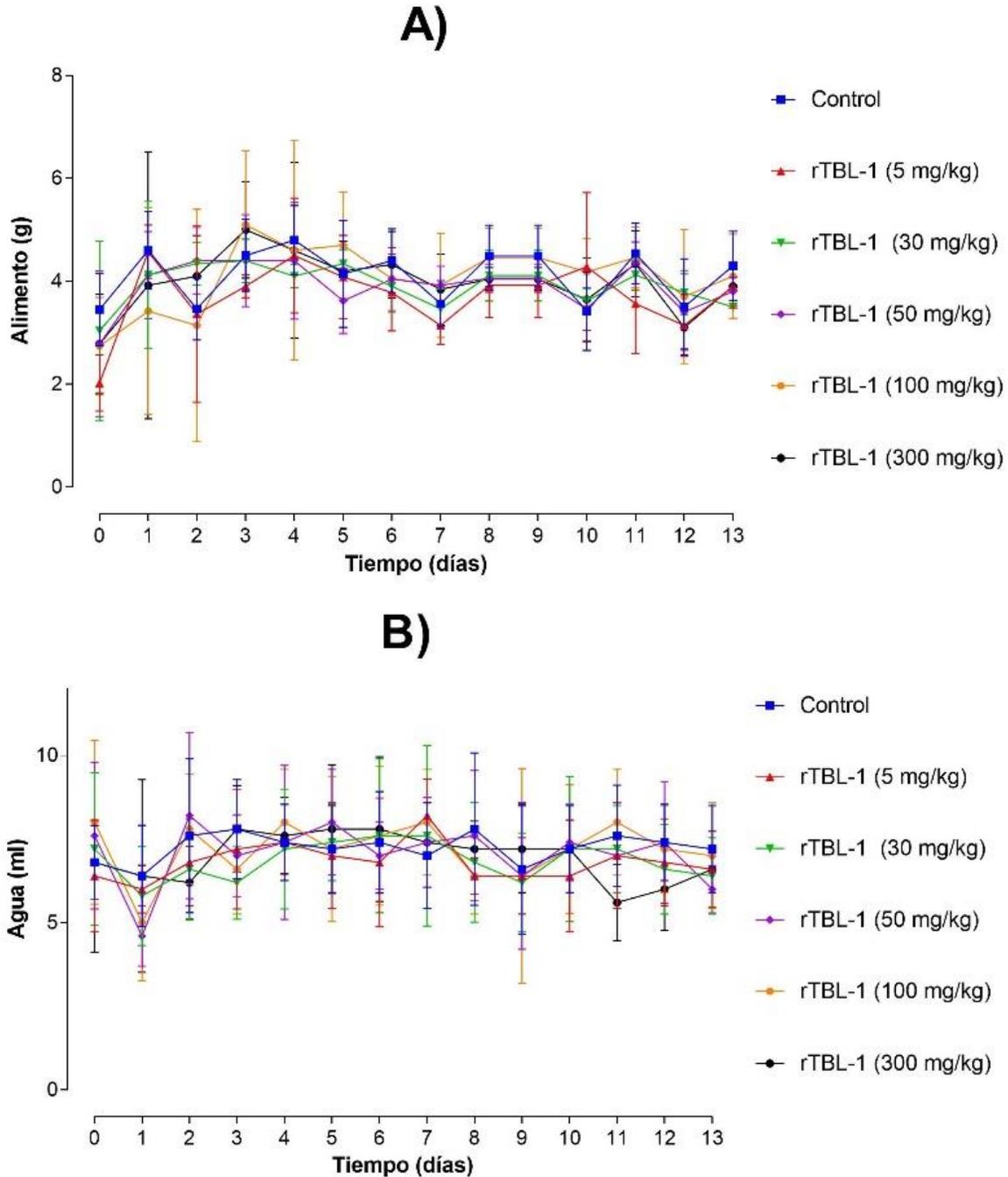


Figura 2. Consumos de alimento y agua de los ratones hembra tratados con diferentes dosis de rTBL-1 en el estudio de toxicidad oral aguda.

A) Ingesta de alimento. B) Consumo de agua. Se muestran los valores promedio \pm desviación estándar de 5 ratones por grupo. Grupos que son diferentes significativamente con respecto al grupo control se señalan con un asterisco (*). ANOVA una vía, seguida de la prueba post-hoc de Dunnett para comparación de medias, $p < 0.05$.

Tabla 3. Biometría hemática de los ratones hembra del estudio de toxicidad aguda.

Parámetro	Grupo					
	Control	rTBL-1 (5 mg/kg)	rTBL-1 (30 mg/kg)	rTBL-1 (50 mg/kg)	rTBL-1 (100 mg/kg)	rTBL-1 (300 mg/kg)
LEUCOCITOS (x10 ³ /μL)	7.3±1.1	9.7±1.4	9.2±3.4	6.3±2.2	8.1±2.9	9.1±2.6
Linfocitos (%)	86.1±4.0	83.1±4.4	85.8±5.8	82.1±11.7	91.8±3.7	89.5±2.7
ERITROCITOS (x10 ⁶ /μL)	9.8±1.4	9.3±0.5	9.7±0.2	10.5±0.7	9.3±0.1	9.7±0.4 ^a
Hemoglobina (g/dL)	15.5±2.2	15.1±0.6	15.8±0.6	17.0±0.5	14.8±0.2	15.5±0.6
Hematocrito (%)	55.8±7.5	54.3±3.1	56.3±0.9	59.0±3.1	52.6±1.6	55.7±3.3
MCV (fL)	56.8±0.7	58.4±0.9	58.1±0.4	56.2±1.0	56.7±0.9	57.6±1.3
MCH (pg)	15.8±0.1	16.3±0.6	16.4±0.3	16.2±0.6	16.0±0.3	16.0±0.0
MCHC (g/dL)	27.8±0.3	27.8±0.9	28.1±0.8	28.8±0.7	28.2±0.9	28.9±1.7
RDW (%)	14.2±2.4	14.4±1.5	15.1±0.5	15.7±1.2	14.3±0.1	15.7±1.4
PLAQUETAS (x10 ³ /μL)	624.0±196.3	684.3±38.6	613.3±135.7	702.3±106.2	653.3±146.3	720.0±116.9
MPV (fL)	6.6±0.6	6.5±0.3	6.7±0.2	7.0±0.6	6.4±0.5	7.1±0.3

Se muestran los valores promedio ± desviación estándar de 3 ratones por grupo. Grupos que son diferentes significativamente con respecto al grupo control se señalan con un asterisco (*). ANOVA una vía, seguida de la prueba post-hoc de Dunnett para comparación de medias, p<0.05. MCV: volumen globular medio; MCH: hemoglobina corpuscular media; MCHC: concentración media de hemoglobina corpuscular; RDW: ancho de distribución de glóbulos rojos; MPV: volumen plaquetario medio.

Los parámetros bioquímicos que fueron evaluados en el suero de las muestras sanguíneas de los ratones se muestran en la **Tabla 4**. La urea y creatinina como marcadores de la función renal se mostraron sin cambios distintos a lo determinado en el grupo control. De manera similar, las mediciones de la TGP y TGO no tuvieron diferencia significativa entre los grupos tratados con rTBL-1 y el grupo control. Por lo tanto, mediante las determinaciones bioquímica realizadas se tiene evidencia de que el funcionamiento normal del hígado y de los riñones no fue afectado en los ratones tratados con la rTBL-1 por vía oral. No se cuenta con datos previos para realizar la comparación de estos parámetros cuando la TBLF fue administrada a rata y a ratón en estudios de toxicidad aguda (López-Sánchez y col., 2010; Reynoso-Camacho y col., 2003).

Tabla 4. Bioquímica sanguínea de los ratones hembra del estudio de toxicidad aguda.

Parámetro	Grupo					
	Control	rTBL-1 (5 mg/kg)	rTBL-1 (30 mg/kg)	rTBL-1 (50 mg/kg)	rTBL-1 (100 mg/kg)	rTBL-1 (300 mg/kg)
Urea (mg/dL)	65.0±12.1	56.5±4.9	65.7±8.5	58.7±7.6	60.0±6.6	67.3±16.6
Creatinina (mg/dL)	0.5±0.2	0.3±0.1	0.4±0.1	0.5±0.1	0.5±0.1	0.4±0.2
TGO (U/L)	177.7±47.2	171.0±64.6	169.7±56.1	153.3±75.2	169.0±83.9	181.7±82.9
TGP (U/L)	70.3±38	73.0±42.8	74.0±33.1	62.7±28.6	63.5±30.9	72.0±39.6

Se muestran los valores promedio \pm desviación estándar de 3 ratones por grupo. Grupos que son diferentes significativamente con respecto al grupo control se señalan con un asterisco (*). ANOVA una vía, seguida de la prueba post-hoc de Dunnett para comparación de medias, $p < 0.05$. TGP: alanina-aminotransferasa; TGO: la aspartato-aminotransferasa.

En el análisis macroscópico de los órganos no se observaron cambios morfológicos visibles en cuanto al color y la posición de los órganos de los ratones tratados con la rTBL-1 al respecto de los animales en el grupo control. En los pesos relativos del intestino delgado, el intestino grueso y el hígado de los ratones que por vía oral fueron administrados con la rTBL-1 no se observaron diferencias significativas al respecto de los determinados para los órganos de animales del grupo control (**Figura 3**). Tampoco se observaron cambios en el índice de longitud del intestino delgado y del intestino grueso al comparar entre grupos tratados y control (**Figura 4**). Estos resultados son similares a los que se obtuvieron en el estudio de toxicidad aguda de la TBLF en ratas donde se reportó que no hubo afección en el peso de estos órganos (intestino delgado, intestino grueso e hígado) aun cuando se probó una dosis mayor (2,000 mg/kg) (López-Sánchez y col., 2010). Por otro lado, la administración por vía intraperitoneal de lectinas semipurificadas a ratones se reportó un crecimiento hiperplásico del intestino y un menor peso relativo del hígado con respecto a los órganos de animales control (Reynoso-Camacho y col., 2003).

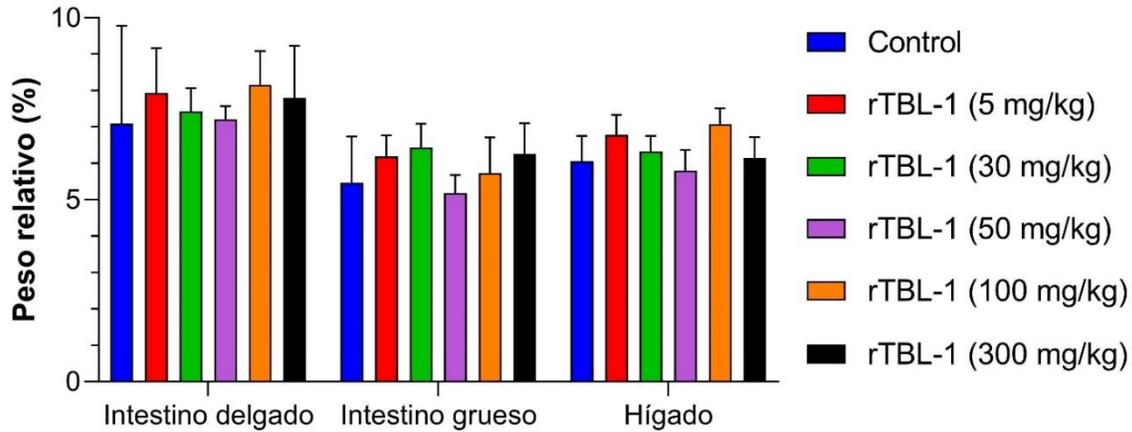


Figura 3. Peso relativo del intestino delgado, intestino grueso e hígado de los ratones hembra tratados con rTBL-1 del estudio de toxicidad oral aguda. Se muestran los valores promedio \pm desviación estándar de 5 ratones por grupo. Grupos que son diferentes significativamente con respecto al grupo control se señalan con un asterisco (*). ANOVA una vía, seguida de la prueba post-hoc de Dunnett para comparación de medias, $p < 0.05$.

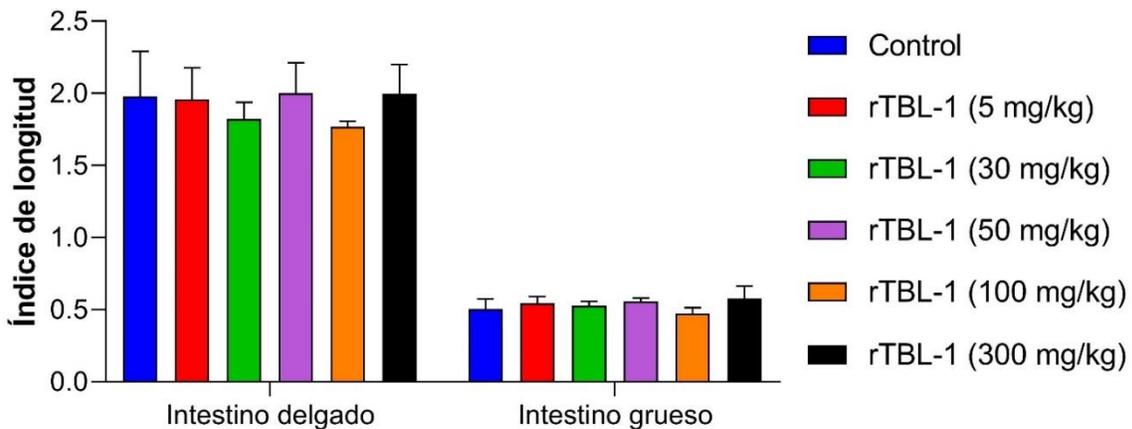


Figura 4. Índice de longitud de intestino delgado e intestino grueso de ratones hembra tratados con rTBL-1 de estudio de toxicidad oral aguda. Se muestran los valores promedio \pm desviación estándar de 5 ratones por grupo. Grupos que son diferentes significativamente con respecto al grupo control se señalan con un asterisco (*). ANOVA una vía, seguida de la prueba post-hoc de Dunnett para comparación de medias, $p < 0.05$.

El corazón, los pulmones y los riñones de los ratones tratados con la rTBL-1 no mostraron diferencia significativa en su peso relativo al compararse con los órganos de animales del grupo control (**Figura 5**). En ratas del estudio de toxicidad oral aguda de la TBLF se visualizó una disminución en el peso de los riñones en los grupos que recibieron una dosis de 50 y 300 mg/kg (López-Sánchez y col., 2010). También se reportó en el estudio de toxicidad aguda por vía intraperitoneal en ratones una disminución en el peso relativo de los riñones, y en el caso de los ratones hembra un aumento en el peso relativo de los pulmones (en ratones que murieron antes de

completar el periodo del estudio, se observaron áreas de hemorragia en los pulmones) (Reynoso-Camacho y col., 2003), esto no fue observado con la rTBL-1 en el presente estudio.

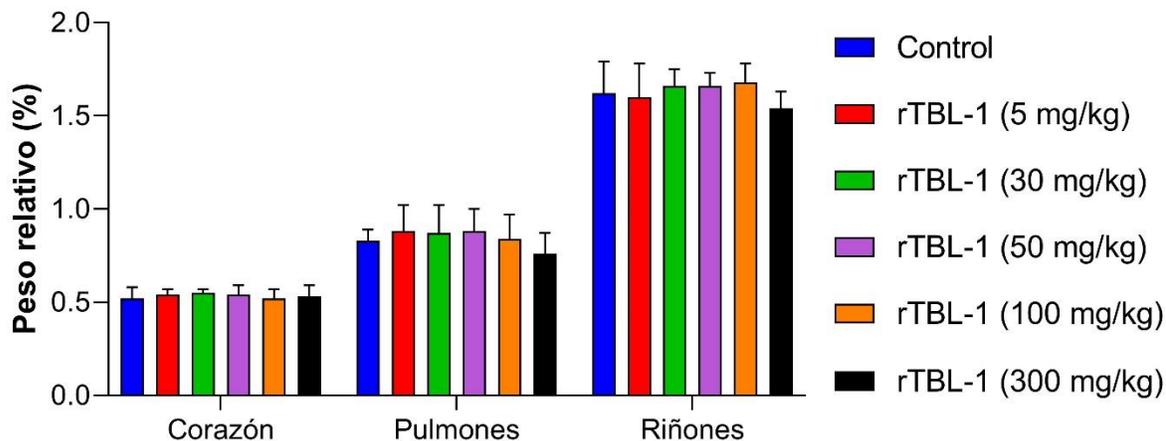


Figura 5. Peso relativo del corazón, pulmones y riñones de ratones hembra tratados con rTBL-1 de estudio de toxicidad oral aguda.

Se muestran los valores promedio \pm desviación estándar de 5 ratones por grupo. Grupos que son diferentes significativamente con respecto al grupo control se señalan con un asterisco (*). ANOVA una vía, seguida de la prueba post-hoc de Dunnett para comparación de medias, $p < 0.05$.

Los pesos relativos del cerebro, estómago y páncreas no fueron diferentes a los propios para estos órganos entre animales tratados con la rTBL-1 con respecto al grupo control (**Figura 6**). En ratas del estudio de toxicidad oral aguda de la TBLF, el grupo que recibió una dosis de 50 mg/kg tuvo una disminución en el peso del páncreas (López-Sánchez y col., 2010), y en ratones a los que se administraron lectinas semipuras por vía intraperitoneal no se reportó afección sobre estos órganos (Reynoso-Camacho y col., 2003).

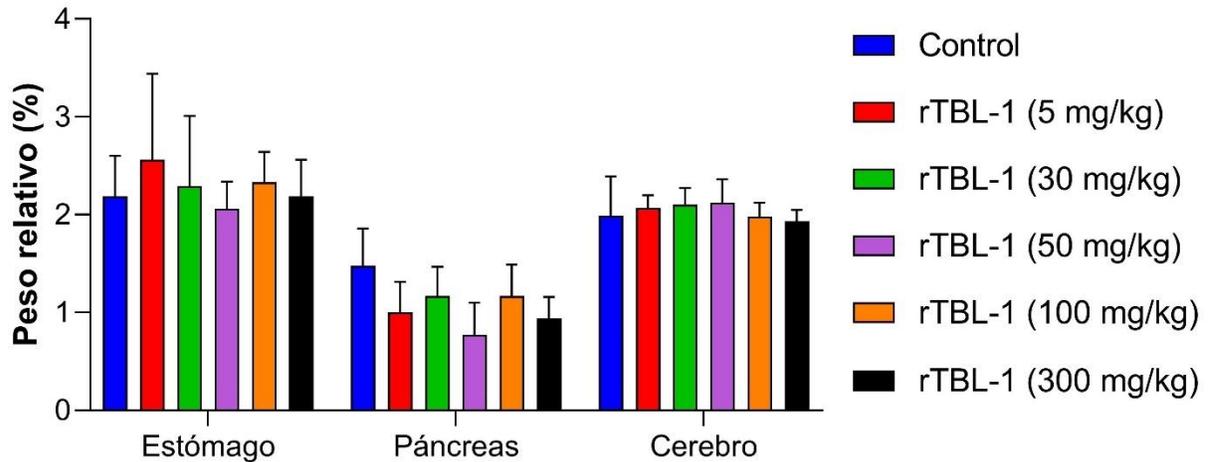


Figura 6. Peso relativo del estómago, páncreas y cerebro de ratones hembra tratados con rTBL-1 de estudio de toxicidad oral aguda.

Se muestran los valores promedio \pm desviación estándar de 5 ratones por grupo. Grupos que son diferentes significativamente con respecto al grupo control se señalan con un asterisco (*). ANOVA una vía, seguida de la prueba post-hoc de Dunnett para comparación de medias, $p < 0.05$.

El bazo, el timo y los ovarios de los ratones tratados con la rTBL-1 no mostraron diferencia significativa al compararse con los animales del grupo control (**Figura 7**). En el estudio de toxicidad oral aguda de la TBLF no se describieron cambios en estos órganos para animales de los grupos tratados (López-Sánchez y col., 2010). Pero si en el estudio de toxicidad aguda de ratones a los que se administraron lectinas semipuras por vía intraperitoneal, se reportó incremento en el peso del bazo, en algunos casos dependiente de la dosis administrada de TBLF, y una disminución en el peso del timo, efectos más visibles en ratones hembra (Reynoso-Camacho y col., 2003).

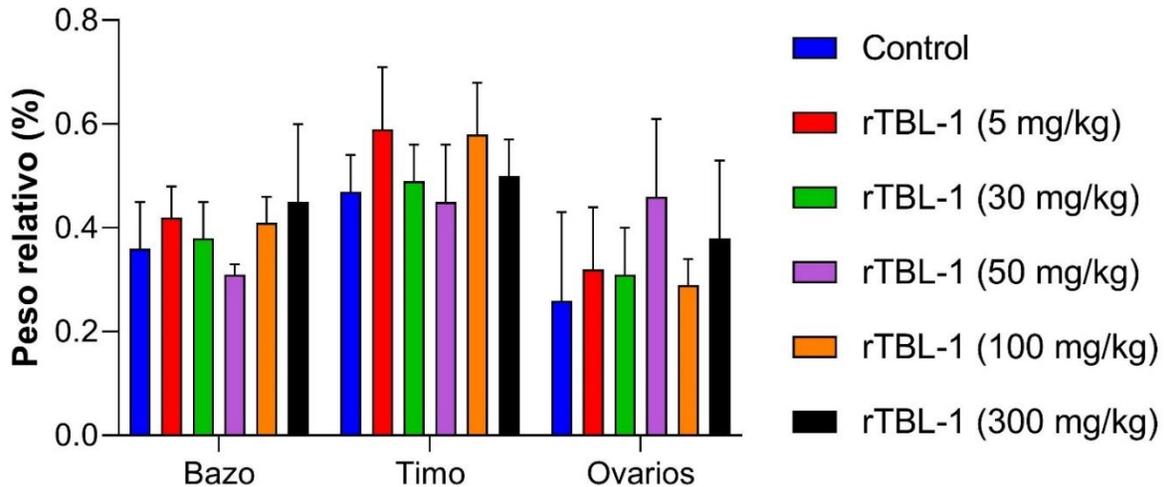


Figura 7. Peso relativo de bazo, timo y ovarios de ratones hembra tratados con rTBL-1 de estudio de toxicidad oral aguda.

Se muestran los valores promedio \pm desviación estándar de 5 ratones por grupo. Grupos que son diferentes significativamente con respecto al grupo control se señalan con un asterisco (*). ANOVA una vía, seguida de la prueba post-hoc de Dunnett para comparación de medias, $p < 0.05$.

A partir de los resultados descritos anteriormente se puede precisar que la rTBL-1 administrada por vía oral en dosis única a los ratones hembra CD-1 produjo menor número de efectos adversos a los reportados cuando la TBLF fue ensayada en un esquema de toxicidad similar en ratas (López-Sánchez y col., 2010). Es también evidente que la vía de administración oral es de mayor seguridad que la vía de administración intraperitoneal ya que, en este último caso, la administración de lectinas semipuras de frijol Tépari causó la muerte de ratones en el ensayo de toxicidad aguda con un reporte de una DL_{50} 1,120 mg/kg para ratones hembra (Reynoso-Camacho y col., 2003).

Ante la sobrevivencia de todos los ratones hembra en este estudio y a que no llegaron a observarse signos o síntomas de toxicidad no fue posible determinar DL_{50} aún con el uso de la dosis más alta de la rTBL-1 que fue evaluada (300 mg/kg). Por lo que con la evidencia mostrada se puede considerar que la rTBL-1 pertenece a una sustancia de categoría 3 con baja toxicidad que pudiera clasificarse en categorías de mayor seguridad siempre y cuando se hagan los ensayos pertinentes (OCDE, 2001).

VII. Conclusión

Posterior a la administración aguda vía oral de la rTBL-1 en los ratones CD-1, no fueron determinados signos y síntomas de toxicidad entre los grupos de las diferentes dosis y el grupo control. No se observó presencia de diarreas, vómitos o cambios conductuales. La comparación de ganancia de peso, crecimiento, consumo de alimento y agua no se presentaron diferencias significativas entre los grupos administrados con las diferentes dosis de rTBL-1 y el grupo control.

Los resultados arrojados para la valoración hemática y bioquímica indican que no hay cambios aparentes entre los grupos administrados con rTBL-1 y el grupo control. Marcadores de función hepática y renal se muestran sin cambios entre grupos tratados con rTBL-1 y control.

En la valoración macroscópica de los órganos de los ratones tratados y el grupo control, no se observaron cambios morfológicos ni diferencias en el peso relativo de hígado, corazón, pulmones, riñones, estómago, páncreas, cerebro, bazo, timo, ovarios, intestino delgado y grueso. El índice de longitud de intestino delgado y grueso no se observaron diferencias entre los grupos administrados con rTBL-1 y el control.

El presente estudio permitió evaluar que la administración oral aguda de la lectina recombinante del frijol Tépari rTBL-1 no presenta toxicidad en ratones hembra CD-1. La información recabada da lugar a que la realización de los ensayos de toxicidad a dosis bajas en administraciones repetidas sea factible.

VIII. Literatura citada

- Aguilar-García. (2004). VI.Reacciones de aglutinación. *Gac Méd Méx*, 140(4), S50–S52.
- Aguirre, P. (2019). Functional foods, between the new and old corporalities. *AIBR Revista de Antropología Iberoamericana*, 14(1), 95–120.
<https://doi.org/10.11156/aibr.140106>
- Alatorre-Cruz, J. M., Pita-López, W., López-Reyes, R. G., Ferriz-Martínez, R. A., Cervantes-Jiménez, R., de Jesús Guerrero Carrillo, M., Vargas, P. J. A., López-Herrera, G., Rodríguez-Méndez, A. J., Zamora-Arroyo, A., Gutiérrez-Sánchez, H., de Souza, T. R., Blanco-Labra, A., & García-Gasca, T. (2018). Effects of intragastrically-administered Tepary bean lectins on digestive and immune organs: Preclinical evaluation. *Toxicology Reports*, 5, 56–64.
<https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2017.12.008>
- Albersheim, P., & Anderson, A. J. (2007). Proteins from plants cell walls inhibit polygalacturonases secreted by plant pathogens. *PNAS*, 68(8), 1815–1819.
- Alfonso-Cardoso, S. R., Silva, C. v., Ferreira, M. S., & Souza, M. A. (2011). Effect of the *Synadenium carinatum* latex lectin (ScLL) on *Leishmania* (*Leishmania*) *amazonensis* infection in murine macrophages. *Experimental Parasitology*, 128(1), 61–67.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0014489411000567>
- Álvarez Montes de Oca, D. M., de la Fuente, J. L., Villarubia Montes de Oca, O. I., Menéndez de San Pedro, J. C., & Ortiz, L. E. (1996). Actividad biológica de *Ricinus communis* sobre mosca doméstica (*Musca doméstica*). *Rev Cub Med Trop*, 48(3), 192–194.
- Annabel, H. A., Parret, K. T., & Rene, D. M. (2005). Novel Lectin- Like Bacteriocins of Biocontrol Strain Pf-5. *Pseudomonas Fluorescens*. *American Society for Microbiology*, 73(12), 8188–8193.
- Arechiga Chávez, K. E. (2020). *Desarrollo de tortillas saludables a base de maíz azul (Zea mays L) y frijol tepari (Phaseolus acutifolius) mediante la tecnología de extrusión alcalina.*

- Badui Dergal, S. (2013). Proteínas de leguminosas. In PEARSON (Ed.), *Química de los alimentos* (5th ed., pp. 204-205 (744)).
- Barrón Hoyos, J. M. (2010). *Evaluación de la calidad proteica de nuevas variedades de frijol (Phaseolus vulgaris) dell estado de Durando mediante bioensayos y metodologías In-vitro.*
- Bencomo, A., Gomez, P., & Basanta, P. (1985). Lectinas: Propiedades biológicas, aplicaciones y perspectivas. *Rev Cub de Hematol e Inmunol*, 1(2), 130–141.
- Bhardwaj, H., & Hamama, A. (2004). Protein and mineral composition of tepary bean seed. *Hort Science*, 39, 1363–1365.
- Bhardwaj, H., & Hamama, A. (2005). Oil and fatty acid composition of tepary bean seed. *Hort Science*, 40, 1436–1438.
- Bird. (1988). Lectins: A hundred year. *GMG Inmunohematoloyi*, 4(3), 45–48.
- Bradley, M. J., Li Wang, M., & Morse, S. (2011). Ricinus. In *Wild crop relatives: genomk and breeding resources* (pp. 251–260).
- Breitenbach Barroso Coelho, L. C., dos Santos Silva, P. M., de Menezes Lima, V. L., Pontual, E. v., Guedes Paiva, P. M., & Napoleão, T. H. (2017). Lectins, interconnecting proteins with biotechnological/pharmacological and therapeutic applications. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1–22. <https://www.hindawi.com/journals/ecam/2017/1594074>
- Cambi, A., Koopman, M., & Figdor, C. (2005). How C-type lectins detect pathogens. *Cellular Microbiology*, 7(4), 481–488.
- Casso, R., & Montero, R. (2016). Factores antinutricionales en la alimentación de animales monogástricos. *190.121.143.77*, 51–61. <http://190.121.143.77/textos/otros-articulos/factores-antinutricionales-en-la-alimentacion-de-animales-2026.pdf>
- Castillo-Villanueva, A., & Abdullaev, F. (2005). Lectinas vegetales y sus efectos en el cáncer. *Rev. Invest. Clín*, 57, 56–64.
- Chel-Guerrero, L. A., Corzo-Rios, L., & Betancur-Ancona, D. A. (2003). Estructura y propiedades funcionales de proteínas de leguminosas. *Revista de La Universidad Autónoma de Yucatán*, 18, 34–43. <http://www.cirsociales.uady.mx/revUADY/pdf/227/ru2275.pdf>

- Cortés-Sánchez, A. D. J., León-Sánchez, J. R., Jiménez-González, F. J., Díaz-Ramírez, M., & Villanueva-Carvajal, A. (2016). Alimentos funcionales, alfalfa y fitoestrógenos. *Revista Mutis*, 6(1), 28. <https://doi.org/10.21789/22561498.1110>
- D'Mello, J. P. F. (1995). Anti-nutricional substances in legumes seeds. In J. P. F. D'Mello & C. Devendra (Eds.), *Tropical Legumes in Animal Nutrition* (CAB Intern, pp. 135–165).
- de Andrade, L. L., Cabral Silva, M. C., da Silva Ferrerira, R., Santana, L. A., Silva-Lucca, R. A., Mentele, R., & Breitenbach Barroso Coelho, L. C. (2013). Structural characterization of coagulant Moringa oleifera Lectin and its effect on hemostatic parameters. *International Journal of Biological Macromolecules*, 58, 31–36. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S014181301300130X>
- Deepa, M., Sureshkumar, T., Satheeshkumar, P. K., & Priya, S. (2012). Purified mulberry leaf lectin (MLL) induces apoptosis and cell cycle arrest in human breast cancer and colon cancer cells. *Chem. Biol. Interact.*, 200, 38–44.
- Degrossi, M. C. (1987). *Estudio de la composición química general y factores antinutricionales de variedades de porotos del género Phaseolus y otras legumbres: Valor nutritivo.* http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_2081_Degrossi.pdf
- Delebinski, C. I., Jaeger, S., Kemnitz-Hassanin, K., Henze, G., Lode, H. N., & Seifert, G. J. (2012). A new development of triterpene acid-containing extracts from *Viscum album* L. displays synergistic induction of apoptosis in acute lymphoblastic leukaemia. *Cell Prolif*, 45, 176–187.
- Diehl, K.-H., Hull, R., Morton, D., Pfister, R., Rabemampianina, Y., Smith, D., Vidal, J.-M., & Vorstenbosch, C. van de. (2001). A good practice guide to the administration of substances and removal of blood, including routes and volumes. *Journal of Applied Toxicology*, 21(1), 15–23. <https://doi.org/10.1002/jat.727>
- Domínguez, R.-, Victoria, C., Vázquez-luna, A., Rivadeneyra-, E., & Díaz-sobad, R. (2012). Lectinas en frutas y plantas comestibles: Nuevas posibilidades de interacción entre la ciencia de los alimentos y la biomedicina. *Ciencia UAT*, 6(3), 60–66.

- Elias, L. G., Cristales, F. R., & Bressani, R. (1976). Composición química y valor nutritivo de algunas leguminosas de grano. *Torrialba. INCAP*, 26, 375–380.
- Estrada-Martínez, L. E., Moreno-Celis, U., Cervantes-Jiménez, R., Ferriz-Martínez, R. A., Blanco-Labra, A., & García-Gasca, T. (2017). Plant lectins as medical tools against digestive system cancers. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(7). <https://doi.org/10.3390/ijms18071403>
- Fang, E. F., Zhang, C. Z. Y., Ng, T. B., Wong, J. H., Pan, W. L., Ye, X. J., Chan, Y. S., & Fong, W. P. (2012). Momordica charantia lectin, a type II Ribosome inactivating protein, exhibits antitumor activity toward human nasopharyngeal carcinoma cells In vitro and In vivo. *Cancer Prev Reserch*, 5(109–116).
- Ferriz-Martínez, R., García-García, K., Torres-Arteaga, I., Rodriguez-Mendez, A. J., Guerrero-Carrillo, M. de J., Moreno-Celis, U., Ángeles-Zaragoza, M. V., Blanco-Labra, A., Gallegos-Corona, M. A., Robles-Álvarez, J. P., Mendiola-Olaya, E., Andrade-Montemayor, H. M., Garcia, O. P., & Garcia-Gasca, T. (2015). Tolerability assessment of a lectin fraction from Tepary bean seeds (*Phaseolus acutifolius*) orally administered to rats. *Toxicology Reports*, 2, 63–69. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2014.10.015>
- FIRA. (2001). El frijol en México, competitividad y oportunidades de desarrollo. *Fideicomisos Instituidos En Relación Con La Agricultura*, Núm 316.
- Fu, L., Zhou, C., Yao, S., Yu, J., Lui, B., & Bao, J. (2011). Plant lectines: Targeting programmed cell death pathways as antitumor agents. *Biochem. Cell Biol.*, 43, 1442–1449.
- Gallego del Sol, F., Nagano, C. S., Cavada, B. S., Sampaio, A. H., & Calvete, J. J. (2006). Lectinas. *Investigacion y Ciencia*.
- García Rosasco, M., Lippi, S., & Valverde, J. (2001). Frecuencia de los grupos sanguíneos A1, A2, Aint, B y O en individuos normales. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter*, 17(3), 171–174.
- García-Gasca, T., García-Cruz, M., Hernandez-Rivera, E., Josue López-Matínez, Castañeda-Cuevas, A. L., Yllescas-Gasca, L., Mendiola-Olaya, E., Castro-Guillén, J. L., & Blanco-Labra, A. (2012). Effects of tepary bean (*Phaseolus acutifolius*)

- protease inhibitor and Semipure lectin fractions on cancer cells. *Nutrition and Cancer*, 64(8), 1269–1278. <https://doi.org/10.1080/01635581.2012.722246>
- Garred, P., Nielsen, M. A., Kurtzhals, J., Malhotra, R., Madsen, H. O., Goka, B. Q., Akanmori, B. D., Sim, R., & Hviid, L. (2003). “Mannose- Binding Lectin Is a Disease Modifier in Clinical Malaria and May Function as Opsonin for Plasmodium falkiparum Infected Erythrocytes”. *American Society for Microbiology*, 71(9), 5245–5253.
- Gómez, Y., & Velázquez, E. B. (2019). Health and food culture in Mexico. *Revista Digital Universitaria*, 20(1). <https://doi.org/10.22201/codeic.16076079e.2019.v20n1.a6>
- Gonzales Mejía, E., & Prisecaru. (2005). Lectins as bioactive plant proteins: A potencial in cancer treatment. *Food Science and Nutrition*, 45, 425–445.
- Gorelik, E., Galili, U., & Raz, A. (2001). On the role of cell surface carbohydrates and their binding proteins (lectins) in tumor metastasis. *Cancer Metastasis Rev*, 20, 245–277.
- Guéguen, J., & Cerletti, P. (1994). Proteins of some legumes seeds: Soybean, pea, fababean and lupin. In F. Hudson (Ed.), *New and Developing Sources of Food Proteins*. Chapman and Hall.
- Gueguen, J., van Oort, M. G., Quillien, L., & Helsing, M. (1993). The composition, biochemical characteristics and analysis of proteinaceous antinutritional factors in legume seeds. In: *Recent Advances of Research in Antinutritional Factors in Legume Seeds: Proceedings of the Second International Workshop on “Antinutritional Factors (ANFs) in Legume Seeds”, Wageningen, The Netherlands*, 70, 9–30.
- Guevara, S. (Institute of E. I., Rzedowski, J. (Institute of E. I., & Moreno-casasola, P. (Institute of E. I. (1993). LAS RAÍCES DE LA ETNOBOTÁNICA MEXICANA. *Acta Biologica Panamensis*, 1, 26–37.
- Hector, A. (Dpt. N. de Chile), & Lutz, M. (Dpt. N. de V. (2003). Alimentos funcionales y saludables. *Revista Chilena de Nutricion*, 30(0717–7518), 8–14. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182003000100001>

- Heredia, L. (2017). *CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y DE COMPUESTOS BIOACTIVOS DEL FRIJOL TEPARI (Phaseolus acutifolius Gray) CULTIVADO EN NUEVO LEÓN, MÉXICO*. <http://eprints.uanl.mx/14362/1/1080243933.pdf>
- Hernández, C. P., Eduardo, P. C., Lucía, M. M., Blanca, O., & Grisela, M. (2005). Las lectinas Vegetales como Modelo de Estudio de las Interacciones Proteína-Carbohidrato. *REB*, 24(1), 21–27.
- Herzing, K. H., Bardocz, S., Grant, G., Nustede, R., Folsch, U. R., & Pusztai, A. (1997). Red kidney bean lectin is a potent cholecystodinin releasing stimulus in the rat inducing pancreatic growth. *Gut*, 41, 333–338.
- Huisman, J., & Tolman, G. H. (1992). Antinutritional factors in the plant proteins of diets for nonruminants. In P. C. Garnsworthy, H. Haresing, & D. J. A. Cole (Eds.), *Recent Advances in Animal Nutrition*. (Butterwort, pp. 3–31).
- Hwang, I. S., & Hwang, B. K. (2011). The pepper mannosebinding lectins gene CaMLBI is required to regulate cell death and defense responses to microbial pathogens". *Plant Physiology*, 155(447–463).
- Idouraine, A. (1993). *Isolation, characterization, functional properties and biological evaluation of tepary bean (Phaseolus acutifolius) proteins*.
- Islam, B., & Khan, A. U. (2012). Lectins: To Combat Infections, Protein Purification. In R. Ahmad (Ed.), *Protein purification*. <https://doi.org/10.5772/30212>
- Kabir, S. R., Nabi, M. M., Haque, A., Zaman, R. U., Mahmud, Z. H., & Reza, M. A. (2013). Pea lectin inhibits growth of Ehrlich ascites carcinoma cells by inducing apoptosis and G2/Mcell cycle arrest in vivo in mice. *Phytomedicine*, 20(1288–1296).
- Lagarda-Díaz, I., Guzman-Partida, A. M., & Vázquez-Moreno, L. (2017). Legume lectins: proteins with diverse applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(6), 1242. <https://www.mdpi.com/1422-0067/18/6/1242>
- Lajolo, F., & Genovese, M. (2002). Nutritional significance of lectins and enzyme inhibitors from legumes. *J. Agric Food Chem*, 50, 6592–6598.
- Lam, S. K., & Ng, T. B. (2011). Lectin production and practical application. *Applied Microbiology Biotechnology*, 89, 45–55.

- Lara Vizuite, J. U., & Lema Balseca, C. V. (2020). *Actividad biológica de lectinas obtenidas de Amaranto (Amaranthus Caudatus) y Chocho (Lupinus Mutabilis)*. UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO.
- Lépiz, I., & R. & R. Ramírez, D. (2010). Los parientes silvestres del frijol común en el Occidente de México. *Orgánica Diseño Editorial*, 64.
- Liener, I. E. (1989). Antinutritional factors in legume seeds: state of the art. *Recent Advances of Research in Antinutritional Factors in Legume Seeds. Proceedings of the First International Workshop on "Antinutritional Factors (ANF) in Legume Seeds", Wageningen, The Netherlands*, 6–13.
- Llma, T. A., Fernandes, K. M., & Oliveira, A. P. S. (2017). Termiticidal lectins from *Myracrodruon urundeuva* (Anacardiaceae) cause midgut damage when ingested by *Nasutitermes corniger* (Isoptera: Termitidae) workers. *Pest Manag Sci*, 73(991–8).
- Lommis, A., & Hayes, W. (1996). *Loomis's essentials of toxicology* (Academic Press, Ed.; 4th ed.).
- López Ibarra, C. (2018). *Evaluación de las características nutricionales y funcionales del concentrado proteico de Phaseolus acutifolius gray*.
- López Sánchez, C. (2008). *Estudio sobre la toxicidad aguda y subcrónica vía oral de una lectina de frijol Tépari*. Universidad Autónoma de Querétaro.
- López-Sánchez, C., López-Martínez, F. J., Castañeda-Cuevas, A. L., Yllescas-Gasca, L., Ferriz-Martínez, R. A., Torres-Arteaga, I. C., & García-Gasca, T. (2010). Evaluación de la toxicidad in vitro e in vivo de lectinas de frijol Tépari. *Ciencia@UAQ*, 3(1), 3–13.
- Mañé Almero, J. (2007). Modelos experimentales in vivo de enfermedad inflamatoria intestinal y cáncer colorrectal. Conceptos, modelos actuales y aplicabilidad. *Nutricion Hospitalaria*, 22(2), 179–189.
- Maree, D. (2005). Lectins passive defence role in plants. *Biologist*, 52(2), 74–79.
- Martínez-Alarcón, D., Mora-Avilés, A., Espinoza-Núñez, A., Serrano Jamaica, L. M., Cruz-Hernández, A., Rodríguez-Torres, A., Castro-Guillen, J. L., Blanco-Labra, A., & García-Gasca, T. (2019). Rhizosecretion of a cisgenic lectin by genetic

- manipulation of Tepary bean plants (*Phaseolus acutifolius*). *Journal of Biotechnology: X*, 3(August), 100013. <https://doi.org/10.1016/j.btecx.2019.100013>
- Martínez-Alarcón, D., Varrot, A., Fitches, E., Gatehouse, J. A., Cao, M., Pyati, P., Blanco-Labra, A., & Garcia-Gasca, T. (2020). Recombinant lectin from tepary bean (*Phaseolus-acutifolius*) with specific recognition for cancer-associated glycans: Production, structural characterization, and target identification. *Biomolecules*, 10(4), 1–16. <https://doi.org/10.3390/biom10040654>
- Merlín Linares, J. C., Arce Hernández, A. A., Leyva Rodríguez, A., González, J. M., & Villaescusa Blanco, R. (2006). Lectina de unión a manosa: actividad biológica y significado. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter*, 22(3).
- Miranda Colín, S. (1967). Origen de *Phaseolus vulgaris* L. (Frijol común). *Rama de Genética*, 99–110. <http://193.122.196.39:8080/xmlui/handle/10521/1915>
- Mody, R., Joshi, S., & Chaney, W. (1995). Use of lectins as diagnostic and therapeutic tools for cancer. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*, 33, 1–10.
- Mora-Uzeta, C., Cuevas-Rodriguez, E. O., Lopez-Cervantes, J., Milán-Carrillo, J., Gutierrez-Dorado, R., & Reyes-Moreno, C. (2019). IMPROVEMENT NUTRITIONAL/ANTIOXIDANT PROPERTIES OF UNDERUTILIZED LEGUME TEPARY BEAN (*Phaseolus acutifolius*) BY SOLID STATE FERMENTATION. *Agrociencia*, 53, 987–1003. <https://agrociencia-colpos.mx/index.php/agrociencia/article/view/1858/1855>
- Moreno-Celis, U., López-Martínez, F. J., Blanco-Labra, A., Cervantes-Jiménez, R., Estrada-Martínez, L. E., García-Pascalín, A. E., Guerrero-Carrillo, M. D. J., Rodríguez-Méndez, A. J., Mejía, C., Ferríz-Martínez, R. A., & García-Gasca, T. (2017). *Phaseolus acutifolius* Lectin Fractions Exhibit Apoptotic Effects on Colon Cancer: Preclinical Studies Using Dimethylhydrazine or Azoxi-Methane as Cancer Induction Agents. *Molecules*, 22(10), 1670. <https://doi.org/10.3390/molecules22101670>
- Moreno-Celis, U., López-Martínez, F. J., Cervantes-Jiménez, R., Ferríz-Martínez, R. A., Blanco-Labra, A., & García-Gasca, T. (2020). Tepary Bean (*Phaseolus acutifolius*) lectins induce apoptosis and cell arrest in G0/G1 by P53(Ser46)

- phosphorylation in colon cancer cells. *Molecules*, 25(5), 1–14.
<https://doi.org/10.3390/molecules25051021>
- Muñoz, J. A., Llovo, M. R., & Fábregas Longo, J. (1993). Temas de microbiología lectinas: Panorámica General. *Documentos Didácticos 155, IUCE, Universidad Santiago de Compostela*, 4, 93–115.
- Muñoz, M. (2014). 5 Leguminosas. In J. de León Fraga, E. Salas Castillo, H. Guerrero Aguilar, & J. L. González Huerta (Eds.), *Tablas de uso práctico de los alimentos de mayor consumo* (Tercera edición, pp. 53–60). Mc Gra Hill Education.
- Nakata, S., & Kimura, T. (1985). Effect of ingested toxic bean lectins on the gastrointestinal tract in the rat. *J Nutr*, 115(12), 1621–1629.
- Norma Oficial Mexicana. (2001). *Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio* (DOF: 22/08/2001).
- Norma Oficial Mexicana. (2013). Norma Oficial Mexicana NOM-043-SSA2-2012, Servicios básicos de salud. Promoción y educación para la salud en materia alimentaria. Criterios para brindar orientación. In *Diario Oficial de la Federación* (p. 28).
- Obispo Gavino, E. A. (2019). *Importancia Nutricional de las leguminosas en la Nutrición Humana: Aporte de macro y micronutrientes, formas de consumo*.
- OCDE. (2001). OCDE/OECD 423 - Guideline for testing of chemicals - Acute oral toxicity-Acute toxic class method. In *Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos*. OECD. <https://doi.org/10.1787/9789264071001-en>
- Olagnero, G., Genevois, C., Irei, V., Marcenado, J., & Bendersky, S. (2007). Alimentos funcionales: conceptos, definiciones y marco legal global. *Diaeta (B. Aires)*, January 2014, 31–39.
- Olmedilla Alonso, B., Farré Rovir, R., Asensio Vegas, C., & Martín Pedrosa, M. (2010). Papel de las leguminosas en la alimentación actual. In *Actividad Dietética* (Vol. 14, Issue 2, pp. 72–76). [https://doi.org/10.1016/S1138-0322\(10\)70014-6](https://doi.org/10.1016/S1138-0322(10)70014-6)
- Palmerín-Carreño, D., Martínez-Alarcón, D., Dena-Beltrán, J. L., Vega-Rojas, L. J., Blanco-Labra, A., Escobedo-Reyes, A., & García-Gasca, T. (2021). Optimization

- of a recombinant lectin production in *Pichia pastoris* using crude glycerol in a fed-batch system. *Processes*, 9(5), 1–16. <https://doi.org/10.3390/pr9050876>
- Penningroth, S. (2010). *Toxic chemical risk* (CRC Press, Ed.; 1st ed.).
- Pusztai, A. (1989). Biological effects of dietary lectins. *Recent Advances of Research in Antinutritional Factors in Legume Seeds. Proceedings of the First International Workshop on "Antinutritional Factors (ANF) in Legume Seeds", Wageningen, The Netherlands November, 17–29.*
- Quintana, C. H., Gomez, B. C., Diaz, N. J., & Camarena, M. F. (2000). Evaluación de la calidad de la proteína de cuatro variedades mejoradas de frijol. *Revista Cubana Alimentaria Nutricional*, 14, 22–27.
- Rehman, Z., Salariya, A. M., & Zafar, S. I. (2001). Effect of processing on available carbohydrate content and starch digestibility of kidney beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Chemistry*, 73, 351–355.
- Repetto Jiménez, M., & Repetto Khun, G. (2009). *Toxicología fundamental* (4th ed.). Ediciones Díaz de Santos.
- Reyes-Moreno, C., & Paredes-López, O. (1993). Hard-to-cook phenomenon in common beans—a review. *Crit. Rev. Food Sci Nutr*, 33, 227–286.
- Reynoso-Camacho, R., González de Mejía, E., & Loarca-Piña, G. (2003). Purification and acute toxicity of a lectin extracted from tepary bean (*Phaseolus acutifolius*). *Food and Chemical Toxicology*, 41, 21–27.
- Rhodes, J. M. (1999). Beans means lectins. *Gut*, 44, 493–594.
- Rodrigo Durán, C., & Alfonso Valenzuela, B. (2010). La experiencia japonesa con los alimentos foshu ¿Los verdaderos alimentos funcionales? *Revista Chilena de Nutrición*, 37(2), 224–233. <https://doi.org/10.4067/s0717-75182010000200012>
- Roldan, E. (2016). Conceptos generales en toxicología. In UNAM & FES Zaragoza (Eds.), *Introducción a la toxicología* (pp. 7–10). UNAM.
- Román-Cortés, N. R., García-Mateos, M. del R., Castillo-González, A. M., Sahagún-Castellanos, J., & Jiménez-Arellanes, M. A. (2018). Nutritional and nutraceutical characteristics of vegetables of ancestral use in Mexico. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 41(3), 245–253. <https://doi.org/10.35196/rfm.2018.3.245-253>

- Rural, S. de A. y desarrollo. (2015). *Leguminosas, el alimento de todos*. Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural. <https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/leguminosas-el-alimento-de-todos#:~:text=Las leguminosas también sirven para alimentar al ganado%2C,negros%2C amarillos%2C blancos%2C morados%2C bayos%2C pintos y moteados.>
- Sanchez Chino, X. M. (2019). Frijoles. *Ecofronteras*, 23(65), 14–16.
- Singht, T., Wu, J., Peumans, W., Rouges, P., van Damme, E., Alvarez, R. A., Blixt, O., & Wu, A. (2006). "Carbohydrate specificity of an insecticidal lectin isolated from the leaves of *Glechoma hederacea* (ground ivy) towards mammalian glycoconjugates. *Biochemistry Journal*, 393, 331–341.
- Smart, C., & Hodgson, E. (2008). *Molecular and biochemical toxicology* (Willey, Ed.; 4th ed.).
- Soberón, G. (2011). *Pseudomonas aeruginosa*. In E. Martínez Romero & J. C. Martínez Romero (Eds.), *Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México*. UNAM. <http://www.biblioweb.tic.unam.mx/libros/microbios/Cap3/>
- Torres Arteaga, I., & Castro Guillen, J. L. (2016). Characterization of Two Non-Fetuin-Binding Lectins from Tepary Bean (*Phaseolus acutifolius*) Seeds with Differential Cytotoxicity on Colon Cancer Cells. *Journal of Glycobiology*, 5(1), 1–7. <https://doi.org/10.4172/2168-958x.1000117>
- Trigueros, V., Lougarre, A., Ali-Ahmed, D., Rahbé, Y., Guillot, D., & Pauereau, L. (2003). Xerocomus chrysenteron lectin: identification of a new pesticidal protein. *Biochimica et Biophysica Acta.*, 1621, 292–298.
- Ulloa, Dr. J. A., Rosas Ulloa, M. en C. P., Ramírez Ramírez, D. J. C., & Ulloa Rangel, IBQ. B. E. (2011). El frijol (*Phaseolus vulgaris*): su importancia nutricional y como fuente de fitoquímicos. *Revista Fuente Año 3, 8*, 5–9. <http://dspace.uan.mx:8080/jspui/handle/123456789/582>
- Vega-Rojas, L. J., Luzardo-Ocampo, I., Mosqueda, J., Palmerín-Carreño, D. M., Escobedo-Reyes, A., Blanco-Labra, A., Escobar-García, K., & García-Gasca, T. (2021). Bioaccessibility and in vitro intestinal permeability of a recombinant lectin from tepary bean (*Phaseolus acutifolius*) using the everted intestine assay.

International Journal of Molecular Sciences, 22(3), 1–22.
<https://doi.org/10.3390/ijms22031049>

- Villaseñor, J. L. (2016). Checklist of the native vascular plants of Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 87, 559–902.
- Welch, R. M., & Graham, R. D. (2004). Breeding for micronutrient in staple food crops from a human nutrition perspective. *J. Exp. Bot.*, 55, 353–364.
- Welch, R. M., & House, W. A. (1984). Factors affecting the bioavailability of mineral nutrients in plant foods. *R. M. Welch, and W. H. Gabelman (Eds), Crops as Sources of Nutrients for Humans, American Society of Agronomy, Madison, WI*, 37–54.
- Yang, R. Y., Hsu, D. K., & Liu, F. (2006). Expression of galectin-3 modulates T-cell growth and apoptosis. *Immunology*, 93, 6737–6742.
- Yoshiyuki, A., Takashi, I., Akiyoshi, H., Hiroshi, T., Jun, A., Shingenori, T., & Naohito, O. (2004). Characterization of 13-Glucan Recognition site on C-Type Lectin, Dectin 1. *American Society for Microbiology*, 72(7), 4159–4171.