

Efecto de la Fitohemaglutinina sobre la Cicatrización

María de los Angeles BOFFILL CARDENAS *
y Carlos MARTINEZ FERNANDEZ

*Instituto Superior de Ciencias Médicas de Villa Clara
Carretera de Circunvalación y Acueducto Santa Clara
Apartado 860, Villa Clara, Cuba*

RESUMEN. La fitohemaglutinina es una proteína que ejerce un amplio espectro terapéutico. La misma es obtenida a partir de las semillas de *Phaseolus vulgaris* L. por un método extractivo establecido en el Laboratorio de Bioquímica del Instituto Superior de Ciencias Médicas de Villa Clara, el cual es una modificación del método de Rigas y Osgood. El uso de dicha proteína en concentración de 1 mg/ml presentó una significativa acción cicatrizante cuando se ensayó en ratones Balb/C en un modelo experimental con heridas abiertas. Se demostró una significativa disminución del tiempo de cicatrización y su acción sobre la contracción de la herida fue más positiva que la del resto de los controles; además evitó la presencia de infecciones, provocando de esta forma una cicatrización más funcional.

SUMMARY. "Effect of Phytohemagglutinin on Cicatrization". Phytohemagglutinin is a protein with a wide therapeutical range. It is obtained from the seed of *Phaseolus vulgaris* L. by means of an extractive method developed in the Biochemistry Laboratory of the Higher Institute of Medical Sciences of Villa Clara. This method is a modification of the Rigas and Osgood's method. The use of the above mentioned protein in a concentration of 1 mg/ml of salin solution had a significant tissue replacement action when it was assayed in Balb/C mice in an experimental model with open wound; a significant improvement of the cicatrization process and a production of a more functional scar were shown.

INTRODUCCION

La fitohemaglutinina (PHA) es una proteína de la familia de las lectinas que presenta una fuerte acción mitógena ¹, propiedad ésta que permite su utilización como medio de diagnóstico con el que se efectúan los cariotipos.

En la actualidad esta proteína es considerada como un modificador biológico ideal con un amplio potencial terapéutico que puede ser empleado en el tratamiento de las neoplasias, como adyuvante en cirugía y en las vacunas, en las infecciones críticas y en las quemaduras extensas ².

PALABRAS CLAVE: Fitohemaglutinina, Cicatrización, Terapéutica.

KEY WORDS: Phytohemagglutinin, Cicatrization, Therapeutical.

Se ha probado que esta proteína puede ser usada con fines terapéuticos teniendo en cuenta su inmunoestimulación con respecto a la activación y proliferación de efectores de vías celulares, así como su baja toxicidad ³ y por ejercer un efecto protector directo contra los daños de la radiación y la quimioterapia ⁴.

Teniendo en cuenta las características que presenta esta sustancia y la fácil obtención de la PHA-Villa Clara en nuestro medio, decidimos realizar este trabajo con el objetivo de comprobar si la aplicación tópica de esta sustancia ejerce un efecto beneficioso sobre el proceso de cicatrización.

MATERIALES Y METODOS

Este trabajo se realizó utilizando ratones Balb/C que se obtuvieron del Centro de Investigaciones Experimentales del Instituto Superior de Ciencias Médicas de Villa Clara. La fitohemaglutinina se extrajo como proteína pura de semillas de *Phaseolus vulgaris* L. por un método extractivo establecido en el Laboratorio de Bioquímica de dicho centro, el cual es una modificación del método reportado por Rigas y Osgood ⁵, ya que utilizamos el fraccionamiento alcohólico para lograr la purificación de la misma y obtenerla con una pureza del 98%. Para ello se utilizó una variedad de *Phaseolus vulgaris* obtenida en el Instituto Nacional de Investigaciones de Viandas Tropicales, la cual está sometida a un riguroso control genético, ya que como es conocido el potencial mitogénico de la fitohemaglutinina varía con la variedad de *Phaseolus vulgaris* utilizada ¹. La proteína se disuelve en solución salina para su aplicación en la herida abierta a una concentración de 1 mg/ml. Se utilizó solución comercial de merbromín (sal disódica de la 2,7-dibromo-4-hidroximercurifluoresceína) como control, ya que es una sustancia usada ampliamente como antiséptico en heridas abiertas, y solución salina como placebo.

El modelo experimental se llevó a efecto constituyendo 3 grupos, los cuales estaban formados por 20 animales cada uno: 10 hembras y 10 machos agrupados por parejas en las cajas T2 y mantenidos en condiciones de temperatura de 25 ± 2 °C y el 70 % de humedad. El grupo A lo formaban los animales a los cuales se trató con solución salina, el grupo B los que se les aplicó merbromín y el grupo C los que se les aplicó la fitohemaglutinina.

A cada animal se le anestesió utilizando éter y se le hizo un defecto tisular circular en la región dorsal de 19 mm de diámetro que intervino la dermis y la epidermis, utilizando una tijera y una plantilla plástica creada al efecto para garantizar la uniformidad del corte. Con posterioridad a la realización del defecto tisular los animales en los diferentes grupos fueron tratados mediante una aplicación tópica, diariamente los primeros 5 días y posteriormente en días alternos. El cierre de la herida se midió diariamente. La fitohemaglutinina se preparó en solución salina a una concentración de 1 mg/ml, esta solución se conservó a 4 °C, temperatura en la que la misma es estable por un mes.

Se realizó primeramente un análisis de varianza bifactorial para comprobar si existía interacción entre los factores sexo y el tratamiento en las variables estudiadas; en el caso de no existir interacción se realizó el test no paramétrico de comparación de Kurskal - Wallin y como test de rango el de Mann-Witney.

RESULTADOS Y DISCUSION

Al comparar mediante el análisis de varianza bifactorial el tiempo de cicatrización según el tratamiento y el sexo se pudo evidenciar que no existe interacción entre los resultados obtenidos y como puede observarse en la Tabla 1 el tiempo medio de cicatrización de las heridas de los animales tratados con el merbromín y con la fitohemaglutinina fueron menores cuando se compararon con el grupo al cual se le aplicó el placebo, siendo esta diferencia altamente significativa; sin embargo, a pesar de que el tiempo medio de cicatrización de los animales tratados con la fitohemaglutinina fue menor que la de los tratados con el merbromín, esta diferencia no fue significativa.

Grupos	N	Tiempo (días)
A	20	17,31
B	20	15,89
C	20	14,79

p (A-B) < 0,001; p1 (A-C) < 0,001; p2 (B-C) > 0,05

Tabla 1. Tiempo de cicatrización. Grupo A: tratado con solución salina; grupo B: tratado con merbromín; grupo C: tratado con fitohemaglutinina. p: nivel de significación de los tratamientos entre los grupos A y B; p1: nivel de significación de los tratamientos entre los grupos A y C; p2: nivel de significación de los tratamientos entre los grupos B y C.

En la Tabla 2 se muestra el comportamiento (por sexo y por grupo) de la contracción de la herida expresada en la disminución del diámetro del defecto tisular en mm. En dicha tabla se observa que el grupo que presentó los mayores valores de contracción de la herida a los 12 y 16 días fue el grupo tratado con la fitohemaglutinina, lo cual resultó altamente significativo cuando fue comparada con la del placebo y significativa con el grupo tratado con el merbromín, lo que nos indica que hubo una mayor contracción de la herida en tiempos más cortos con el uso de la fitohemaglutinina, lo que hace el proceso de cicatrización más eficiente en este grupo. Aunque se midió la reducción del diámetro de la herida hasta los 21 días de tratamiento, no se refleja en las mediciones del día 20 por no ser estas representativas, ya que los dos últimos animales del grupo C que faltaban por completar su cicatrización lo hicieron en el día 17.

Es de destacar que aunque hubo diferencia entre los sexos, pues siempre se presentó una mayor contracción en el sexo femenino, esta diferencia no fue significativa; sólo en el día 8 existió interacción entre el sexo y el grupo sobre los valores obtenidos.

Los animales tratados con la fitohemaglutinina no presentaron infección, mientras que el 20% de los tratados con el placebo y el 10% de los tratados con el merbromín sí la presentaron. Si tenemos en cuenta además que el índice de infección de la cirugía limpia es de 1,5 % y que en nuestro caso por ser una herida

GRUPO	Disminución del diámetro de la herida en mm											
	día 4			día 8			día 12			día 16		
	T	F	M	T	F	M	T	F	M	T	F	M
A	0,42	0,67	0,25	1,06	1,56	0,50	4,26	4,44	4,06	12,47	12,44	12,50
B	0,65	0,90	0,40	3,00	4,10	1,90	6,25	7,55	4,95	15,95	17,70	14,20
C	0,90	1,00	0,80	2,60	2,70	2,50	8,23	8,35	8,10	18,40	18,60	18,20
	p > 0,05			p < 0,05			p > 0,05			p > 0,05		
	p1 > 0,05						p1 < 0,05			p1 < 0,05		
	p2 > 0,05						p2 < 0,001			p2 < 0,001		
	p3 > 0,05						p3 < 0,05			p3 < 0,05		
	p: nivel de significación de la interacción entre el sexo y el tratamiento. p1: nivel de significación de los tratamientos de los grupos A y B. p2: nivel de significación de los tratamientos de los grupos A y C. p3: nivel de significación de los tratamientos de los grupos B y C.											

Tabla 2. Contracción de la herida. T: total, M: masculino, F: femenino.

abierta hay una mayor posibilidad de contaminación por varios gérmenes ⁶, estos resultados reafirman las propiedades inmunoestimuladoras de esta sustancia. A esta proteína se le señalan además propiedades estimuladoras de los fibroblastos, por lo que indirectamente juega un papel importante en la producción de la colágena, aspecto éste de gran importancia, pues se conoce que entre los procesos biológicos más importantes de la reparación tisular está la contracción de la herida, la epitelización, la inflamación y el metabolismo de la colágena ⁷

Del análisis de los resultados podemos plantear que la fitohemaglutinina demostró poseer propiedades cicatrizantes, al acelerar el proceso de cicatrización en el modelo experimental utilizado. Su acción sobre la contracción de la herida fue más positiva que la del resto de los controles y evitó la presencia de infecciones, provocando de esta forma una cicatrización más funcional. Por otra parte, si se tiene en cuenta que la obtención de esta proteína de origen vegetal es de muy bajo costo y que presenta baja toxicidad, su utilización en el tratamiento de las heridas podría mejorar sustancialmente la calidad de las mismas así como disminuir el tiempo necesario para el total restablecimiento de los pacientes.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Sengupta, S. & L.K. Sengupta (1991) *Indian Experimental Biology* **29**: 116-9
2. Wimer, B.M. (1990) *Molecular Biotherapy* **2**: 196-200
3. Wimer, B.M. (1990) *Molecular Biotherapy* **2**: 4-7
4. Wimer, B.M. (1990) *Molecular Biotherapy* **2**: 74-90
5. Rigas D.A. & E.E. Osgood (1955) *J. Biol. Chem.* **212**: 607-13
6. Aomas Adbel-Lah, B, F. Lozano Sánchez, J. García García & A. Gómez Alonso (1987) *Cirugía Española* **42**: 224-32
7. Carrico, T.J, A.I. Mehrhof & K.I. Cohen (1984) *Clinicas Quirúrgicas de Norteamérica* **4**: 721-35