



FIGURA 1. Corteza del tronco de *Bursera simaruba*. Foto: Pancrat (licencia CC).

## Actividad inmunosupresora de la corteza de *Bursera simaruba* (L.) Sarg (*Burseraceae*)

Luis Coley <sup>a</sup>

Waldy Ahumada <sup>a</sup>

Carlos Parga <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Universidad Libre seccional Barranquilla. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Barranquilla. Colombia.

<sup>b</sup> Universidad Libre seccional Barranquilla. Facultad de Ciencias Básicas y Ciencias de la Salud. Barranquilla. Colombia.

### Dirección de contacto:

Luis Coley  
Universidad Libre seccional Barranquilla.  
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales  
080001 Barranquilla (Colombia)  
lcoley@gmail.com

### Resumen

**Antecedentes:** Un gran número de plantas medicinales han mostrado actividad inmunosupresora. *Bursera simaruba*, es un árbol comúnmente difundido en Colombia. En el país se ha utilizado tradicionalmente para el tratamiento de infecciones internas y externas.

**Objetivo:** Investigar el efecto inmunomodulador de una infusión de la corteza de *Bursera simaruba* sobre los linfocitos T CD4<sup>+</sup> y T CD8<sup>+</sup> en humanos.

**Métodos:** Se reclutaron 10 participantes, se les explicó el procedimiento a seguir firmando el consentimiento informado. Se suministró una toma diaria de una infusión preparada con 5 g de la corteza de *Bursera simaruba* en 200 mL de agua. La actividad inmunomoduladora se estudió mediante el recuento de linfocitos T usando citometría de flujo. Los datos se analizaron estadísticamente con la prueba t-Student para muestras relacionadas.

**Resultados:** Un 90% de los participantes mostraron una disminución en los linfocitos T CD4<sup>+</sup> ( $p = 0,024$ ) y un 70% de los participantes mostraron una disminución en los linfocitos T CD8<sup>+</sup> ( $p = 0,019$ ), indicando una acción directa de la infusión sobre la población de linfocitos.

**Conclusión:** El extracto de la corteza de *Bursera simaruba* tiene efectos inmunosupresores y podría ser una opción terapéutica potencial en el trasplante de órganos, o en terapia antitumoral.

### Palabras clave

*Bursera simaruba*, inmunosupresión, plantas medicinales, linfocitos T CD4-positivos, linfocitos T CD8-positivos.

## Immunosuppressive activity of the bark of *Bursera simaruba* (L.) Sarg (*Burseraceae*)

### Abstract

Background: A big number of medicinal plants have shown immunosuppressive activity. *Bursera simaruba*, is a tree commonly spread in Colombia. In the country it has been traditionally used for the treatment of internal and external infections.

Objective: To investigate the immunomodulatory effect of an infusion of *Bursera simaruba* bark on human CD4<sup>+</sup> T and CD8<sup>+</sup> T lymphocytes.

Methods: Ten participants were recruited, the procedure to continue signing informed consent was explained. A daily intake of an infusion prepared with 5 g of the bark of *Bursera simaruba* in 200 mL of water was supplied. Immunomodulated activity was studied by T lymphocyte count using flow cytometry. Data were statistically analyzed with the t-Student test for related samples.

Results: 90% of the participants showed a decrease in CD4<sup>+</sup> T lymphocytes ( $p = 0.024$ ) and 70% of the participants showed a decrease in CD8<sup>+</sup> T lymphocytes ( $p = 0.019$ ), indicating a direct action of the infusion on the population of lymphocytes.

Conclusion: The bark extract of *Bursera simaruba* has immunosuppressive effects and could be a potential therapeutic option in organ transplantation, or antitumor therapy.

### Keywords

*Bursera simaruba*; Immunosuppression; Medicinal Plants; CD4-Positive T-Lymphocytes; CD8-Positive T-Lymphocytes.

### Introducción

En los últimos años ha aumentado el uso de plantas medicinales como una alternativa a la medicina convencional para el tratamiento de diversas enfermedades. Esto se debe principalmente a su seguridad, y en algunos casos, a su mayor efectividad <sup>(1)</sup>. Aunque Colombia posee una rica tradición en el uso de plantas medicinales y una excepcional diversidad floral estimada en 51.220 especies de plantas vasculares <sup>(2)</sup>, existe poca investigación sobre las propiedades fitoquímicas de uso terapéutico.

*Bursera simaruba*, también conocida como corteza roja de gumbolimbo o indio desnudo, es una especie arbórea originaria de América tropical. Es nativa de las áreas comprendidas desde la Florida central hasta las Bahamas y las An-

## Atividade imunossupressora da casca de *Bursera simaruba* (L.) Sarg (*Burseraceae*)

### Resumo

Antecedentes: Um grande número de plantas medicinais tem demonstrado atividade imunossupressora. *Bursera simaruba*, é uma árvore comumente disseminada na Colômbia. Neste país, tem sido tradicionalmente utilizada para o tratamento de infecções internas e externas.

Objetivo: Investigar o efeito imunomodulador de uma infusão de casca de *Bursera simaruba* em linfócitos CD4<sup>+</sup> T e CD8<sup>+</sup> T humanos.

Métodos: Foram recrutados dez participantes, tendo-lhes sido explicado o procedimento a seguir, e sido assinada a declaração de consentimento informado. Foi fornecida para ingestão diária uma infusão preparada com 5 g da casca de *Bursera simaruba* em 200 mL de água. A atividade imunomoduladora foi estudada por contagem de linfócitos T usando citometria de fluxo. Os dados foram analisados estatisticamente com o teste t-Student para amostras relacionadas.

Resultados: 90% dos participantes apresentaram uma diminuição nos linfócitos T CD4<sup>+</sup> ( $p = 0,024$ ) e 70% dos participantes mostraram uma diminuição nos linfócitos T CD8<sup>+</sup> ( $p = 0,019$ ), indicando uma ação direta da infusão na população de linfócitos.

Conclusão: O extrato da casca de *Bursera simaruba* tem efeitos imunossupressores e pode ser uma potencial opção terapêutica em casos de transplante de órgãos ou terapia antitumoral.

### Palavras chave

*Bursera simaruba*; Imunossupressão; Plantas medicinais; Linfócitos T CD4 positivos; Linfócitos T CD8 positivos.

tillas y desde el sur de México hasta Colombia, Venezuela y la Guayana <sup>(3)</sup>. En estos países se utiliza tradicionalmente la savia para tratar picaduras de insectos, quemaduras solares, erupciones cutáneas, llagas en la piel, infecciones internas, fiebre, resfriados y gripe. La infusión de la corteza es un remedio tradicional para las infecciones del tracto urinario <sup>(4)</sup>. Otra aplicación prometedora para la corteza de gumbolimbo se encontró en el tratamiento de la psoriasis y el eccema <sup>(5)</sup>.

Muchas especies pertenecientes al género *Bursera* contienen aceites esenciales, triterpenos, esteroides, bilignanos, lignanos de tipo podofilotoxina y flavonoides encontrados en particular en sus resinas <sup>(6, 7)</sup>. Estudios sobre la composición química del extracto de resina de *B. simaruba* están

presentes en la literatura <sup>(8,9)</sup>. Sólo un estudio fitoquímico sobre los metabolitos producidos por *B. simaruba* reporta el aislamiento del lignano yateína en el extracto de la corteza <sup>(10)</sup>. Algunos lignanos son utilizados en la quimioterapia del cáncer y representan los constituyentes bioactivos en un gran número de plantas medicinales. Muchos lignanos se consideran interesantes para el desarrollo de nuevos fármacos antitumorales <sup>(6)</sup>.

En Colombia no existen investigaciones sobre los efectos inmunosupresores de la corteza de *Bursera simaruba*, sin embargo, en el año 2002 se realizó un estudio en la Universidad de Cartagena sobre el efecto inmunomodulador de *Tabebuia billbergii*, y se demostró por experimentos de linfoproliferación que los extractos de esta planta poseían la capacidad de modular la respuesta inmunitaria inhibiendo la proliferación celular de células mononucleares en sangre periférica, lo que presentó a estos extractos como potentes inmunomoduladores para su uso en terapia antitumoral y de trasplantes <sup>(11)</sup>.

La inmunosupresión utilizando productos fitoterápicos puede proporcionar una alternativa a la terapia convencional. Actualmente, la mayoría de los centros de trasplante utilizan un régimen de triple fármaco que incluye el inhibidor de calcineurina de segunda generación (CNI) tacrolimus, el agente antiproliferativo ácido micofenólico y un corticoide. Estos agentes se seleccionan cuidadosamente basándose en el tipo de órgano, y las dosis se titulan individualmente para evitar el rechazo y los efectos adversos. En general, las dosis más altas de los agentes inmunosupresores de mantenimiento se utilizan en la fase posterior al trasplante. Las dosis se reducen gradualmente durante el primer año para minimizar la toxicidad <sup>(12)</sup>, por lo tanto, hay una creciente necesidad de encontrar nuevos fármacos con menos efectos secundarios <sup>(13)</sup>.

El objetivo de esta investigación fue analizar la respuesta celular en individuos administrándoles una infusión preparada con la corteza de *Bursera simaruba*, como opción terapéutica en pacientes trasplantados.

## Métodos

La corteza de *Bursera simaruba* fue recolectada en el municipio de Santa Rosa y Villanueva, norte del departamento de Bolívar, Herbario COL295450, N° catálogo 295450, colección 1940.

Se seleccionaron 10 participantes sanos, que no padecieran enfermedades crónicas ni metabólicas, que tuvieran la

nacionalidad colombiana y que fueran mayores de 18 años. Estos participantes firmaron un consentimiento informado. Este procedimiento fue realizado en apego a las normas éticas, Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud y la Declaración de Helsinki.

A cada participante se le suministró una toma diaria de infusión de 5 g la corteza de *Bursera simaruba*, preparada con 200 mL de agua, calentándolo hasta ebullición.

Se tomó una muestra de sangre de cada participante antes del tratamiento (tiempo cero) y en cada mes, durante 4 meses tras el inicio del tratamiento, para el recuento de linfocitos T CD4<sup>+</sup> y linfocitos T CD8<sup>+</sup>.

El recuento de linfocitos T se realizó mediante citometría de flujo, para identificar y determinar los porcentajes y recuentos absolutos de linfocitos T CD4<sup>+</sup> y linfocitos T CD8<sup>+</sup> en sangre periférica. La tabulación y el análisis de los resultados se hicieron con el software Matlab® R2014b (8.4.0.150421).

Para el análisis estadístico, se usó el programa SPSS versión 23 para Windows. Previamente se realizó el análisis de los linfocitos T CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup> para comprobar si presentaban una distribución normal (Shapiro-Wilk). Ambas variables mostraron este comportamiento, por tanto, se usó la prueba t-Student para muestras relacionadas. Se consideró estadísticamente significativo una  $p < 0,05$ .

## Resultados

Estudiado el efecto de una toma diaria de una infusión de corteza de *Bursera simaruba* sobre los linfocitos T CD4<sup>+</sup> en 10 participantes, los resultados de la citometría de flujo mostraron claramente dos patrones diferentes:

Un aumento en el número de linfocitos T CD4<sup>+</sup> entre el primer muestreo (tiempo cero) y el tercer muestreo (2 meses después). En el 80% de los participantes se observó este comportamiento.

A partir del tercer mes (4° muestreo), los niveles de linfocitos T CD4<sup>+</sup> disminuyeron por debajo de sus niveles iniciales ( $p = 0,024$ ), lo cual indica una diferencia significativa en las medias en el conteo de linfocitos T CD4<sup>+</sup> antes y después de la toma de la infusión de *Bursera simaruba*, lo que demuestra su posible efecto inmunomodulador. De hecho, se presentó una media en la disminución de los linfocitos T CD4<sup>+</sup> de 752 células/mm<sup>3</sup> a 580 células/mm<sup>3</sup> (TABLA 1). Este segundo patrón se presentó en el 90% de los participantes estudiados (FIGURA 2).

TABLA 1. Estadística de muestras relacionadas para los linfocitos T CD4<sup>+</sup>.

	Media (células/mm <sup>3</sup> )	Diferencias emparejadas (Media) (células/mm <sup>3</sup> )	Significancia*
1er muestreo (tiempo cero)	751,875	171,125	0,024
5º muestreo (4 meses después)	580,75		

\*  $p < 0,05$ , prueba t-Student muestras relacionadas.

TABLA 2. Estadística de muestras relacionadas para los linfocitos T CD8<sup>+</sup>.

	Media (células/mm <sup>3</sup> )	Diferencias emparejadas (Media) (células/mm <sup>3</sup> )	Significancia*
1er muestreo (tiempo cero)	700,8	167	0,019
5º muestreo (4 meses después)	533,8		

\*  $p < 0,05$ , prueba t-Student muestras relacionadas.

Respecto al efecto de la infusión de *Bursera simaruba* sobre los linfocitos T CD8<sup>+</sup>, ésta presentó diferentes patrones. Entre los más significativos podemos citar un aumento en los niveles de linfocitos T CD8<sup>+</sup> entre el primer muestreo (tiempo cero) y el tercer muestreo (2 meses después) en el 40% de los participantes.

Un aumento gradual de células entre el primer muestreo (tiempo cero) y el cuarto muestreo (3 meses después) se

observó en el 20% de los participantes. Todas estas observaciones se pueden apreciar en la FIGURA 3. Al igual que sucedió con los niveles de linfocitos T CD4<sup>+</sup>, el 70% de los participantes mostraron una disminución en el número de linfocitos T CD8<sup>+</sup> entre el primer muestreo (tiempo cero) y quinto muestreo (4 meses después), con un valor  $p$  de 0,019 y una media en la disminución de linfocitos T CD8<sup>+</sup> de 701 células/mm<sup>3</sup> a 534 células/mm<sup>3</sup> (TABLA 2).

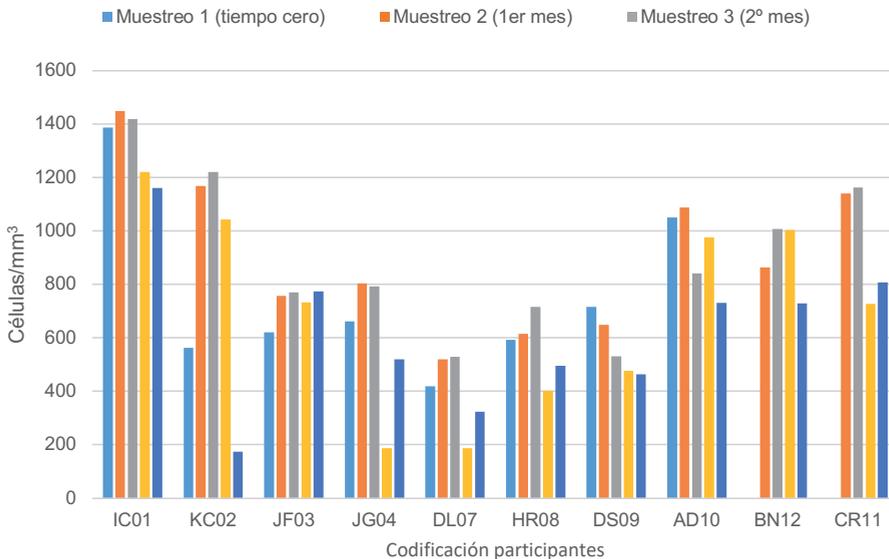


FIGURA 2. Efecto de una infusión de corteza de *Bursera simaruba* sobre los niveles de linfocitos CD4<sup>+</sup> en sangre periférica. El eje X representa los individuos codificados, mientras que el eje Y representa el conteo de células (linfocitos T CD4<sup>+</sup>) por mm<sup>3</sup>. Las barras de colores indican el número de linfocitos T CD4<sup>+</sup> mes a mes. Hay que resaltar que dos individuos (BN12 y CR11) no se presentaron en el primer chequeo, por lo tanto se tomó un valor de 0.

Durante la activación de los linfocitos T hay un cambio en la concentración de iones de  $Ca^{2+}$ , tanto en el retículo endoplasmático como en el citoplasma, modificando la actividad de la calmodulina. La calmodulina interactúa con varias proteínas, incluyendo la calcineurina y el sistema de enzimas de intercambio de bases <sup>(14)</sup>.

Los resultados sugieren que la inhibición de la activación de calcineurina por uno o varios metabolitos presentes en la infusión de corteza de *Bursera simaruba* bloquea la producción mediada por el receptor de linfocitos T de IL-2, el cual es un factor crítico de crecimiento para la proliferación y diferenciación de las células T.

**Discusión**

La inmunología es una de las ciencias que más ha evolucionado durante los últimos 50 años. Es innumerable la cantidad de estudios que se realizan a diario alrededor de ella y sus subáreas. A su vez, dentro del estudio del mismo sistema, la profundización conceptual en el conocimiento de los linfocitos T es importante para dilucidar la respuesta <sup>(15)</sup>.

Para investigar el mecanismo de la infusión de la corteza de *Bursera simaruba* como agente inmunomodulador, se

analizó el efecto de este extracto en poblaciones de linfocitos T CD4<sup>+</sup> y T CD8<sup>+</sup> humanos mediante la citometría de flujo. Se analizaron los linfocitos debido a su papel en la regulación del sistema inmune innato y adquirido de todos los mamíferos. Nuestros resultados mostraron que la inhibición en la proliferación de los linfocitos T CD4<sup>+</sup> y T CD8<sup>+</sup> ocurrió con una sensibilidad variable. Los linfocitos T se diferencian en dos subpoblaciones que son funcional y fenotípicamente diferentes. Algunos estudios han demostrado que tanto los linfocitos T CD4<sup>+</sup> como los linfocitos T CD8<sup>+</sup> pueden modular la respuesta inmune mediante la regulación de las citoquinas <sup>(16)</sup>.

Las citoquinas son los mensajeros responsables de mediar la migración, activación y proliferación de los fenotipos celulares del sistema inmune. Los linfocitos Th son un tipo de células que ayudan a aumentar la actividad de otras células del sistema inmune liberando citoquinas de linfocitos T. Estos linfocitos se diferencian aún más en dos subtipos de células funcionalmente distintos conocidos como linfocitos Th1 y Th2 <sup>(16-18)</sup>. El equilibrio entre la liberación de citoquinas Th1 y Th2 desempeña un papel importante en la determinación de la dirección y el resultado de la respuesta

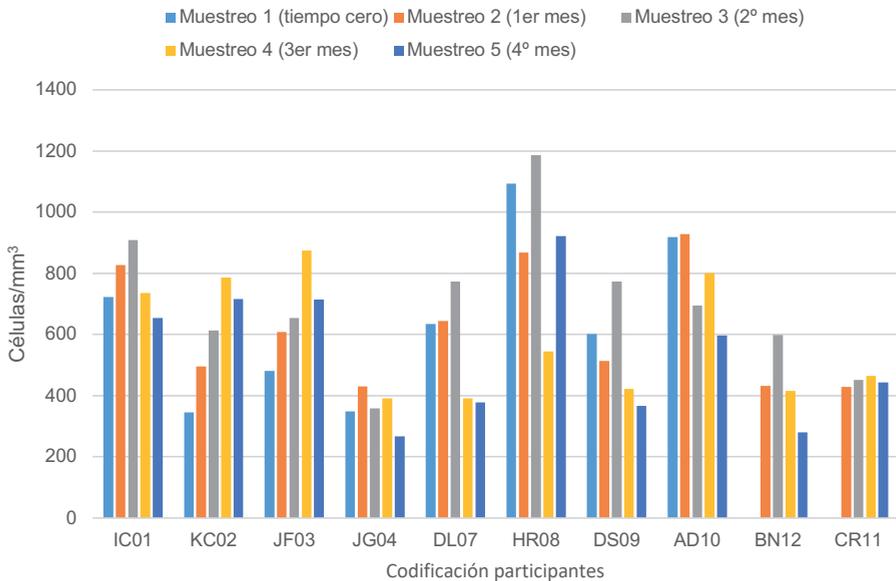


FIGURA 3. Efecto de una infusión de corteza de *Bursera simaruba* sobre los niveles de linfocitos CD8<sup>+</sup> en sangre periférica. El eje X representa los individuos codificados, mientras que el eje Y representa el conteo de células (linfocitos T CD8<sup>+</sup>) por mm<sup>3</sup>. Las barras de colores indican el número de linfocitos T CD8<sup>+</sup> mes a mes. Hay que resaltar que dos individuos (BN12 y CR11) no se presentaron en el primer chequeo, por lo tanto se tomó un valor de 0.

inmune. Una liberación anormal de la citoquina Th1 puede conducir a enfermedades inflamatorias crónicas, mientras que una liberación exagerada de citoquinas Th2 se asocia a reacciones alérgicas <sup>(19)</sup>. La inhibición de las citoquinas producidas por los linfocitos Th1 y Th2 puede ser uno de los mecanismos en la regulación a la baja de la proliferación de los linfocitos T informada en este estudio, ya que la IL-2 no sólo es un factor de crecimiento importante para las células T, sino que también ayuda en las vías de activación, diferenciación y proliferación de estas células, por lo tanto, desempeña un papel importante en la respuesta inmune mediada por células <sup>(20)</sup>.

Otro estudio respalda este mecanismo inmunosupresor. Bhagwat *et al* investigaron el potencial inmunomodulador de extractos etanólico y clorofórmico de *Pluchea lanceolata*. Sólo la fracción clorofórmica exhibió actividad inmunosupresora a una dosis máxima de 100 mg/kg que representó el 16,37% de linfocitos T CD8<sup>+</sup> y el 28,45% de linfocitos T CD4<sup>+</sup>. Los valores de control fueron 26,27% para los linfocitos T CD8<sup>+</sup> y 46,5% para los linfocitos T CD4<sup>+</sup>, mostrando una inmunosupresión significativa de la población de linfocitos T CD8<sup>+</sup> y T CD4<sup>+</sup>. En este estudio se evidenció que dicho efecto inmunosupresor posiblemente se debió a la regulación negativa de marcadores de superficie de los linfocitos T (CD8<sup>+</sup>/CD4<sup>+</sup>) y citoquinas Th1 (IL-2 e IFN- $\gamma$ ) intracelulares <sup>(21)</sup>.

Otras investigaciones han demostrado la importancia que tienen los macrófagos en la proliferación de linfocitos inducido por mitógenos. Dicha inducción en la proliferación de los linfocitos T implica tanto las interacciones de los macrófagos como los linfocitos y a la comunicación molecular que sólo se puede lograr con macrófagos viables <sup>(22-24)</sup>. Normalmente, los linfocitos T que expresan CD4<sup>+</sup> aumentan cuando se estimulan los sistemas fisiológicos del cuerpo, debido a la activación del sistema inmune no específico, y la inhibición de este fenómeno muestra la inmunosupresión. Cuando el mecanismo de defensa del cuerpo está amenazado por microorganismos o cualquier invasor, los macrófagos se activan en el sitio de la invasión para combatir el establecimiento de diversas infecciones <sup>(21)</sup>. La inhibición de las células T CD4<sup>+</sup> por la corteza de *Bursera simaruba* puede ser uno de los factores responsables de la disminución en el funcionamiento de los macrófagos.

Es importante destacar que investigaciones realizadas con el extracto diclorometano-etanólico de la raíz de *Eriosema campestre* var. *macrophyllum* induce a la disminución en los niveles de la interleucina 2 (IL-2) en el sobrenadante de

los cultivos celulares, así como un efecto antiproliferativo sobre los linfocitos T, incluyendo las células CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup>, y con efectos antiinflamatorios <sup>(25)</sup>. La inhibición de IL-2 es responsable en la reducción de IFN- $\gamma$  por parte de los linfocitos T CD8<sup>+</sup>. Además de su importante papel en la activación de las células T, es bien conocido que el IFN- $\gamma$  es fundamental en la activación de los macrófagos <sup>(26)</sup>. En términos generales, el IFN- $\gamma$  es liberado por los linfocitos T y por los macrófagos durante el proceso de fagocitosis <sup>(17, 27)</sup>. Sin embargo, la inhibición significativa de IL-2 e IFN- $\gamma$  sugiere la naturaleza inmunosupresora del extracto de la corteza de *Bursera simaruba*.

A pesar de que los resultados mostrados en esta investigación son muy preliminares, demuestran la actividad inmunosupresora del extracto de corteza de *Bursera simaruba* sobre los linfocitos T CD4<sup>+</sup> en el 90% de los participantes y T CD8<sup>+</sup> en el 70% de los participantes.

## Conclusiones

Sobre la base de los resultados obtenidos en este estudio, se puede concluir que la infusión de la corteza de *Bursera simaruba* fue capaz de suprimir la respuesta inmunitaria de los linfocitos T CD4<sup>+</sup> y linfocitos T CD8<sup>+</sup> en individuos, debiéndose este efecto inmunomodulador posiblemente a que la infusión afectó los eventos iniciales y tardíos en la activación de los linfocitos, incluida la liberación de citoquinas Th1 y Th2, especialmente la IL-2 y el IFN- $\gamma$ , ya que esta última citoquina es fundamental en la activación de las células T. Por lo tanto, como un agente inmunosupresor eficaz, la infusión de corteza de *Bursera simaruba* puede ser beneficiosa para el tratamiento de trastornos relacionados con el sistema inmune y en los trasplantes de órganos, además, puede ser un agente inmunoterapéutico potencial que sirva como sustituto de los actuales agentes terapéuticos, que tienen efectos tóxicos en el organismo.

## Referencias bibliográficas

1. Amirghofran Z. Medicinal plants as immunosuppressive agents in traditional Iranian medicine. *Iran J Immunol*. 2010; 7 (2): 65-73.
2. Cracraft J, Grifo FT. *The living planet in crisis: Biodiversity science and policy*. New York: Columbia University Press, 1999.
3. *Bursera simaruba*. *Garden & Forest* 3;1890;3 (218):73-6.
4. Correa QJ, Bernal, HY. *Especies vegetales promisorias de los países del Convenio Andrés Bello*. Bogotá: Secretaría Ejecutiva del Convenio Andrés Bello, 1990.
5. Maldini M, Montoro, P, Piacente, S, Pizza, C. Phenolic compounds from *Bursera simaruba* Sarg. bark: Phytochemical inves-

- tigation and quantitative analysis by tandem mass spectrometry. *Phytochemistry* 2009; 70 (5): 641-9.
6. Culioli G Mathe, C, Archier, P, Vieillescazes, C. A lupane triterpene from frankincense (*Boswellia* sp., Burseraceae). *Phytochemistry* 2003 ;62 (4): 537-41.
7. Syamasundar KV, Mallavarapu GR. Two triterpenoid lactones from the resin of *Bursera delpechiana*. *Phytochemistry* 1995; 40 (1): 337-9.
8. Peraza-Sánchez SR, Peña-Rodríguez LM. Isolation of picropolygamain from the resin of *Bursera simaruba*. *Journal of Natural Products* 1992; 55 (12): 1768-71.
9. Peraza-Sánchez SR, Salazar-Aguilar NE, Peña-Rodríguez LM. A new triterpene from the resin of *Bursera simaruba*. *Journal of Natural Products* 1995; 58 (2): 271-4.
10. Ciccio JF, Rosales KM. Isolation of the lignan yatein from bark of *Bursera simaruba* (Burseraceae). *Ing Cien Quim* 1995; 15: 20-21.
11. Parga C, Gaitán R, Marrugo J. Furanonaftoquinonas aisladas de *Tabebuia billbergii* y evaluación de su actividad inmunomoduladora sobre células mononucleares de sangre periférica. *Acta Médica Colombiana* 2002; 27 (5): 311.
12. Holt CD. Overview of Immunosuppressive therapy in solid organ transplantation. *Anesthesiology Clinics* 2017; 35 (3): 365-80.
13. Amirghofran Z. Herbal medicines for immunosuppression. *Iranian Journal of Allergy, Asthma and Immunology* 2012; 11 (2): 111-9.
14. Noori S, Naderi GA, Hassan ZM, Habibi Z, Bathaie SZ, Hashemi SMM. Immunosuppressive activity of a molecule isolated from *Artemisia annua* on DTH responses compared with cyclosporin A. *International Immunopharmacology* 2004; 4 (10-11): 1301-6.
15. Parga C. El sistema inmunitario en perspectiva linfocitaria T: estudio proliferativo del alérgeno recombinante BtM del ácaro del polvo casero *Blomia tropicalis*. Editorial Académica Española, 2011.
16. Luckheeram RV, Zhou R, Verma AD, Xia B. CD4(+)T cells: differentiation and functions. *Clinical & developmental immunology*. 2012; 2012: 925135.
17. Mosmann TR, Sad S. The expanding universe of T-cell subsets: Th1, Th2 and more. *Immunology today*. 1996; 17 (3): 138–146.
18. Farrar JD, Asnagli H, Murphy KM. T helper subset development: roles of instruction, selection, and transcription. *The Journal of clinical investigation* 2002; 109 (4): 431–435.
19. Ilankovan M, Mesaik MA, Abbas Bhukari SN, Jantan I. Immunosuppressive effects of the standardized extract of *Phyllanthus amarus* on cellular immune responses in Wistar-Kyoto rats. *DDDT*. agosto de 2015;4917.
20. Carol A, Timothy M. Cytokines in acute and chronic inflammation. *Front Biosci* 1997; 2 (1): 12–26.
21. Bhagwat DP, Kharya MD, Bani S, Kaul A, Kour K, Chauhan P, et al. Immunosuppressive properties of *pluchea lanceolata* leaves. *Indian Journal of Pharmacology* 2010; 42 (1): 21-26.
22. Vries JE, Caviles JA, Bont W, Mendelsohn J. The role of monocytes in human lymphocyte activation by mitogens. *J Immunol*. 1979; 122 (3): 1099-107.
23. Hadden J. Transmembrane signals in the activation of T-lymphocytes by lectin mitogens. *Mol Immunol* 1988; 25: 1105-1112.
24. Thiele D, Kurosaka M, Lipsky P. Phenotype of the accessory cell necessary for mitogen stimulated T and B cell responses in human peripheral blood: delineation by its sensitivity to the lysosomotropic agent, L-leucine methyl ester. *J Immunol* 1983; 5 (22): 82–90.
25. Santos MG, Almeida VG, Avelar-Freitas A, Grael FF, Gregório LE, Pereira WF, et al. Phytochemical screening of the dichloromethane–ethanolic extract of *Eriosema campestre* var. *macrophyllum* roots and its antiproliferative effect on human peripheral blood lymphocytes. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 2016; 26 (4): 464-470.
26. Wang J, Wakeham J, Harkness R, Xing Z. Macrophages are a significant source of type 1 cytokines during mycobacterial infection. *J Clin Invest* 1999; 103: 1023-1029.
27. Xing Z, Jordana M, Gaudie J, Wang J. Cytokines and pulmonary inflammatory and immune diseases. *Histol Histopathol* 1999; 14: 185–201.