

RESEÑA

CONTRIBUCION AL ESTUDIO DEL MECANISMO DE ACCION ANTI-INFLAMATORIA DEL EXTRACTO NATURAL DE *Mangifera indica* L. (VIMANG®)

Lic. Gabino Garrido Garrido

Jefe de Laboratorio de Farmacología, Departamento de Investigaciones Biomédicas,
Centro de Química Farmacéutica, Calle 200 y Avenida 21, Atabey, Playa, Apartado Postal 16042,
Ciudad de La Habana, Cuba. Correo electrónico: gabino.garrido@infomed.sld.cu

10 de enero de 2006.

TRABAJO PRESENTADO EN OPCION AL GRADO CIENTIFICO DE DOCTOR EN CIENCIAS FARMACEUTICAS.

Esta tesis está vinculada con la inflamación y la farmacología de los productos naturales.

Los conocimientos etnomédicos originados en Cuba con la especie *Mangifera indica* L. sirvieron de base para que el Centro de Química Farmacéutica obtuviera un extracto acuoso normalizado de la corteza de esta especie, que se comercializa bajo la Marca Registrada VIMANG®. En investigaciones realizadas se pudo demostrar que dicho extracto posee una potente acción antioxidante, así como efecto inmunomodulador y que dentro de los polifenoles presentes en la mezcla, la mangiferina se encuentra en mayor proporción. Sobre la base de estos antecedentes, se consideró necesario estudiar el efecto anti-inflamatorio de dicho extracto, así como profundizar en los mecanismos involucrados en dicha acción y el papel que desempeña su componente mayoritario.

La tesis está constituida por 98 páginas y su estructura comprende una introducción, cinco capítulos, referencias bibliográficas y otras informaciones.

En la Introducción se aborda en seis páginas de forma sintética, tanto el estado del arte del proceso inflamatorio como de la investigación y desarrollo de compuestos anti-inflamatorios. También se plantean la hipótesis, dos objetivos generales y tres objetivos específicos de manera clara y precisa, dirigidos al estudio del extracto de *Mangifera indica* L. como agente anti-inflamatorio y la dilucidación de su mecanismo de acción.

El capítulo 1 presenta la Revisión Bibliográfica, en la que en 31 páginas, se hace un resumen del complejo y multifactorial proceso inflamatorio. Se aborda la inflamación aguda, así como los principales mediadores moleculares de ésta [derivados del complemento, enzimas lisosomales, péptidos quimioatrayentes n-formilados, moléculas de adhesión celular, histamina, cininas, serotonina, citocinas (factor de necrosis tumoral alfa), quimiocinas, fosfolipasas A₂, eicosanoides (prostaglandinas y leucotrienos), factor activador plaquetario, radicales libres y estrés oxidativo (óxido nítrico y el papel del selenio en el estrés oxidativo y la inflamación) y el factor de transcripción nuclear NF-κB]. También se relacionan los mecanismos por los cuales ocurren los procesos inflamatorios y se acentúa el papel que desempeña la migración de células fagocíticas y su actividad microbicida y citotóxica. Además, se plantean aspectos importantes de algunos mediadores celulares de la reacción inflamatoria (linfocitos T, neutrófilos o fagocitos polimorfonucleares, macrófagos, eosinófilos, plaquetas y células endoteliales), así como la resolución de la respuesta inflamatoria aguda. Por otra parte, se sintetizan aspectos importantes de la inflamación crónica; así como la modulación farmacológica de los procesos inflamatorios. Finalmente, se realiza una revisión bibliográfica de la especie vegetal *Mangifera indica* L. y sus usos tradicionales para terminar con los antecedentes bibliográficos relacionados con el perfil antioxidante, inmunomodulador y toxicológico del extracto acuoso de la corteza de esta especie objeto de estudio.

El capítulo 2 aporta los Materiales y Métodos en cuyas 17 páginas se aborda la metodología con que se realizó el estudio. Se realiza una descripción del material de ensayo y la forma en que se obtuvo este. Se describe la evaluación de las propiedades anti-inflamatorias del extracto de *M. indica* L., los animales y tratamientos empleados, los modelos de inflamación en animales de experimentación (el modelo de edema plantar en ratas inducidos por agentes irritantes (carragenano y LPS) y la determinación en ambos de la citocina pro-inflamatoria factor de necrosis tumoral alfa (FNTα), el modelo de choque endotóxico en ratones inducido por lipopolisacárido (LPS) y el análisis por *Northern blot* para FNTα en hígado y pulmones de los animales tratados con LPS en este último modelo. También se describe la metodología utilizada para el estudio *in vitro* de diferentes mediadores pro-inflamatorios en líneas celulares y la medición en ellas de la producción de prostaglandina E₂ (PGE₂) y leucotrieno B₄ (LTB₄) en macrófagos activados, el ensayo para la determinación de la actividad de la fosfolipasa A₂ (FLA₂) de secreción, la cuantificación de la producción del FNTα y óxido nítrico (NO) en macrófagos y microglia activados, la determinación de la proliferación de linfocitos T en células mononucleares periferales humanas, el análisis citofluorométrico del antígeno de superficie celular y el ciclo celular de este tipo de células, la determinación de la transcripción nuclear dependiente del factor de

transcripción nuclear NF- κ B, el ensayo de luciferasa y *Western blots*, el aislamiento de extractos nucleares y el ensayo de movilidad electroforética. Además, se realiza un análisis estadístico adecuado.

El capítulo 3 presenta en 10 páginas los Resultados del estudio, en los que se demostró que el extracto de *M. indica* L., administrado por vía oral durante tres meses, presenta un efecto anti-inflamatorio *in vivo* en los modelos de inflamación plantar inducidos por carragenano y LPS en ratas. En ambos casos, el extracto inhibió la producción de FNT α en el exudado plantar. En el modelo de choque endotóxico inducido por LPS en ratones, el extracto y la mangiferina inhibieron la producción del FNT α . Esta inhibición se produjo a nivel de ARNm, tanto en los pulmones como en el hígado de estos animales. En experimentos *in vitro* en macrófagos activados, la producción de PGE $_2$ y LTB $_4$ fue inhibida por el extracto. Este efecto se observó tanto para el extracto como para la mangiferina, sobre la actividad enzimática de la FLA $_2$ de secreción sinovial humana. Ambos productos inhibieron la producción del FNT α y del radical libre $\cdot$ ON en macrófagos y microglia activados. Por otra parte, el extracto fue capaz de inhibir la proliferación de linfocitos T humanos y la activación por FNT α del factor de transcripción nuclear NF- κ B en células 5.1, HeLa-Tet-Luc y Jurkat. Los resultados del estudio contribuyen también a explicar la acción anti-inflamatoria demostrada por primera vez para el extracto acuoso de la corteza de *Mangifera indica* L. (VIMANG®). Parte de estos efectos son el resultado de la presencia en el extracto de polifenoles y en particular, de la mangiferina.

El capítulo 4 aborda la Discusión en la que en 32 páginas se discuten los resultados basándose en referencias bibliográficas actualizadas. A su vez, se divide en tres subcapítulos: 4.1. El extracto de *M. indica* inhibe elementos importantes dentro de la cascada del ácido araquidónico como FLA $_2$, PGE $_2$ y LTB $_4$; 4.2. El extracto de *M. indica* L. inhibe mediadores proinflamatorios clave tales como FNT α y NO; y 4.3. El extracto de *M. indica* L. inhibe la proliferación de linfocitos T y la activación, inducida por FNT α , del NF- κ B.

El capítulo 5 aporta las Conclusiones y Recomendaciones a las que arriba el estudio. Dentro de las conclusiones se destaca que el extracto acuoso de *Mangifera indica* L., administrado por vía oral durante tres meses, produce una acción inhibitoria sobre los edemas plantares y la producción del FNT α en sus exudados, inducidos por carragenano y LPS que son dependientes de la dosis. También se manifiesta que el extracto inhibe la producción de la citocina proinflamatoria FNT α en un modelo murino de choque endotóxico inducido por LPS, que depende del tiempo de aplicación del extracto. Se informa la comprobación de que el extracto desarrolla esta acción a partir de una inhibición sobre la expresión del transcrito primario (ARNm) de dicha citocina. Además, se plantea que el efecto anti-inflamatorio del extracto acuoso de *Mangifera indica* L. se explica, al menos en parte, por la inhibición que produce, con un efecto dependiente de la dosis utilizada, de la producción de la citocina proinflamatoria FNT α , el radical libre $\cdot$ ON y los prostanoideos PGE $_2$ y LTB $_4$ en macrófagos y microglia activados. La acción anti-inflamatoria del extracto también podría explicarse por la inhibición que ejerce sobre la FLA $_2$; así como la proliferación de linfocitos T. La inhibición producida por el extracto acuoso de la corteza de *Mangifera indica* L. sobre la activación del factor de transcripción nuclear NF- κ B contribuye a explicar, a nivel molecular, las actividades biológicas atribuidas a dicho extracto.

Las Referencias Bibliográficas del estudio cuentan con 382 citas bibliográficas; de ellas, 144 (37,7 %) de los últimos cinco años y 323 (84,7 %) de los últimos 10 años.

La tesis cuenta además, de una tabla que resume la composición química del extracto y una figura en la que se muestran los mecanismos asociados al proceso inflamatorio y su modulación por el extracto acuoso de *Mangifera indica* L., así como con siete tablas y 10 figuras en las que se muestran los resultados alcanzados.

Los resultados de este estudio han sido publicados en cinco artículos científicos en revistas tanto internacionales [Phytotherapy Research (1), Minerva Medica (1) y Pharmacological Research (2)] como nacionales [Revista Cubana de Farmacia (1)] y en una monografía (VIMANG® Nuevo Producto Natural Antioxidante. Mitos y Realidades de la Terapia Antioxidante, Ministerio de Salud Pública, 2003). Además, se han presentado trabajos, derivados de él en 20 importantes foros científicos internacionales, tanto en Cuba como en el extranjero.

Los resultados alcanzados en este estudio le han permitido al Centro de Química Farmacéutica, en colaboración con las Empresas Farmacéuticas "Roberto Escudero" y "Reinaldo Gutiérrez", obtener el Registro Sanitario, otorgado por el Centro para el Control Estatal de los Medicamentos, de la crema y la tableta VIMANG® como fitomedicamento coadyuvante en la terapia establecida para procesos inflamatorios o dolorosos.

Estos resultados también han contribuido a que se introdujeran las formas farmacéuticas VIMANG® crema y tableta en el Cuadro Básico de Medicamentos de la República de Cuba.

Parte de este trabajo fue reconocido en el XIII Forum Nacional de Ciencia y Técnica de 2001 en el que obtuvo la condición de Destacado y obtuvo Mención en Innovación Tecnológica en 2000, en los Premios que otorga la Oficina Cubana de la Propiedad Industrial por su estrategia en cuanto a la protección a la propiedad industrial. También estos resultados forman parte de la patente concedida por esta Oficina ("Composiciones farmacéuticas y suplementos nutricionales a partir de extractos de *Mangifera indica* L.") al Centro de Química Farmacéutica.

Este trabajo también ha sido reconocido con los Premios Nacionales de Farmacología y de la Academia de Ciencias de Cuba en 2004.