

Nuevos aportes a los mecanismos de acción farmacológicos y la seguridad biológica de la mangiferina; una glucosilxantona natural con potencialidades terapéuticas en síndromes de dolor crónico

Autoría principal

Dra. C. Bárbara Beatriz Garrido Suárez¹, Dra. C. Idania Rodeiro Guerra², DrC. René Delgado Hernández¹.

Otros autores

Dr. C. José Alfredo Herrera Isidró³, MSc. Ivones Hernández Balmaseda², MSc. Ana Marta López Mantecón⁴, MSc. Maria del Carmen Rabí Martínez⁵, Dr. Sergio Henrique Ferreira⁶, Dra. Jozi Godoy Figueredo⁶, Dra. María José Gómez-Lechón Moliner⁷, Dra. María Teresa Donato Martín⁷, Dr. Gabino Garrido Garrido⁸, Dr. Javier Espinosa Aguirre⁹.

Colaboradores

MSc. Janet Morfi¹⁰, Dr. C. Roberto Menendez Soto del Valle², Lic. Marian Castro Labrada¹, MSc. Yalena Prado Vizcaino¹¹, Dr. C. Nelson Merino García¹, Dra. C. Fe Bosch Valdés⁵, Dr. Camilo Hernández¹², MSc. Ing. Zoe Lemus¹³, Dra. Sandra Hernández⁹, Dr. Agustin Lahoz¹⁴, Dr. José Vicente Castell Ripoll⁷, Dra. Gabriela Perez⁷, Dra. Nadia Romiti¹⁵, Dra. Laia Tolosa Pardo⁷, Dra. Elisabetta Chieli¹⁵.

Entidad ejecutora principal

¹Laboratorio de Farmacología y Toxicología del Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM), La Habana, Cuba.

Entidades participantes

²Departamento de Farmacología del Centro de Bioproductos Marinos (CEBIMAR).

³Instituto de Materiales y Reactivos, IMRE, Universidad de la Habana.

⁴Servicio Nacional de Reumatología. Hospital Docente Clínico Quirúrgico 10 de Octubre.

⁵Clínica del Dolor 10 de Octubre Hospital Docente Clínico Quirúrgico 10 de Octubre.

⁶Laboratorio de Farmacología de la Facultad de Medicina de Ribeirão Preto de la Universidad de São Paulo (USP), Brasil.

⁷Unidad de Hepatología Experimental, Centro de Investigación, Hospital Universitario La Fe, Valencia España.

⁸Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Universidad católica del Norte, Antofagasta, Chile.

⁹Departamento de Medicina Genómica y Toxicología Ambiental, Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM, DF, México.

¹⁰Instituto de Farmacia y Alimentos, Universidad de La Habana.

¹¹Universidad de la Habana.

¹²Servicio de Dermatología HDCQ 10 de Octubre.

¹³Laboratorios Oriente, Santiago de Cuba.

¹⁴Unidad Mixta Hospital La Fe-Advancell, Valencia, España.

¹⁵Departamento de Patología Experimental y Biotecnología Biomédica, Facultad de Medicina y Cirugía, Universidad de los Estudios de Pisa, Italia.

Autor para correspondencia

Dra. Bárbara Beatriz Garrido Suárez.

Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM), BioCubaFarma.

Ave. 26 No. 1605 e/ Boyeros y Puentes Grandes, Nuevo Vedado, Plaza. Apdo. Postal 10600.
La Habana, Cuba
Teléfono: +(537)-881-19-44 +(537)-881-08-30 Fax: +(537)-335556
E-mail:beatriz.garrido@infomed.sld.cu

Dra. Idania Rodeiro Guerra.
Centro de Bioproductos Marinos (CEBIMAR). AMA, CITMA.
Loma y 37, CP 10300. Nuevo Vedado, La Habana, Cuba.
Teléfono: +(537)-881-93-00
E-mail: idania.rodeiro@infomed.sld.cu

Dr. René Delgado Hernández.
Centro de Investigación y Desarrollo de los Medicamentos (CIDEM), BioCubaFarma.
Ave. 26 No. 1605 e/ Boyeros y Puentes Grandes, Nuevo Vedado, Plaza. Apdo. Postal 10600.
La Habana, Cuba.
Teléfono: + (537)-881-19-44 +(537)-881-08-30 Fax: +(537)-335556
E-mail: rdelgado@infomed.sld.cu

Aporte científico de cada autor al resultado

- ✓ Dr. C. **Bárbara Beatriz Garrido Suárez** (30%): Diseñó y estableció la metodología de trabajo a realizar y el enfoque multidisciplinario de la investigación. Implementó la metodología experimental para el desarrollo de las investigaciones básicas de dolor, introduciendo los modelos in vivo subrogados de dolor neuropático (formalina 5%) y de dolor neuropático así como los métodos de medición del dolor experimental en animales. Diseñó y ejecutó los experimentos. También diseñó y ejecutó los estudios clínicos en los que se introducen las formulaciones de ECAM en pacientes portadores de dolor asociado a zoster que sugieren su potencial beneficio en síndromes de dolor neuropático, así como el ensayo piloto fase II con la combinación Vimang-MTX en pacientes con artritis reumatoide. Divulgó activamente los resultados mediante la elaboración de artículos científicos en revistas de visibilidad internacional, capítulo de un libro y la presentación de los resultados en Congresos Nacionales e Internacionales, así como la tutoría de dos tesis de maestría. Ha sido jefa de 3 proyectos nacionales MINSAP, dos de los cuales aún están activos y es la coordinadora por la contraparte cubana de los dos proyectos internacionales (CAPES e IASP) que parcialmente financian estas investigaciones.
- ✓ Dr. C. **Idania Rodeiro Guerra** (30%): Diseñó y estableció la metodología experimental para el desarrollo de las investigaciones básicas de seguridad (estudios de toxicología a dosis únicas y repetidas, estudios de genotoxicidad, actividad citoprotectora y antimutagénica, estudios dirigidos al estudio de la modulación de ECAM y MG sobre enzimas y transportadores (sistema del CYP450 y P-gp) involucradas en su potencial de interacciones con otros fármacos. Diseñó y ejecutó los experimentos diseñó y ejecutó experimentos incluidos los in vitro de neuroprotección. Divulgó activamente los resultados mediante la elaboración de artículos científicos en revistas de visibilidad internacional, capítulos de 1 libro y la presentación de los resultados en Congresos Nacionales e Internacionales, así como la tutoría de dos tesis de maestría. Ha sido jefa de 3 proyectos nacionales MINSAP, dos de los cuales aún están activos y es la coordinadora por la contraparte cubana de los dos proyectos internacionales que parcialmente financian estas investigaciones.
- ✓ Dr. C. **René Delgado Hernandez** (10%): Apoyó en la implementación de las metodologías experimentales en el área básica de dolor y de seguridad, así como a la comprensión de la relevancia de estos estudios por las instituciones como gestor de la ciencia, diseñó y ejecutó experimentos in vitro de neuroprotección y citoprotección. Divulgó activamente los resultados

mediante la colaboración en la elaboración de artículos científicos en revistas de visibilidad internacional, libro y la presentación de los resultados en Congresos Nacionales e Internacionales, así como la tutoría de tesis de maestría.

- ✓ Dr. C. **José Alfredo Herrera Isidró**n (5%): Apoyo a las investigaciones de seguridad, diseño y ejecución del procesamiento estadístico
- ✓ MSc. **Ivones Hernández Balmaseda** (3%): Participó en los estudios de toxicología y citoprotección, incluido el de neuroprotección in vitro.
- ✓ MSc. **Ana Marta López Mantecón** (5%): Ejecutó el Ensayo Piloto en pacientes con artritis reumatoide.
- ✓ MSc. **Maria del Carmen Rabí Martínez** (2%): Reclutamiento y apoyo al seguimiento de pacientes con dolor asociado a zoster.
- ✓ Dr. **Sergio Henrique Ferreira** (2%): Apoyo al desarrollo de las investigaciones de dolor en nuestro país y al aprendizaje de métodos de evaluación del dolor experimental.
- ✓ Dra. **Jozi Godoy Figueredo** (3%): Apoyo al desarrollo de las investigaciones de dolor en nuestro país y al aprendizaje de métodos de evaluación del dolor experimental.
- ✓ Dra. **María José Gómez-Lechón Moliner** (3%): Participó en el diseño y desarrollo de los experimentos de hepatoprotección y en estudios in vitro dirigidos al estudio de la modulación de ECAM y MG sobre enzimas y transportadores (CYP450 y P-gp)
- ✓ Dra. **María Teresa Donato Martín** (2%): Participó en los estudios de hepatoprotección, metabolismo y modulación de citocromos del P450.
- ✓ Dr. **Gabino Garrido Garrido** (3%): Participo en el diseño de estudios pre-clínicos y clínicos de dolor, así como en los de hepatoprotección. Colaboración en la elaboración de artículos científicos.
- ✓ Dr. **Javier Espinosa Aguirre** (2%): Participó en los estudios de gentotoxicidad y protección al AND.

Resumen

La aproximación multimodal mediante terapias combinadas concebidas con racionalidad farmacodinámica y farmacocinética ofrecen mayor balance eficacia-seguridad en el tratamiento farmacológico del dolor crónico. La evaluación del efecto antihipernociceptivo del extracto de la corteza del árbol del mango (ECAM) y la mangiferina (MG) aislada de este, en modelos de dolor persistente y neuropático mostró su capacidad para reducir las conductas nociceptivas exclusivamente durante la fase tónica, efecto que fue incrementado por inhibidores de la vía NMDA-NO y mediado al menos en parte, a través de receptores $\alpha 2$ noradrenérgicos en cooperación con el sistema opioide. En el modelo de daño por constricción crónica del nervio ciático, ambos redujeron la hipernocicepción mecánica y previnieron los signos de degeneración Walleriana. Se demostró el bajo potencial de toxicidad en estudios a dosis única y repetidas y la ausencia de genotoxicidad de la MG, además de sus efectos genoprotectores y hepatoprotectores, y la capacidad para modular la expresión y actividad de algunas de las isoenzimas del sistema del citocromo P450 (CYP1A1/2) y la glicoproteína P (Pg-p). En consecuencia, se avanzó a etapas clínicas en pacientes con dolor asociado a zoster que recibieron tratamiento con formulaciones de ECAM, los que redujeron sus escalas nociceptivas y disturbios sensoriales. Su combinación (como

Vimang® tableta 500mg)-metotrexate fue eficaz según los criterios ACR y redujo la actividad de la enfermedad (parámetros DAS-28) en pacientes con artritis reumatoide. No se reportaron efectos adversos y se redujo significativamente la medicación concomitante. Esta investigación reporta por primera vez la actividad antihipernociceptiva del extracto y su xantona mayoritaria en modelos recomendados para estudiar la actividad de compuestos relacionados con la vía NMDA-NO, pivotal en el proceso de sensibilización central que subyace en el dolor crónico, caracteriza la acción transitoria de la MG sobre los sistemas neurotransmisores de las vías nociceptivas y sus mecanismos a largo plazo relacionados con los efectos neuroprotectores. Así como evidencia la modulación que ejercen sobre isoenzimas metabólicas y transportadores, mostrando su potencial aplicación segura con la capacidad de interaccionar beneficiosamente con otros compuestos, facilitando la reducción de las dosis y en consecuencia sus efectos adversos. Lo cual fue corroborado, también por primera vez, en estudios clínicos (reportes de casos y ensayos pilotos en pacientes con dolor crónico neuropático y/o inflamatorio tratados con formulaciones de ECAM en combinación con bajas dosis de antidepresivos tricíclicos, AINEs, metotrexate regulados por estos sistemas. Este trabajo, que permitió además, el desarrollo de la metodología experimental básica con extensión clínica para los estudios del dolor en nuestro país, se encuentra respaldado por 18 publicaciones científicas en revistas internacionales y 4 tesis de maestrías. Con esta investigación se aportan conocimientos sobre el efecto y mecanismos de acción antihipernociceptivo, evidencias tempranas de eficacia antihiperalgésica y seguridad del ECAM y la MG en el contexto actual donde la activación neuroinmune y el estrés oxidativo constituyen nuevas dianas en el tratamiento del dolor.

Comunicación Corta

Estudios recientes han reconocido que el dolor crónico con componente neuropático afecta a 8% de la población general¹. Innumerables condiciones pueden cursar con dolor neuropático (DN) como las enfermedades autoinmunes, metabólicas, vasculares, infecciones, el trauma y en el cáncer puede ser desencadenado por la invasión tumoral a estructuras nerviosas, su terapéutica o síndromes paraneoplásicos. Desafortunadamente el DN es resistente a la mayoría de los fármacos analgésicos disponibles y los que se utilizan específicamente para su tratamiento (anticonvulsivantes, antidepresivos tricíclicos, anestésicos locales, antagonistas de receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) no poseen una efectividad clínica relevante mayor de 50% ². Los progresos en su terapéutica solo son válidos, si esta se dirige, más que a la etiología, a los mecanismos de producción del dolor³. Este se considera un síntoma de neurodegeneración, por lo que se ha sugerido el papel de la neuroprotección como una estrategia racional novedosa⁴. En consecuencia, la activación neuroinmune y el estrés oxidativo proponen nuevas dianas para su intervención terapéutica^{4,5}. Los múltiples mecanismos neurales concurrentes de la modulación del dolor sugieren la idoneidad de una aproximación multimodal en su tratamiento. Las terapias combinadas a dosis bajas concebidas con racionalidad farmacodinámica y farmacocinética ofrecen un mayor balance eficacia-seguridad en el tratamiento farmacológico del dolor crónico sobre la base del estudio de interacciones y seguridad de los fármacos a asociar ya sean de fuentes sintéticas o naturales⁶. En

estas condiciones la mayoría de los esquemas de tratamiento son a largo plazo por lo que el estudio del potencial toxicológico y de interacciones farmacológicas de estos productos es primordial y requerido por las entidades regulatorias para avanzar a la fase clínica de los productos y/o combinaciones novedosas.

La mangiferina (MG), es una glucosilxantona (2-β-D-glucopiranosil-1,3,6,7-tetra-hidroxi-9H-xanten-9-ona) que constituye el compuesto mayoritario (15-20%) del extracto acuoso de la corteza del árbol del mango[(*Mangifera indica* L.) ECAM]⁷. Esta planta es ampliamente utilizada en la medicina tradicional ya que posee múltiples actividades biológicas⁷⁻¹⁰. Durante años se ha trabajado por autores cubanos y amplia colaboración internacional, incluido el equipo de trabajo de investigación que avala los resultados que se presentan, en la investigación-desarrollo de este producto natural y su componente bioactivo fundamental. No obstante, los estudios básicos iniciales sobre la actividad analgésica del ECAM la vincularon esencialmente con su actividad antiinflamatoria¹¹ dadas las acciones moduladoras del extracto sobre cascadas de señalización molecular comunes a ambos procesos. Sin embargo algunos hallazgos clínicos y la respuesta en pruebas algométricas tónicas sugerían que las acciones antihiperálgicas del extracto, podrían ser mediadas por su efecto transitoriodirecto sobre las vías nociceptivas. Por otra parte, su molécula mayoritaria, probablemente implicada, había sido estudiada muy escasamente en este sentido¹². Sobre la base de estos antecedentes el presente trabajo se dirigió a determinar la actividad antihipernociceptiva del ECAM y la MG en modelos de dolor patológico y caracterizar su mecanismo de acción, a partir de la implementación por primera vez en nuestro país, de modelos experimentales de dolor clínico. Asimismo, se propuso profundizar en los estudios de seguridad con el propósito de introducir las formulaciones Vimang® en la terapia multimodal analgésica de pacientes con dolor crónico.

La vía de señalización NFκ-B induce la transcripción de genes implicados en la expresión de mediadores y enzimas relacionadas con la inflamación, el dolor, el estrés oxidativo y la plasticidad sináptica⁹. Muchas de las acciones del ECAM y la MG han sido atribuidas a la inhibición que ejercen sobre esta señalización, además la MG muestra efectos neuroprotectores en modelos de excitotoxicidad inducida por glutamato y disminuye el influjo de Ca²⁺ mediado por este neurotransmisor a través de los receptores NMDA^{13,14}. También, esta xantona posee capacidad para limitar la activación microglial *in vitro*¹⁵. Estas evidencias sugerían su potencialidad para modular algunos de los blancos moleculares implicados en los mecanismos del dolor neuropático, especialmente la sensibilización central, a través de sus efectos a largo plazo mediados principalmente por cambios transcripcionales. Esta hipótesis fue generada por nuestro grupo (Garrido-Suárez et al., 2010) y constituyó el punto de partida de nuestras investigaciones y la de otros autores en torno al mecanismo de acción analgésico de la xantona^{16,17}.

Se estudió por primera vez el efecto de dosis repetidas del ECAM (125-500mg/kg, p.o.) y MG (12,5-50mg/kg, p.o.) sobre las conductas nocid defensivas (lamido/mordedura y retiradas) en la prueba de la formalina, pero a alta concentración (5%), condición necesaria para la liberación espinal de glutamato y la activación microglial¹⁸. El

suministro crónico de ECAM redujo ambas conductas exclusivamente durante la fase II, elemento que sugiere la capacidad del extracto para modular estados dolorosos persistentes y patológicos, más que el dolor agudo nociceptivo. El efecto fue homogéneo sobre las dos conductas en las que se implican diferentes circuitos neurales sugiriendo que la mezcla de compuestos del extracto no muestra acciones diferenciales sobre sus posibles dianas a nivel periférico, medular y supramedular en las vías nociceptivas. La administración crónica de MG reproduce los efectos del ECAM sobre la fase II, lo que sugiere la importancia de su producto mayoritario en el efecto. ECAM también redujo la hipernocicepción mecánica secundaria a largo plazo inducida por la formalina en la región opuesta de la pata a los 7 días de su administración, proceso dependiente de la activación microglial espinal. La combinación de ECAM con ácido ascórbico produce un reforzamiento significativo de la reducción del número de retiradas en la fase II, sugiriendo que mecanismos antioxidantes pueden estar involucrados, al menos en parte en este efecto. Este constituye el primer reporte de la actividad antihipernociceptiva del ECAM y la MG en la prueba a las concentraciones recomendadas para estudiar los compuestos relacionados con la vía NMDA-óxido nítrico (NO) (Garrido-Suárez et al., 2014a).

La administración de un inhibidor no selectivo de la óxido nítrico sintasa (NOS) y un antagonista no competitivo de los receptores N-metil-D-aspartato (NMDA), potenciaron el efecto analgésico de la MG, en la fase tónica de la prueba de la formalina 5%. Además al administrar L-arginina, sustrato de la enzima NOS, el efecto fue revertido. Estas evidencias experimentales avalan el hecho de que podría existir algún tipo de interacción favorable entre la MG y compuestos cuyo mecanismo de acción estén relacionados con la inhibición de la vía glutamato-NMDA-NO también reportado por primera vez por nuestro grupo (Garrido-Suárez et al. 2014b).

Para dilucidar un posible efecto directo de la MG sobre la regulación de las vías nociceptivas, se evaluó la contribución de los sistemas neurotransmisores opioide, noradrenérgico y serotoninérgico sobre la analgesia inducida por la xantona administrada por vía intraperitoneal. La naloxona, un antagonista no selectivo de receptores opiodes, revirtió parcialmente el efecto de la MG sobre la fase II y se reporta por primera vez que los efectos antihipernociceptivos de la MG en esta prueba podrían estar mediados, al menos en parte, por los receptores α_2 noradrenérgicos con la participación de los localizados en el cordón espinal. Se sugiere una cooperación entre ambos sistemas relevantes en el circuito modulador descendente del dolor. Las acciones de la MG sobre el sistema nociceptivo pudieran ser sinérgicas y/o aditivas a diferentes niveles de las vías ya que no se puede descartar la participación de los receptores α_2 noradrenérgicos periféricos. Existe una interacción recíproca entre el NO y los receptores α_2 noradrenérgicos sobre la inhibición del dolor en el cuerno dorsal espinal (CDE), contrariamente a lo esperado, la administración del inhibidor no selectivo NOS por vía intratecal no revirtió el efecto de la MG en correspondencia con la reversión causada por el antagonista selectivo α_2 noradrenérgico sino que disminuyó aún más las conductas nociceptivas registradas. Este resultado controversial puede ser explicado por el papel dual del NO en el CDE¹⁹. El efecto de la MG fue independiente de los receptores 5-HT₂ similar a lo reportado por otros autores¹⁷. Este constituye el

primer reporte de un mecanismo analgésico noradrenérgico para la MG (Garrido-Suárez et al., 2014b).

Otro resultado interesante emerge del primer acercamiento al estudio del efecto antihipernociceptivo del ECAM y la MG en el modelo de daño por constricción crónica del nervio ciático (CCI), un modelo crónico de dolor neuropático²⁰. El ECAM (500mg/kg, p.o.) suministrado a dosis repetidas durante 8 días a partir del día 9 post-cirugía a ratas mononeuropáticas redujo las escalas nociceptivas, incrementó la latencia de retirada de la pata en la prueba del plato caliente unilateral de manera similar a la pregabalina y atenuó la degeneración Walleriana. La administración sistémica de la MG previno la aparición de mecano-hipernocicepción en la pata ipsilateral durante el período del pico de mayor severidad a los 7 y 14 días, así como los cambios histopatológicos asociados a la degeneración Walleriana en el modelo. Este proceso está estrechamente vinculado con el desarrollo de dolor neuropático post-CCI, donde la neuroinflamación es protagónica. Por otra parte, se ha reportado apoptosis neuronal en una pequeña subpoblación de células en el CDE tras la inducción de CCI, muchas de ellas con función inhibitoria, cuya pérdida contribuye a la hipersensibilidad dolorosa (272). La muerte neuronal puede ser causada por excitotoxicidad glutamatérgica en adición al estrés nitroxidativo en estas condiciones³⁻⁵. La MG favorece la viabilidad celular de células PC12 expuestas a glutamato que media la muerte neuronal también involucrada en el dolor neuropático. Constituyen los primeros reportes de actividad antihiperálgica del ECAM y la MG en un modelo de dolor neuropático vinculados al efecto neuroprotector (Garrido-Suárez et al., 2014c; Garrido-Suárez et al., 2014b).

Sin embargo, resulta imprescindible cuando se obtiene una nueva molécula o producto con elevado potencial terapéutico antes de su introducción en la clínica conocer acerca de su toxicidad y seguridad farmacológica. De ahí, que para profundizar en la seguridad de la MG se ejecutaron los estudios propuestos por las agencias nacionales e internacionales para investigar los efectos tóxicos de un nuevo producto. Así, los resultados de los estudios de toxicidad aguda y subaguda realizados por vía oral en roedores demostraron el bajo potencial tóxico del ECAM y de la MG bajo nuestras condiciones experimentales. En el ensayo de Ames mediante las cepas TA 1535, TA 1537, TA 1538, TA 98 y TA 100, en presencia y ausencia de activación metabólica, evidenciaron que el producto no indujo efecto mutagénico hasta 5 000 µg/placa, límite máximo de evaluación propuesto para este ensayo, lo que fue corroborado en el ensayo de SOS Cromotest en *E. coli*. Los efectos sobre el daño primario al ADN se evaluaron mediante la conducción del ensayo Cometa. Los resultados obtenidos demostraron que la MG a diferencia del ECAM, no indujo daño primario al ADN. El estudio de los efectos sobre la inducción de MN en linfocitos humanos demostró que ni la MG ni el ECAM son citotóxicos, ni clastogénicos hasta dosis de 2000 mg/mL en ratones NMRI de ambos sexos. A diferencia de ello, se observó una actividad antimutagénica frente al daño inducido por diferentes agentes carcinógenos en humanos, cualidad también favorable en un fármaco analgésico para proteger del daño al ADN que induce el dolor crónico. Esta batería de pruebas permitió demostrar por primera vez que la MG no es un compuesto tóxico, mutagénico, ni genotóxico, comportándose como un producto seguro bajo nuestras condiciones experimentales.

(Rodeiro et al., 2006, 2012, 2014). La MG además, exhibe efectos citoprotectores sobre diferentes extirpes celulares ante el daño inducido por toxinas que también implican al estrés oxidativo y desregulación de las concentraciones intracelulares de Ca^{+2} en su mecanismo de daño (Rodeiro et al., 2008, 2012; Tolosa et al., 2013), mecanismos ventajosos en condiciones de disfunción mitocondrial como ocurre en las neuropatías periféricas⁴.

Por otra parte, se demostró que la MG inhibe la función catalítica de al menos 4 isoenzimas del sistema P450 involucradas en el metabolismo de los xenobioticos en el hombre: CYP1A1/2, 2E1 y CYP3A. Esta hipótesis fue reforzada en otra serie de experimentos donde se demostró que la MG protegió del daño inducido por la ciclosporina en células de riñón (HK-2), tóxico que es metabolizado por las enzimas del P450 y eliminado a través del sistema de la glicoproteína P (Chieli et al. 2009; Rodeiro et al., 2012; Rodeiro et al., 2008; Chieli et al., 2010; Rodeiro et al., 2012). También se evaluaron los efectos de la MG sobre la función de la Pg-p. Este transportador intracelular posee un importante papel en la exclusión de numerosos compuestos tóxicos de las células y es responsable en gran medida de la resistencia a la respuesta a fármacos, como el metotrexate (MTX). La MG fue capaz de modular la función y expresión de la P-gp (Rodeiro et al., 2008, 2012; Chieli et al., 2010). Estos resultados constituyeron los primeros reportes acerca de la modulación de los sistemas de transporte y eliminación de los compuestos extraños en el organismo por ECAM y MG y permitieron avanzar a etapas clínicas en pacientes con dolor asociado a zoster: neuralgia herpética aguda (n=12), subaguda (n=6) y post-herpética establecida (n=6) que recibieron tratamiento con formulaciones de ECAM (Vimang tabletas 300mg, Laboratorios Oriente, Santiago de Cuba). Los pacientes con herpes zoster agudo recibieron dosis de 1800 mg/día del extracto en asociación con bajas dosis de amitriptilina (10-25 mg/día). Además, se utilizó su disolución 2% en compresas como tratamiento tópico de las lesiones durante 30 días. El promedio de las puntuaciones diarias de dolor (PPDD) se redujo con respecto a sus valores basales desde la semana 1, ningún paciente evolucionó hacia la neuralgia post-herpética (NPH) (Garrido-Suárez et al., 2011a). Los pacientes con dolor asociado a zoster recibieron similar tratamiento pero durante 120 días en asociación con la aplicación tópica de la crema Vimang 1,2% sobre los dermatomas afectados. Se observó disminución significativa del PPDD y de otros disturbios sensoriales (área e intensidad de alodinia dinámica, intensidad de alodinia térmica y frecuencia del dolor paroxístico quemante con respecto a partir de la semana 4 de tratamiento. En ambos estudios no se reportaron efectos adversos y se redujo significativamente la medicación concomitante (Garrido-Suárez et al., 2011b). Además, se reclutaron 20 pacientes con artritis reumatoide (AR) activa en tratamiento durante 1 año con MTX 12,5mg/semana asociado a AINEs y/o prednisona (5-10mg/día), los que fueron aleatorizados e incluidos en el grupo estudio (n=10) que recibió la suplementación con Vimang (900mg/día) o el control que recibió el tratamiento habitual precedente (n=10) durante 180 días. Exclusivamente los pacientes del grupo MTX-Vimang redujeron los parámetros de la escala de actividad de la enfermedad-28 (DAS 28) con respecto a los valores basales a partir de los 90 días de tratamiento y obtuvieron ACR (80 %) como evidencia temprana de su posible eficacia, 100% de los pacientes suspendieron la administración de AINEs y 70% erradicaron los

efectos adversos gastrointestinales secundarios a su tratamiento precedente. Aproximadamente 30% de pacientes reumáticos no respondieron a la monoterapia con MTX y 10-30% presentan efectos adversos que conducen a la suspensión del tratamiento. La cualidad de la MG para inhibir a su transportador (P-gp) constituye la racionalidad de esta combinación y se soporta clínicamente en el incremento de la eficacia del MTX y la posibilidad de utilizar dosis menores que disminuyan sus toxicidades (López-Mantecón et al., 2014). Estos estudios reportan por primera vez evidencias clínicas que soportan la seguridad de las formulaciones Vimang y sus interacciones con otros fármacos.

Esta investigación se corresponde con los Lineamientos 131 y 158 de la Política Económica y Social del Partido y la Revolución sobre el desarrollo de resultados en las Ciencias Naturales y en la Medicina Natural y Tradicional

Como parte de la producción científica derivada de estas investigaciones se desarrollan 4 Tesis de Maestría.

Publicaciones

- ✓ Garrido-Suárez BB, Garrido G, Delgado R, Bosch F, Rabí MC. A *Mangifera indica* L extract could be used to treat neuropathic pain and implication of mangiferin. *Molecules* 2010; 15:9035-9045.
- ✓ Garrido-Suárez BB, Garrido G, García M and Delgado-Hernández R. Antihyperalgesic Effects of an Aqueous Stem Bark Extract of *Mangifera indica* L.: Role of Mangiferin Isolated from the Extract. *Phytotherapy Research* 2014; 28 (11): 1646-653.
- ✓ Garrido-Suárez BB, Garrido G, Castro-Labrada M, Merino N, Valdés O, Rodeiro I, Hernández I, Godoy-Figueiredo J, Ferreira SH, Delgado-Hernández R. Anti-hypernociceptive effect of mangiferin in persistent and neuropathic pain models in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 2014; 124:311-319
- ✓ Garrido-Suárez BB, Castro M, Merino N, Valdés O, Delgado-Hernández R. Anti-hyperalgesic effect of *Mangifera indica* L. extract on the sciatic chronic constriction injury model in rats. *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research* 2014; 2: 36-44
- ✓ Garrido-Suárez B, Garrido G, Delgado R, Bosch F, Rabí MC. Report of cases in patients with acute herpetic neuralgia using a *Mangifera indica* extract. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 2011; 21 (6): 1111-1117.
- ✓ Garrido-Suárez B, Garrido G, Delgado R, Bosch F, Rabí MC. Case Series in Patients with Zoster-Associated Pain Using *Mangifera indica* L extract. *Forschende Komplementärmedizin* 2011; 18: 345-50.
- ✓ López Mantecón AM, Garrido G, Delgado-Hernández R, Garrido-Suárez BB. Combination of *Mangifera indica* L. extract supplementation plus methotrexate in rheumatoid arthritis patients: A pilot study. *Phytotherapy Research* 2014; 28:1163-1172.
- ✓ Rodeiro I., Hernandez S., Morffi J., Herrera J.A, Gómez-Lechón M.J, Delgado R., Espinosa-Aguirre J. Evaluation of genotoxicity and DNA protective effects of mangiferin, a glucosylxanthone isolated from *Mangifera indica* L. stem bark extract. *Food Chemical Toxicology* 2012; 50: 3360-66.

- ✓ Rodeiro I, Donato MT, Martinez I, Hernandez I, Garrido G, Gonzalez Labaut, JA, Menendez R, Laguna A, Castell JV, Gomez Lechon MJ. Potencial hepatoprotective effects of new Cuban natural products in rat hepatocytes culture. *Toxicology In Vitro* 2008; 22 (5): 1242-9.
- ✓ Tolosa L., Rodeiro I., Donato MT, Herrera J., Delgado R., Castell JV, Gomez-Lechon MJ. Multiparametric evaluation of the cytoprotective effect of the *Mangifera indica* L. stem bark extract and mangiferin in Hep-G2 cells. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 2013; 65: 1073–1082.
- ✓ Chieli E., Romiti N, Rodeiro I., Garrido G. In vitro effects of *Mangifera indica* and polyphenols derived on ABCB1/P-glycoprotein activity. *Food and Chemical Toxicology* 2009; 47: 2703-10.
- ✓ Rodeiro I, Lahoz A, Gonzalez Lavaut, JA, Laguna A, Castell JV, Delgado R, Gomez Lechon MJ. Modulation of P450 enzymes by Cuban natural products rich in polyphenolic structures in rat hepatocytes. *Chemico-Biological Interactions* 2008; 172: 1-10.
- ✓ Chieli E, Romiti N, Rodeiro I, Garrido G. In vitro modulation of ABCB1/P-Glycoprotein expression by polyphenols from *Mangifera indica*. *Chemico-Biological Interactions* 2010; 186: 287-294.
- ✓ Rodeiro I. Donato MT, Jimenez N., Garrido G., Molina J., Menendez R., Castell J., Gómez-Lechón MJ.(2009). Inhibition of human P450 enzymes by natural extracts used in traditional medicine. *Phytotherapy Research*, 23, 279-282.
- ✓ Rodeiro I., Gómez-Lechón MJ., Perez G., Hernandez I., Herrera J.A., Delgado R., Castell J.V., Donato M.T. *Mangifera indica* L. extract and mangiferin modulate cytochrome P450 and DPGLucuronosyltransferase enzymes in primary cultures of human hepatocytes. *Phytotherapy Research* 2012; DOI: 10.1002/ptr.4782
- ✓ Rodeiro I., Delgado R., Garrido G. Effects of a *Mangifera indica* L. stem bark extract and mangiferin on radiation-induced DNA damage in human lymphocytes and lymphoblastoid cells. *Cell Proliferation* 2014, doi: 10.1111/cpr.12078.
- ✓ Garrido G., Rodeiro I, Hernandez I., Garcia G., Perez G., Merino N., Nunez A, Delgado R (2009). In vivo toxicological studies an antioxidant extract from *Mangifera indica* L. (Vimang). *Drug and Chemical Toxicology*, 32, 1, 53-58.
- ✓ Rodeiro I., Cancino L., Gonzalez J., Morffi J., Garrido G., González M., Núñez A., Delgado R. (2006). Genotoxic evaluation of *Mangifera indica* L. (Vimang). *Food Chemical Toxicology*, 44, 1707-13.

Referencias

- [1] Torrance N, Smith BH, Bennett MI, Lee AJ. The epidemiology of chronic pain of predominantly neuropathic origin. Results from a general population survey. *J Pain* 2006; 7:281-289
- [2] Finnerup NB, Sindrup SH, Jensen TS. The evidence for pharmacological treatment of neuropathic pain. *Pain* 2010; 150:573-581
- [3] Latremoliere A and Woolf CJ. Central Sensitization: A generator of pain hypersensitivity by central neural plasticity. *J Pain* 2009; 10: 895-926
- [4] Bordet T and Pruss RM. Targeting neuroprotection as an alternative approach to preventing and treating neuropathic pain. *Neurotherapeutics* 2009; 6:648-662
- [5] De Leo J.A, Tawfik VL, La Croix-Fralish ML. The tetrapartite synapse: Path to CNS sensitization and chronic pain. *Pain* 2006;122:17-21

- [6] Gilron I, Jensen TS, Dickenson AH. Combination pharmacotherapy for management of chronic pain: from bench to bedside. *Lancet Neurol* 2013; 12:1084-1095
- [7] Núñez-Sellés AJ, Delgado-Hernández R, Garrido-Garrido G, González-Rivera D, Guevara-García M, Pardo-Andreu GL. The paradox of natural products as pharmaceuticals. Experimental evidences of a mango stem bark extract. *Pharmacol Res* 2007; 55:351-358.
- [8] Pardo-Andreu GL, BarriosMF, Curti C, Hernandez I, Merino N, Lemus Y, MartínezI, Riaño, A, DelgadoR. Protective effects of *Mangifera indica* L extract (Vimang), and its major component mangiferin, on iron-induced oxidative damage to rat serum and liver. *PharmacolRes.* 2008; 57:79-86.
- [9] Leiro J, Arranz JA, Yáñez M, Ubeira FM, Sanmartín ML, Orallo F. Expression profiles of genes involved in the mouse nuclear factor-kappa B signal transduction pathway are modulated by mangiferin. *Int Immunopharmacol* 2004; 4:763-778
- [10] Garrido G, Delgado R, Lemus Y, Rodríguez J, García D, Núñez AJ. Protection against septic shock and suppression of tumor necrosis factor alpha and nitric oxide production on macrophages and microglia by a standard aqueous extract of *Mangifera indica* L. (Vimang®): Role of mangiferin isolated from the extract. *Pharmacol Res* 2004; 50:165-172
- [11] Garrido, G.; González, D.; Delporte, C.; Backhouse, N.; Quintero, G.; Núñez, A.J.; Morales, M.A. Analgesic and anti-inflammatory effects of *Mangifera indica* L. extract (Vimang). *Phytother. Res.* 2001; 15, 18-21.
- [12] Ahsana D, Shaheen F, Sabira N, Talat R, Sadia ZR, Muhammad A, Sadiqa F, Syed Tarique M. Analgesic and Antioxidant Activity of Mangiferin and Its Derivatives: the Structure Activity Relationship. *Biol Pharm Bull* 2005; 28:596-600
- [13] Gottfried M, Leal-Campanario R, Campos-Esparza MR, Sánchez-Gómez MV, Alberdi E, Arranz A et al. Neuroprotection by two polyphenols following excitotoxicity and experimental ischemia. *Neurobiol Dis* 2006; 23:374-386.
- [14] Campos-Esparza MR, Sánchez-Gómez MV, Matute C. Molecular mechanisms of neuroprotection by two natural antioxidants polyphenols. *Cell Calcium* 2009; 45:358-368.
- [15] Bhatia HS, Candelario-Jalil E, Pinheiro de Oliveira AC, Olajide OA, Martínez-Sánchez G, Fiebich BL. Mangiferin inhibits cyclooxygenase-2 expression and prostaglandin E2 production in activated rat microglial cells. *Arch. Biochem. Biophys.* 2008; 477: 253-258.
- [16] Lopes SC, da Silva AV, Rodriguez Arruda B, Morais TC, Barros Rios J, Trevisan MT, Rao VS, Santos FA. Peripheral antinociceptive action of mangiferin in mouse models of experimental pain: Role of endogenous opioids, KATP-Channels and adenosine. *Pharmacol Biochem Behav* 2013; 110:19-26
- [17] Izquierdo T, Espinoza de los Monteros-Zuñiga A, Cervantes-Durán C, Lozada MC, Godínez-Chaparro B. Mechanisms underlying the antinociceptive effect of mangiferin in the formalin test. *Eur J Pharamcol* 2013; 718:393-400
- [18] Okuda K, Sakurada Ch, Takahashi M, Yamada T, Sakurada T. Characterization of nociceptive responses and spinal releases of nitric oxide metabolites and glutamate evoked by different concentrations of formalin in rats. *Pain* 2001; 92:107-115.

- [19] Cury Y, Picolo G, Gutierrez VP, Ferreira SH (2011) Pain and analgesia. The dual effect of nitric oxide in the nociceptive system. *Nitric Oxide* 25: 243-254.
- [20] Bennett GJ, XieYK. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain* 1988; 33:87-107