



**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

**ESTUDIO DE ACTIVIDAD ANTIPLAQUETARIA DE MANGIFERINA (1,3,6,7-
TETRAHYDROXYXANTONA-C2- β -GLUCOSIDO)**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO
DE LICENCIADO EN TECNOLOGÍA MÉDICA**

AUTORAS:

JAVIERA CATALINA LINEROS CASTRO

MARIA JOSE SEPULVEDA COFRE

PROFESOR GUIA: TM. DR. IVÁN PALOMO GONZÁLEZ

TALCA-CHILE

2021

CONSTANCIA

La Dirección del Sistema de Bibliotecas a través de su unidad de procesos técnicos certifica que el autor del siguiente trabajo de titulación ha firmado su autorización para la reproducción en forma total o parcial e ilimitada del mismo.



Talca, 2022

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero agradecer a Dra. Lyanne Rodríguez y a TM Dr Iván Palomo que con sus conocimientos nos ayudaron y guiaron en la realización de esta memoria, en cada etapa para poder lograr los objetivos propuestos. También agradecer a Tamara Morales y María José Sepúlveda por todos estos años de universidad en el cual nos hemos apoyado a pesar de todo, gracias por siempre estar conmigo. Por último, agradecer a mi familia, a mis padres por su esfuerzo y apoyo que me han brindado todos estos años, por animarme a seguir cuando ya no había ánimos, gracias por su constante motivación.

Muchas gracias a todos.

DEDICATORIA

A mis padres y amigos por ser mi fuente de motivación para poder superarme cada día, a los que ya no me acompañan en vida y a cada persona que ha contribuido en mi desarrollo como persona durante el trayecto de mi vida.

Javiera Catalina Lineros Castro

AGRADECIMIENTOS

Al concluir con esta etapa de mi vida quiero extender agradecimientos a quienes hicieron posible este gran logro, a los que acompañaron mi vida universitaria, que me apoyaron y dieron felicidad en todo momento. Agradezco a la Virgen por guiar mi camino, por ser mi apoyo día a día y nunca dejarme caer. A mi padres, mi hermana, mi abuela y mis amigos. Muchas gracias a ustedes por demostrarme que cada esfuerzo vale la pena y que siempre hay que luchar por los sueños.

Agradezco al Centro de Investigación de Trombosis de la Universidad de Talca por apoyarnos en la decisión de llevar a cabo esta memoria pese a todos los imprevistos incluida una pandemia. Al profesor Iván Palomo por confiar en los resultados que obtuvimos y siempre inculcarnos seguir adelante en el trabajo. Y la Dra. Lyanne Rodríguez por ser nuestra guía y trabajar en conjunto con nosotras, por siempre responder todas nuestras inquietudes y dar sus enseñanzas sin pedir nada a cambio.

Y por último, a la Escuela de Tecnología Médica y sus docentes, agradezco la oportunidad de haber formado parte de esta hermosa carrera, por aportar los valores y enseñanzas que hacen de mí una buena persona y profesional, por los momentos de felicidad y tristeza vividos en ese edificio porque gracias a todo lo que ocurrió en estos años, pude lograr ser la mujer que soy.

DEDICATORIA

Esta memoria de pregrado es dedicada con todo mi corazón a mi madre Rosa Cofré y mi hermana Jocelin Sepúlveda por su amor y apoyo incondicional durante cada etapa de mi vida, porque sin ellas no lo habría logrado. A mi abuela Ana Lidia Tapia por confiar en mí, aun cuando yo no confiaba. A mi padre por siempre inculcarme ser una buena estudiante y persona. A mis amigas Tamara y Javiera por hacer todos los días un día especial y siempre estar conmigo. Gracias a cada persona que fue parte de mi vida universitaria, sumando un granito de arena que me hizo poder terminar felizmente esta etapa.

María José Sepúlveda Cofre

ABREVIATURAS

AA: Ácido araquidónico

AAS: Ácido acetilsalicílico

ACD: Ácido cítrico dextrosa

ADP: Adenosín difosfato

AINE: Antiinflamatorios no esteroideos

ANOVA: Análisis de varianza unidireccional

AUC: Área bajo la curva

CaCl₂: Cloruro de calcio

CEC: Comité ético científico

COX-1: Ciclooxigenasa 1

COX-2: Ciclooxigenasa 2

CYP2C19: Citocromo P450 2C19

CYP3A4: Citocromo P405 3A4

DEIS: Departamento de Estadística e Información de Salud

DM: Diabetes mellitus

DMSO: Dimetil sulfóxido

ECV: Enfermedades cardiovasculares

EMP: Examen de medicina preventiva

FRCV: Factor de riesgo cardiovascular

FVW: Factor von Willebrand

GES: Garantías explícitas en salud

GPIIb/IIIa: Glicoproteína IIb/IIIa

HTA: Hipertensión arterial

IC₅₀: Concentración máxima inhibitoria

MINSAL: Ministerio de Salud

OMS: Organización Mundial de la Salud

PA: Porcentaje de agregación

PAF: Factor activador de plaquetas

PAR-1: Receptor activado por proteasa 1

PG: Prostaglandina

PGH2: Prostaglandina H2

PGI2: Prostaglandina I2

PI: Porcentaje de inhibición

PRP: Plasma rico en plaquetas

PSCV: Programa de Salud Cardiovascular

ROS: Especies reactivas de oxígeno

S: Pendiente

SEM: Error estándar de la media

TGF-β1: Factor de crecimiento transformante beta 1

TRAP-6: Péptido activador de receptor de trombina 6

TX: Tromboxano

TXA2: Tromboxano A2

INDICE

1. RESUMEN	9
2. INTRODUCCION.....	10
3. MARCO TEORICO	12
3.1 Enfermedades cardiovasculares.....	12
3.1.1 Enfermedades cardiovasculares en Chile.....	14
3.1.2 Programas de prevención de ECV en la Región del Maule	15
3.1.3 Tipos de enfermedades cardiovasculares.....	16
3.2 Factores de riesgo cardiovascular	18
3.3 Trombosis arterial.....	20
3.4 Plaquetas.....	21
3.4.1 Formación.....	21
3.4.2 Estructura y función.....	22
3.5 Agonistas plaquetarios	25
3.5.1 Adenosín difosfato (ADP).....	26
3.5.2 Colágeno	26
3.5.3 Péptido activador de receptor de trombina 6 (TRAP-6).....	27
3.6 Fármacos antiplaquetarios	28
3.6.1 Efectos adversos de los antiplaquetarios	31
3.7 <i>Mangifera Indica L</i>	33
3.7.1 Mangiferina.....	35
3.7.2 Estructura	36
3.7.4 Actividades biológicas.....	36
4. HIPÓTESIS	42

5. OBJETIVOS	42
Objetivo general.....	42
Objetivos específicos.....	42
6. MATERIALES Y METODOS.....	43
6.1 Materiales.....	43
6.1.1 Reactivos.....	43
6.2 Métodos	43
6.2.1 Preparación de la muestra de mangiferina	43
6.2.2 Obtención y preparación de plaquetas lavadas.....	44
6.2.3 Actividad antiplaquetaria <i>in vitro</i>	45
6.2.4 Curvas concentración actividad (IC ₅₀)	45
6.2.5 Análisis estadístico	45
7. RESULTADOS.....	47
7.1 Efecto inhibitorio de la mangiferina frente a diferentes agonistas plaquetarios (TRAP-6 y colágeno) por turbidimetría.	47
7.2 IC ₅₀ de la mangiferina sobre la agregación plaquetaria inducida por TRAP-6 y colágeno.....	49
8. DISCUSIÓN	51
9. CONCLUSIÓN.....	56
10. REFERENCIAS	57

INDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Figura 1. Mapa de mortalidad de población mundial entre 30 a 70 años por ECV en el año 2012.....	13
Figura 2. Defunciones en Chile en el año 2019	14
Figura 3. Defunciones por enfermedades del sistema cardiovascular en Chile en el año 2019.....	15
Figura 4. Defunciones por Enfermedades cardiovasculares en la Región del Maule en el año 2019	16
Figura 5. Esquema de la trombopoyesis.....	22
Figura 6. Extendido de sangre periférica.....	23
Figura 7. Componentes estructurales de las plaquetas.....	24
Figura 8. Mecanismos de acción de antiagregantes plaquetarios.....	30
Figura 9. Ruta biosintética para mangiferina en plantas superiores.....	36
Figura 11. Estudio de la actividad de agregación antiplaquetaria del compuesto mangiferina frente al agonistas.....	49
Tabla 1. Factores de riesgo cardiovascular según Encuesta Nacional de Salud 2016-2017.19	
Tabla 2. Estudios de actividad biológica de la mangiferina.....	39
Tabla 3. Actividad antiplaquetaria de mangiferina.	47
Tabla 4. IC ₅₀ de la mangiferina a diferentes concentraciones.	50

1. RESUMEN

El avance de los trastornos y patologías que están directamente relacionados con alteraciones del corazón y los vasos sanguíneos es un tema esencial en la búsqueda de nuevos tratamientos para crear una terapia más eficiente en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares (ECV). Las plaquetas juegan un papel fundamental en el sistema de coagulación sanguínea, sin embargo, ciertas patologías pueden generar coágulos sanguíneos y ocasionar trombosis. La mangiferina, es un polifenol al que se le ha descrito un amplio potencial biológico como antioxidante, antidiabético, antiinflamatorio. Sin embargo, hasta la fecha no existen investigaciones previas relacionadas con este compuesto y su actividad antiplaquetaria. Por lo anterior, se evaluó la actividad antiplaquetaria *in vitro* estimulada por TRAP-6 5 μM y colágeno 1 $\mu\text{g/mL}$ de la mangiferina mediante turbidimetría. Los resultados mostraron que la mangiferina tiene un potencial antiplaquetario dependiente de la concentración. Por lo tanto, este compuesto podría postularse como un compuesto bioactivo con propiedades antiplaquetarias para el desarrollo de fármacos terapéuticos complementarios.

Palabras claves: Mangiferina, xantona, actividad antiplaquetaria, TRAP-6, colágeno.

2. INTRODUCCION

Las ECV, son la principal causa de muerte en todo el mundo, no existe discriminación por sexo, sin embargo, la edad es un factor de riesgo de importancia. La arteriosclerosis es uno de los principales desencadenantes de estas afecciones, la cual se produce cuando las paredes de las arterias acumulan placas de colesterol y lípidos, que pueden llegar a obstruir las arterias e impedir la circulación de la sangre o desprenderse cuando la placa es inestable, generando de esta manera un accidente o evento cardiovascular.

Las plaquetas poseen un papel fundamental en la hemostasia, cuando existe una lesión o daño endotelial estas se agregarán con otras plaquetas para la formación de un tapón plaquetario, liberando de esta manera distintos gránulos, sustancias proagregantes y glicoproteínas que van a favorecer a la generación de este, para que lleve a término la cascada de coagulación. Por otro lado, la activación y agregación plaquetaria no controlada son responsables de la progresión de ECV.

Existe una amplia variedad de receptores plaquetarios que van a participar en el proceso de agregación, estos serán los blancos principales para el tratamiento con antiagregantes plaquetarios y anticoagulantes, los que participarán en la prevención y terapia de las patologías vasculares.

A lo largo del tiempo, mediante distintas investigaciones se han descubierto muchas propiedades de los compuestos bioactivos presentes en frutas y verduras, que generan interés científico a nivel mundial. Estos no solo se pueden encontrar en la porción comestible sino también en sus subproductos, tales como semilla, cáscara, corteza de la semilla, hojas, entre otros.

En este contexto, el mango, fruta que lleva por nombre científico *Mangifera Indica L*, se cultiva principalmente en países tropicales y se consume en forma de néctar, helado, mermelada, entre otros. Los subproductos que no son comestibles y que constituyen un gran porcentaje de esta fruta son desechados. Este fruto presenta diversos compuestos bioactivos, en los que se destaca la mangiferina, xantona extraída por primera vez de las hojas de mango. Este compuesto es un polifenol, que se encuentra distribuido ampliamente en el fruto, también en su corteza y tallos, siendo el compuesto mayoritario de la *Mangifera Indica L*.

Se ha demostrado que las xantonas y los derivados de esta tienen efectos beneficiosos sobre algunas enfermedades cardiovasculares. Los efectos protectores de las xantonas en el sistema cardiovascular pueden deberse a sus actividades antioxidantes, antiinflamatorias y antitrombóticas.

A pesar, del alto potencial atribuido a este compuesto son escasos los estudios relacionados con protección cardiovascular. Una investigación señaló los efectos antiplaquetarios de la pulpa de mango y sus subproductos (corteza, cáscara de la semilla y semilla) debido a la presencia de compuestos bioactivos. La semilla de mango era especialmente rica en mangiferina, la cual mostró un efecto inhibidor, siendo este el primer antecedente para este compuesto. Considerando lo anterior, se necesitan estudios antiplaquetarios que corroboren estos resultados, por lo cual se estudiará su actividad antiplaquetaria en presencia de diversos agonistas plaquetarios, para así evaluar su eventual uso terapéutico a futuro.

3. MARCO TEORICO

3.1 Enfermedades cardiovasculares

La enfermedad cardiovascular (ECV) es un término utilizado para describir un conjunto de trastornos y patologías que están directamente relacionados a alteraciones del corazón y los vasos sanguíneos. Estas afecciones se generan de manera silenciosa y presentan diversos factores de riesgo, tanto físicos, genéticos y ambientales, también se pueden presentar secundarios a otra patología base (1).

Las ECV son la primera causa de muerte a nivel mundial, más personas mueren anualmente por eventos cardiovasculares que de otra causa. Se mostro que 17,7 millones de personas murieron producto de ECV en 2015, lo cual representa 31% de las muertes registradas en el mundo. De estas defunciones, unos 7,4 millones se debieron a cardiopatía coronaria y 6,7 millones a accidentes cerebrovasculares. Más del 82% de muertes debido a ECV tienen lugar en los países de ingresos bajos y medianos, y ocurren casi por igual en hombres y mujeres (2).

A diferencia de la población de los países de ingresos altos, los habitantes de los países de ingresos bajos y medios no se benefician de programas de atención primaria integrados para la detección precoz de estas afecciones y su tratamiento oportuno. Los habitantes de estos países que padecen ECV y otras enfermedades no transmisibles, tienen un menor acceso a servicios de asistencia sanitaria eficientes y equitativos, que respondan a sus necesidades. Como consecuencia, gran parte de la población muere más joven, en su edad más productiva, a causa de estas patologías (2).

Se estima que de aquí a 2030, casi 23,6 millones de personas morirán por alguna enfermedad cardiovascular, principalmente por cardiopatías y accidentes cerebrovasculares. Se prevé que estas enfermedades sigan siendo la principal causa de muerte (2).

El objetivo de la Organización Mundial de la Salud (OMS) al año 2025 va dirigido a una reducción de al menos un 25% en la mortalidad general por ECV, cáncer, diabetes o enfermedades respiratorias crónicas.(3). El siguiente mapa presenta los datos de manera porcentual de la probabilidad de muerte por ECV entre los 30 y 70 años (Figura 1).

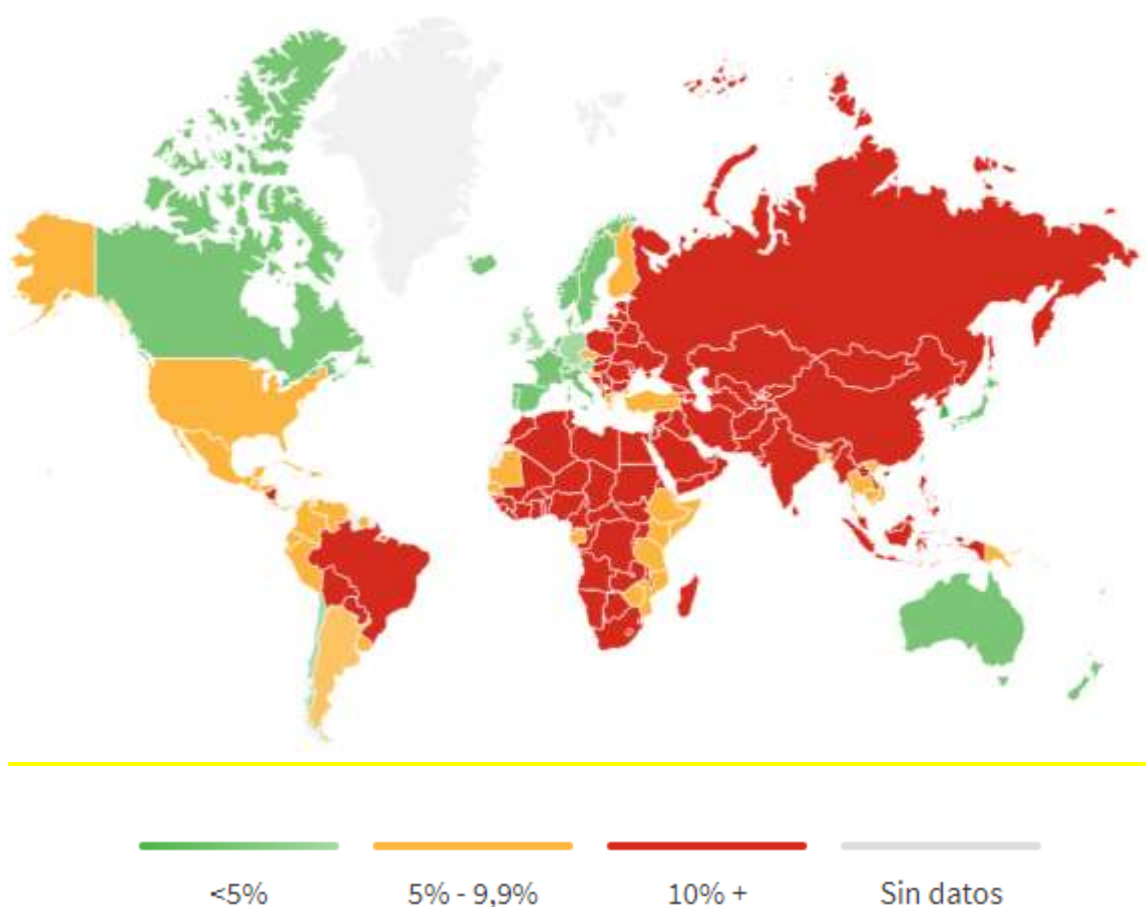


Figura 1. Mapa de mortalidad de población mundial entre 30 a 70 años por ECV en el año 2012. <5%: menos de 5% de personas de entre 30 y 70 años murieron por ECV. 5%-9.9%: entre 5%-9.9%de personas de entre 30 y 70 años murieron por ECV. 10%+: mas del

10% de personas de entre 30 y 70 años murieron por ECV. Sin datos: no hay datos disponibles de la población. Tomado de FWH (2012) (4).

3.1.1 Enfermedades cardiovasculares en Chile

Según indica el Departamento de estadística e información de salud (DEIS), las ECV son una de las principales causas de muerte en Chile. En el año 2019, cerca de un 70 % de las defunciones fueron por lo anteriormente mencionado, y en segundo lugar los tumores o neoplasias con un 12 % del total de las muertes (5), lo que observa en la Figura 2. A futuro es un importante desafío la reducción de estas cifras donde una prevención primaria constituye una poderosa herramienta, además de una detección temprana de la enfermedad. (6).

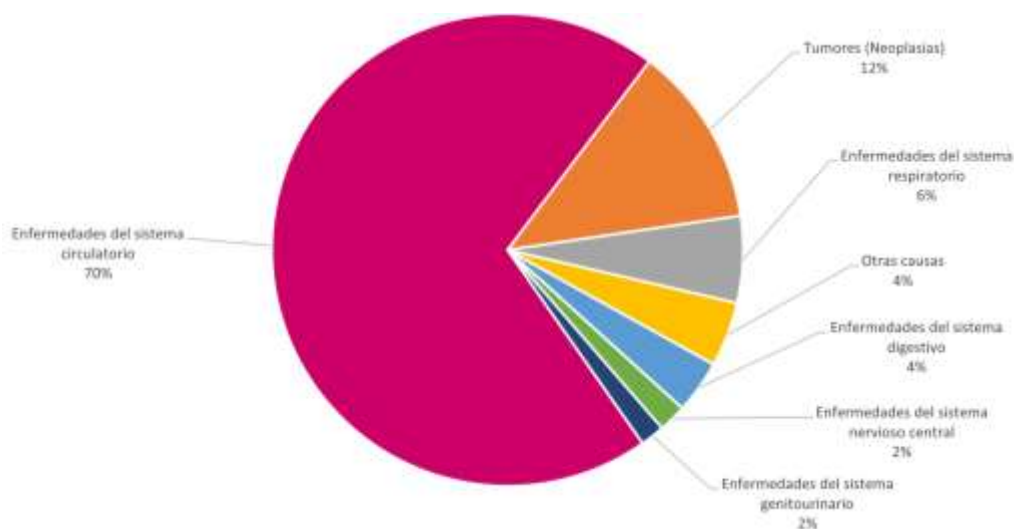


Figura 2. Defunciones en Chile en el año 2019. Adaptada de DEIS (2021) (5).

Según los datos obtenidos de las defunciones por ECV en Chile, un 31 % corresponden a accidentes cerebrovasculares, y al menos un 31% equivalen a muertes por infarto al miocardio, como se observa en la Figura 3.

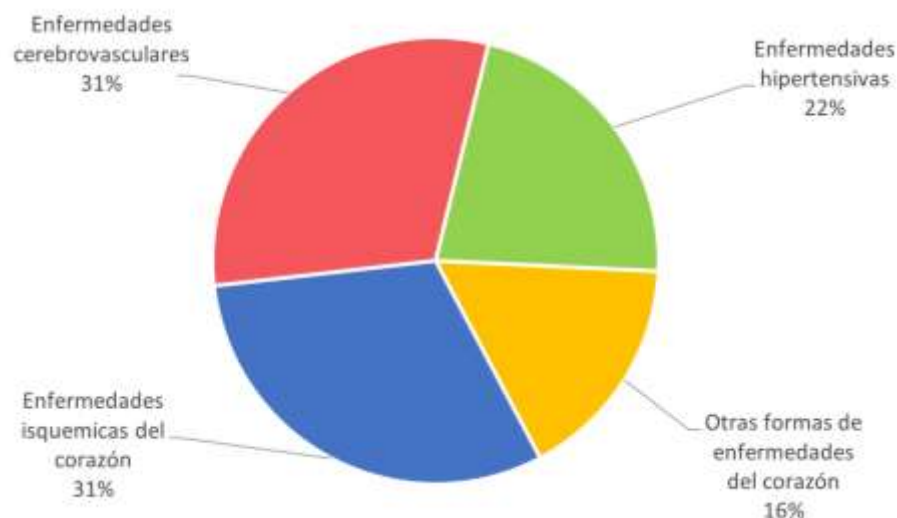


Figura 3. Defunciones por enfermedades del sistema cardiovascular en Chile en el año 2019. Adaptada de DEIS (2021)(5).

3.1.2 Programas de prevención de ECV en la Región del Maule

En el año 2002 se fusionaron los programas de hipertensión arterial (HTA) y Diabetes Mellitus (DM) creando el Programa de Salud Cardiovascular (PSCV), este se encuentra enfocado en el riesgo cardiovascular de los pacientes en atención primaria. Luego en el año 2009 se publica el documento “Implementación del enfoque de riesgo en el PSCV” (7), donde destaca como principal objetivo la prevención de la morbilidad, mortalidad y discapacidad de las personas que presentan riesgo cardiovascular. En el año 2017 el Ministerio de Salud (MINSAL), elaboró un manual de técnicas actualizadas para el manejo de pacientes con patologías cardiovasculares (8, 9), para mejorar la calidad de atención de la comunidad.

Existen factores de riesgo cardiovascular, que se pesquisan a través del examen de medicina preventiva (EMP), una evaluación que nos permite el monitoreo de la salud, esta se aplica según edad y sexo, su finalidad es detectar precozmente enfermedades prevenibles y sus factores de riesgo, con el objetivo de reducir la morbimortalidad asociadas a distintos

tipos de afecciones principalmente cardiovasculares. Esto es garantizado por el estado a los pacientes mayores de 15 años a través de la ley de garantías explícitas en salud (GES) que comenzó el año 2005 (9, 10).

A pesar de las campañas y programas de prevención en la Región del Maule, cerca un 15 % se encuentra en control de salud cardiovascular (11). En el año 2019 cerca de 1834 habitantes de esta región fallecieron producto de estas enfermedades, siendo la principal causa las enfermedades cerebrovasculares con 565 defunciones, esto se puede observar a detalle en la Figura 4.

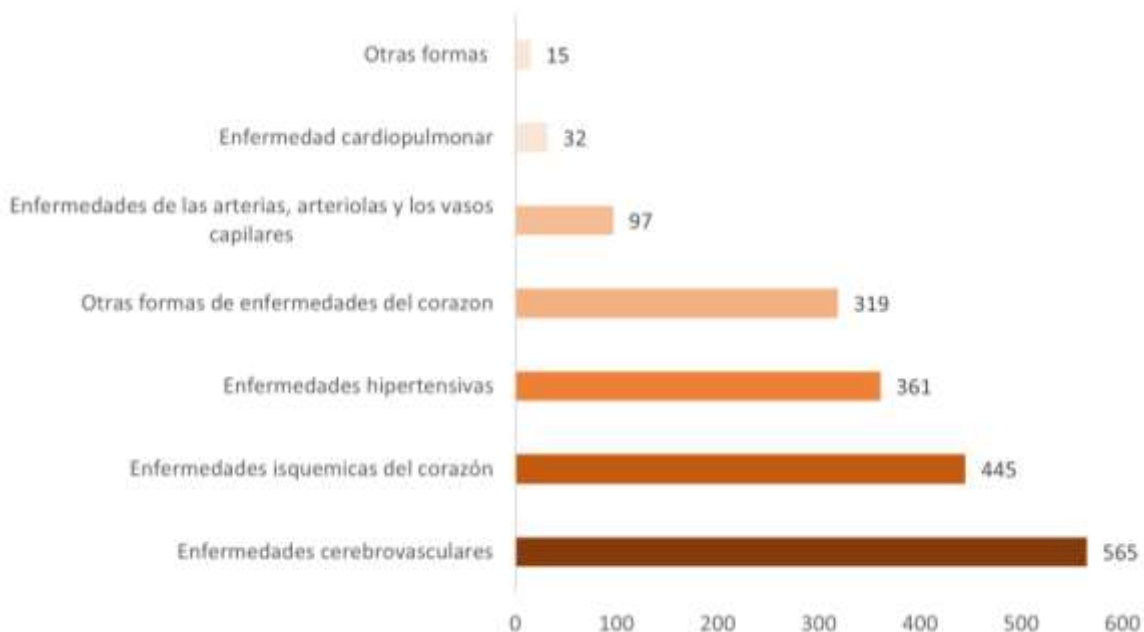


Figura 4. Defunciones por Enfermedades cardiovasculares en la Región del Maule en el año 2019. Adaptada de DEIS (2021)(5).

3.1.3 Tipos de enfermedades cardiovasculares

Las ECV presentan características en común, sin embargo, no son totalmente similares por lo que se pueden clasificar en distintas patologías de acuerdo con lo que generan o el área que afectan.

Con respecto a las enfermedades cerebrovasculares, son aquellas en la que existe una alteración en el flujo sanguíneo cerebral, en donde se ven afectadas las venas y las arterias que irrigan al cerebro, lo que conlleva a una disminución del flujo sanguíneo en esta área con la consecuente afectación de manera transitoria o permanente de la función de una región del cerebro, una zona más pequeña o un área focal, sin que exista otra causa aparente que el origen vascular. Esta afección trae como consecuencia procesos isquémicos o hemorrágicos, causando la aparición de secuelas neurológicas o sintomatología asociada a estos procesos (12).

Las arteriopatías o vasculopatías periféricas son un trastorno circulatorio grave, generado por la obstrucción de grandes arterias en áreas externas al corazón, las que aportan sangre a las extremidades superiores e inferiores. Los individuos que padecen de una arteriopatía periférica presentan un riesgo de 6 a 7 veces mayor de sufrir un infarto o un ictus. El desarrollo grave de una de estas afecciones puede conducir a infecciones de importancia que pueden acabar ocasionando amputaciones de las extremidades (13).

La enfermedad reumática del corazón es una afección que en la mayoría de los casos suele comenzar con una infección causada por una bacteria llamada estreptococo, esta genera la llamada fiebre reumática lo que produce un daño permanente de las válvulas del corazón. En algunos casos, la faringitis estreptocócica o la escarlatina pueden eventualmente progresar a la fiebre reumática (14).

En cuanto a las cardiopatías congénitas, estas se definen como malformaciones del corazón presentes desde el nacimiento. Son lesiones anatómicas de una o varias de las cuatro válvulas cardíacas, de los tabiques que las separan, o de los tractos de salida cuya causa exacta se desconoce. Existen múltiples cardiopatías congénitas, unas de carácter leve las cuales presentan buen pronóstico en relación a su progresión y tratamiento, otras mucho más severas (15).

Las trombosis venosas profundas y embolias pulmonares, se caracterizan por la formación de coágulos de sangre (trombos) en las venas de las extremidades inferiores, que pueden desprenderse (émbolos) y alojarse en los vasos del corazón y los pulmones (16).

Todas estas dolencias comparten un elemento común, con el tiempo acaban por lesionar las venas o arterias favoreciendo que se estrechen, pierdan elasticidad y en los peores casos se obstruyan. Este proceso se produce en mayor medida en los grandes vasos, pero se vuelve más perjudicial cuando se ven afectado los responsables de aportar sangre al corazón y el cerebro. El nombre más comúnmente utilizado que se emplea en medicina para referirse a este deterioro es arterosclerosis (17).

3.2 Factores de riesgo cardiovascular

Un factor de riesgo cardiovascular (FRCV) es una característica biológica, un hábito o estilo de vida que aumenta la probabilidad de que los individuos padezcan o mueran producto de una ECV. Al tratarse de una probabilidad, la ausencia de estos factores no excluye la posibilidad de desarrollar estas afecciones a futuro y por lo consiguiente, la presencia de ellos tampoco implica necesariamente su aparición (18).

Los principales factores de riesgo se pueden clasificar en no modificables como la edad, sexo, historial familiar o factores genéticos, en estos se deben actuar de manera preventiva y son los de mayor interés; y los modificables donde se incluyen la HTA, tabaquismo, hipercolesterolemia, DM, sobrepeso/obesidad, estos son los factores que presentan una mayor asociación a las ECV, ya que son los más frecuentes en la población (19).

En la Tabla 1 se puede observar los factores de riesgo con más prevalencia en Chile para las enfermedades cardiovasculares según los datos de la Encuesta Nacional de Salud realizada entre los años 2016 y 2017.

Tabla 1. Factores de riesgo cardiovascular según Encuesta Nacional de Salud 2016-2017. Tomada y adaptada de MINSAL (2017) (20).

Factor de Riesgo	Prevalencia Nacional
Sedentarismo	86.7%
Malnutrición	74.2%
Sobrepeso	39.8%
Obesidad	31.2%
Obesidad mórbida	3.2%
Hipertensión arterial	27.6%
Diabetes Mellitus	12.3%
Tabaquismo activo	33.3%
Tabaquismo pasivo	15.2%
Consumo riesgoso de alcohol	11.7%

Por otra parte, hay que tener en cuenta otros tipos de factores como los genéticos, ambientales y secundarios a otras patologías, los que se pueden encontrar relacionados entre sí o de forma independiente, dentro de estos se encuentran ciertos desordenes metabólicos, ya sean congénitos o adquiridos (21). También forman parte de estos factores el tabaquismo o la exposición a este, el estrés crónico, entre otros (1).

Del mismo modo, las determinantes sociales desempeñan un papel fundamental en el desarrollo de estas patologías, de manera que el individuo puede estar predestinado a padecer estas afecciones, entre estas determinantes se encuentran: edad, sexo, nivel socioeconómico, raza o etnia y educación. La edad es un factor de riesgo muy relevante,

por lo que la probabilidad de padecer una de estas patologías cardiovasculares está directamente relacionada con el paso de los años (17).

3.3 Trombosis arterial

El término trombofilia define condiciones hereditarias o adquiridas del sistema de la hemostasia que predisponen a la trombosis (22). Ambas condiciones (hereditarias y adquiridas) pueden coexistir en un mismo paciente. La patogenia de la trombosis arterial es muy compleja, ya que involucra una secuencia de eventos que incluye factores genéticos y adquiridos, en conjunto con el sistema de coagulación (23).

Se mencionan tres etapas, la primera indica una vasoconstricción transitoria, que es producida por un reflejo neurogénico y por un factor de vasoconstricción llamado endotelina, secretado por el endotelio (24). En segundo lugar, existe una alteración del endotelio, con exposición de la matriz fibroelástica de la íntima a los elementos sanguíneos, lo que produce la adherencia de las plaquetas a la pared formando un tapón. Esto ocurre en escasos minutos y se denomina hemostasia primaria (25). Por último, se encuentra la acumulación de plaquetas en el sitio alterado, las que liberan tromboplastina (26), esta transforma la protrombina en trombina, la que a su vez actúa sobre el fibrinógeno y lo hace precipitar en forma de fibrina, y sobre la fibrina polimerizada se produce más agregación de plaquetas, de glóbulos rojos y leucocitos, formando un trombo. Este mecanismo es más largo y se llama hemostasis secundaria (27). En esta etapa también actúan mecanismos para restringir y limitar la hemostasis solo al sitio alterado.

En cuanto a la morfología macroscópica de los trombos, hay dos tipos: el trombo blanco o de aposición y el trombo rojo o de coagulación. En la mayoría de los trombos el componente principal es la fibrina, pero desde el punto de vista de la patogenia, el papel primordial lo desempeñan las plaquetas (28).

El trombo blanco es común observarlo en los sitios de daño endotelial, como por ejemplo en el endocardio alterado por un infarto cardiaco, en los velos valvulares con endocarditis o en las placas de ateroma ulceradas. Estos se presentan como masas levemente granulosas o vellosas con una forma coraliforme. En cuanto al trombo rojo, por el contrario, se pueden observar en sitios sin alteración del endotelio, como las venas, principalmente en sitios donde existe una disminución de la velocidad sanguínea, tales como cavidades cardiacas y varices. Este presenta un aspecto cilíndrico (28, 29).

La importante participación de las plaquetas en el proceso de formación del trombo arterial determina el interés que despierta el conocimiento de sus características estructurales y funcionales, ya que esto constituye la base, entre otros aspectos, para el diseño de fármacos y estrategias de tratamiento antitrombótico (30).

3.4 Plaquetas

3.4.1 Formación

La megacariopoyesis es el proceso mediante el cual ocurre la diferenciación de la línea megacariocítica; y trombopoyesis, proceso de liberación de plaquetas a partir del megacariocito maduro (31) como se observa en la Figura 5. Ambos procesos se desarrollan en la medula ósea, sin embargo, algunos autores proponen que el pulmón es uno de los sitios donde ocurre la trombopoyesis, por lo tanto, se considera como uno de los sitios más importantes para la liberación de plaquetas a la sangre (32).

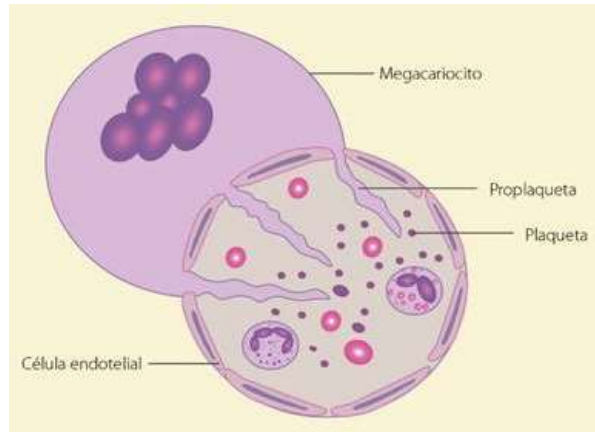


Figura 5. Esquema de la trombopoyesis. Se observa un megacariocito extendiendo sus proplaquetas hacia el interior de un sinusoide. El flujo sanguíneo ayuda a desprender a las plaquetas de las proplaquetas y terminar su liberación a la circulación. Tomada de González, A. (2019) (33).

3.4.2 Estructura y función

Las plaquetas, uno de los tres elementos formes de la sangre, son pequeños fragmentos del citoplasma de los megacariocitos, producidos a nivel de la médula ósea, que han sido liberadas a la circulación sanguínea; tienen una forma plana y discoidea y miden $3 \times 5 \mu\text{m}$ (34). No presenta ADN genómico, pero contienen ARN mensajero (ARNm) derivado de los megacariocitos (35). Su forma y pequeño tamaño permite que se ubiquen en el borde del vaso sanguíneo, siendo esta la mejor posición para monitorear continuamente la integridad de este. Circulan a una concentración de 150.000-450.000 células / ml. (36). Del total de plaquetas humanas, el 70% se retiene en la circulación, mientras que el 30% restante se retiene temporalmente en el bazo, pero persiste durante un promedio de 10 días (37). El bazo y el hígado son responsables de la eliminación de la mayoría de las plaquetas después del envejecimiento, aunque una pequeña parte de ellas se elimina continuamente debido a su participación en el mantenimiento de la integridad de los vasos sanguíneos (38).

En frotis de sangre periférica teñidos con tinción de Wright-Giemsa como se observa en la Figura 6, las plaquetas aparecen como pequeñas células granulares con una membrana áspera, y normalmente se encuentran entre 3-10 plaquetas por campo de alto poder de inmersión en aceite (39).

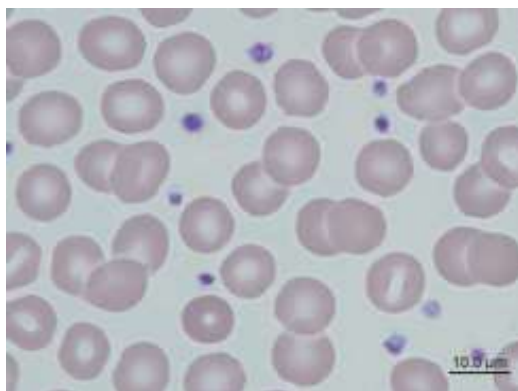


Figura 6. Extendido de sangre periférica. Se observan plaquetas en proporción y morfología normal. Coloración de Wright. 100x. Tomada de Campuzano, G. (2008) (40).

A pesar de su apariencia simple en el frotis de sangre periférica, las plaquetas tienen una estructura compleja (41).

Los principales componentes de las plaquetas son membrana plasmática, el citoesqueleto, los gránulos y el sistema de membrana interno, en el que se encuentra el sistema tubular denso y el sistema canalicular abierto; además se pueden encontrar estructuras que también poseen importancia como gránulos de glicógeno, mitocondrias, lisosomas (42) como se indica en la Figura 7.

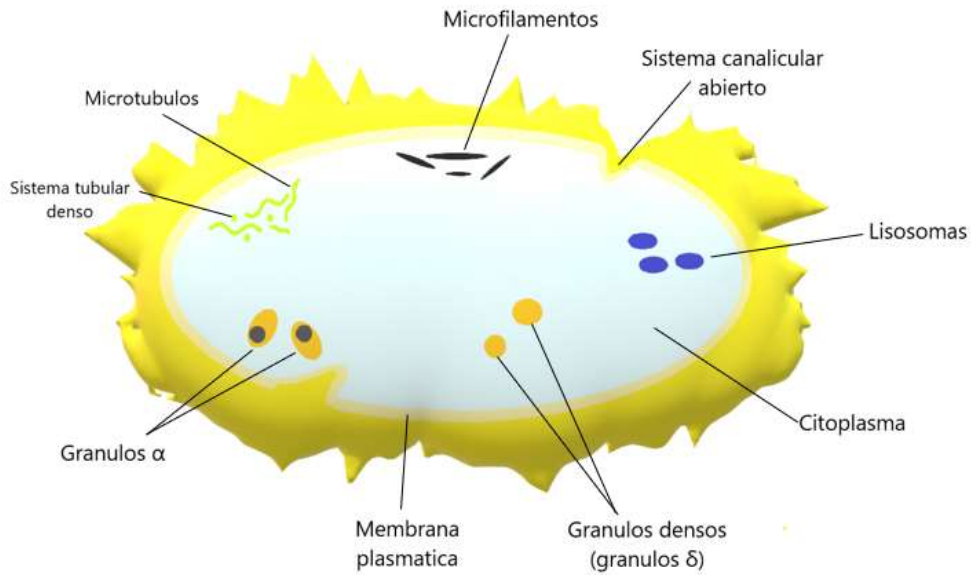


Figura 7. Componentes estructurales de las plaquetas. Tomada y adaptada de Palomo, I. (2005) (42).

Las plaquetas circulantes se encuentran en una constante interacción con los componentes del plasma, los demás elementos formes de la sangre y con el endotelio vascular por medio de las glicoproteínas de las membranas plaquetarias y de diversos intermediarios químicos (43).

Su membrana externa está compuesta por una bicapa de fosfolípidos, la cual presenta glicoproteínas que van a funcionar como receptores de los agonistas (trombina, adenosín difosfato (ADP) y tromboxano (TX)), también se encontrarán proteínas adhesivas, (fibronectina, fibrinógeno, entre otros), además se van a localizar enzimas las cuales son importantes para el buen funcionamiento celular (42, 44). Esta membrana es la responsable de la comunicación con el medio externo por medio de receptores como las integrinas, las cuales se enlazan a proteínas (41).

Entre las integrinas se encuentra la Glicoproteína IIb/IIIa (GPIIb/IIIa), es la proteína más abundante en la membrana, siendo el receptor plaquetario para el fibrinógeno y otras proteínas adhesivas como el factor von Willebrand, fibronectina y vitronectina. La formación de puentes de fibrinógeno entre receptores GPIIb-IIIa y plaquetas es de gran importancia para la formación de agregados plaquetarios, la unión a las proteínas facilita la adhesión de las plaquetas con el endotelio dañado (42). La mayor proporción de esta glicoproteína es extracelular y se compone de 2 segmentos transmembrana y 2 cortos segmentos citoplasmáticos formados por los extremos C terminales (45).

En cuanto a los receptores no glicoproteicos, existen activadores como el ADP, TXA, epinefrina, serotonina, trombina y factor activador de plaquetas (PAF), e inhibidores entre los cuales tendremos la adenosina y prostaglandinas (PG) (46). El receptor del ADP es purinérgico, se identifica por responder con su activación frente al ADP y su inhibición frente al ATP (47). El tromboxano A₂ (TXA₂) va a activar las plaquetas mediante la unión a un receptor específico el cual estará asociado a una proteína G (48). La unión de epinefrina va a inducir la agregación sin cambio de forma y además va a potenciar la acción de otros agonistas (49). La serotonina es un agonista muy débil, y se caracteriza por potenciar la agregación plaquetaria cuando se utiliza como agonista la epinefrina o el PAF. La trombina, una serino proteasa, en plaquetas va a producir un cambio de forma y liberación del contenido de gránulos plaquetarios (42).

3.5 Agonistas plaquetarios

La trombina, el ADP y la epinefrina inducen inhibición de la actividad adenilciclasa en la plaqueta. La activación plaquetaria por agentes como trombina, colágeno, ADP y epinefrina, puede conducir activación de la fosfolipasa A₂ citoplasmática, que requiere concentraciones fisiológicas de calcio para activarse, la cual cataliza la hidrólisis de los fosfolípidos de membrana y da lugar al ácido araquidónico que se metaboliza

preferencialmente por la vía de la TXA2 sintetasa para dar lugar al TXA2. De esta manera el TXA2 constituye un amplificador de la señal de activación plaquetaria (50).

3.5.1 Adenosín difosfato (ADP)

El ADP es el principal agonista fisiológico que induce la agregación plaquetaria *in vivo*. El ADP es un nucleótido que se acumula en los gránulos densos de las plaquetas. Después de la activación, las plaquetas cambian y liberan el contenido de sus gránulos alfa y gránulos densos (51). La liberación de los depósitos internos de ADP de partículas densas puede activar las plaquetas que circulan libremente al unirse a los receptores purinérgicos P2Y1 y P2Y12 en la membrana plaquetaria, así como a las plaquetas adherentes (52). Después de activar las plaquetas, los diversos componentes del receptor GPIIb/IIIa en la membrana plaquetaria cambiarán su configuración física, estableciendo así un sitio de unión de alta afinidad para el fibrinógeno GPIIb/IIIa (51, 52). Posteriormente, el fibrinógeno, que puede circular libremente y ser liberado de los gránulos alfa, se acopla al receptor GPIIb/IIIa para formar un puente plaquetas-plaquetas y causar agregación plaquetaria (53).

3.5.2 Colágeno

El colágeno es una proteína que se localiza en el tejido conectivo humano. Después de que se lesiona el tejido conectivo (como la piel o los vasos sanguíneos), el colágeno queda expuesto debido al receptor de glucoproteína VI en la membrana de colágeno y las plaquetas que circulan libremente se adhieren inmediatamente al colágeno (54). Después de la adhesión, las plaquetas sufren cambios morfológicos, sus membranas liberan ácido araquidónico, aumenta el calcio citoplasmático y sus partículas liberan productos como ADP y serotonina (55).

La presencia de ADP y calcio movilizado conduce a la activación del complejo receptor de GPIIb/IIIa, que eventualmente forma agregación entre plaquetas a través del puente de fibrinógeno. Dado que la agregación plaquetaria final inducida por el colágeno es una colección de plaquetas activadas por colágeno, tromboxano y ADP, estas plaquetas provocarán agregación de GPIIb/IIIa, por lo que se puede detectar la influencia de sustancias que inhiben cualquier forma de activación plaquetaria y posterior agregación. sobre la concentración de colágeno (56).

El colágeno no solo beneficia la adhesión inicial de las plaquetas a la estructura, sino que además es un agonista importante, que puede potenciar y promover la activación y agregación posteriores de plaquetas, y favorece la formación de trombos hemostáticos (57).

3.5.3 Péptido activador de receptor de trombina 6 (TRAP-6)

La trombina es capaz de activar las plaquetas, esta activación está mediada especialmente por la hidrólisis del receptor acoplado a proteína G (llamado receptor 1 activado por proteasa) ubicado en la membrana plaquetaria y el segundo receptor que es menos sensible a la expresión de trombina (58). La activación de la trombina induce la agregación de plaquetas porque el fibrinógeno se une a los receptores de la GPIIb/IIIa (59). Después de la activación, los componentes del receptor cambiarán su estructura física para formar un sitio de unión de GPIIb/IIIa con alta afinidad por el fibrinógeno en la membrana plaquetaria (56). En presencia de antagonistas de GPIIb/IIIa o falta de receptores de GPIIb/IIIa, la agregación plaquetaria inducida por TRAP-6 puede ser mínima o inexistente (60).

3.6 Fármacos antiplaquetarios

Los antiagregantes plaquetarios son un pilar fundamental del tratamiento farmacológico de pacientes que presentan alguna patología como una trombosis, síndromes coronarios, eventos cerebrovasculares, entre otros (61).

En el proceso de regulación de la agregación plaquetaria, participan una amplia variedad de moléculas, tal como: receptores de superficie tipo integrinas, receptores acoplados a proteínas G y receptores de tirosina quinasa, así como moléculas intraplaquetarias. Todas estas moléculas son blancos potenciales de fármacos antiplaquetarios destinados a prevenir y tratar patologías cardiovasculares (47).

Los antiagregantes plaquetarios tienen distintos propósitos y mecanismos de acción frente a alguna alteración en la coagulación sanguínea. Como podemos observar en la Figura 8, algunos inhiben enzimas, como inhibidores de la Ciclooxygenasa (Ácido acetilsalicílico) e inhibidores de la Fosfodiesterasa (Dipiridamol). Por otro lado, existen fármacos inhibidores de los receptores de las plaquetas, tales como inhibidor del receptor de ADP (Clopidogrel) e inhibidores de GPIIb/IIIa (Abciximab) (48).

En el caso del Ácido acetilsalicílico (AAS), conocido comúnmente como aspirina, este actúa en la síntesis de prostaglandinas, a dosis bajas ejerce su efecto antiplaquetario mediante la inhibición irreversible de la ciclooxygenasa 1 (COX-1) y en dosis altas actúa como inhibidor no selectivo de COX. La COX-1 de las plaquetas generan prostaglandina H₂ (PGH₂), esta enzima es la responsable de la formación de prostaglandina I₂ (PGI₂), siendo también el precursor del TXA₂ (49). En las plaquetas el TXA₂ proporciona un mecanismo para amplificar la señal de activación, debido a que se sintetiza y se libera en respuesta de varios agonistas plaquetarios tales como el colágeno, ADP, el factor de

activación plaquetaria (PAF) y la trombina que a su vez induce una agregación plaquetaria irreversible (62).

El Dipyridamol tiene la capacidad de inhibir la captación de adenosina en los eritrocitos, las plaquetas y las células endoteliales. Este fármaco genera un aumento de la concentración de adenosina, que actúa sobre el receptor A₂ plaquetario, estimulando la adenilciclase plaquetaria, a consecuencia de esto aumenta la concentración de AMPc plaquetario. Por consiguiente, inhibe la agregación plaquetaria en respuesta a diversos estímulos tales como PAF, colágeno y ADP, presentando propiedades vasodilatadoras (48).

El Clopidogrel es un antiplaquetario inhibidor o bloqueador del receptor del ADP, actúa bloqueando por similitud al ADP, esta inhibición impide que este se pueda unir al sitio del receptor plaquetario, y ejerza su efecto de agonista plaquetario. Al bloquearse este receptor impide la activación de la vía del complejo glicoproteico IIb/IIIa. Este fármaco no puede actuar directamente, si no que requiere una etapa metabólica previa en el hígado para que se encuentre activo (63).

El Abciximab es un anticuerpo no clonal que bloquea a la glicoproteína IIb/IIIa, este no se puede unir el fibrinógeno, por lo que no va a existir un puente entre dos plaquetas. Así mismo, los fármacos Eptifibatide y Tirofiban, poseen un mecanismo similar a Abciximab ya que bloquean a IIb/IIIa, con la diferencia que estos no son anticuerpos (64).

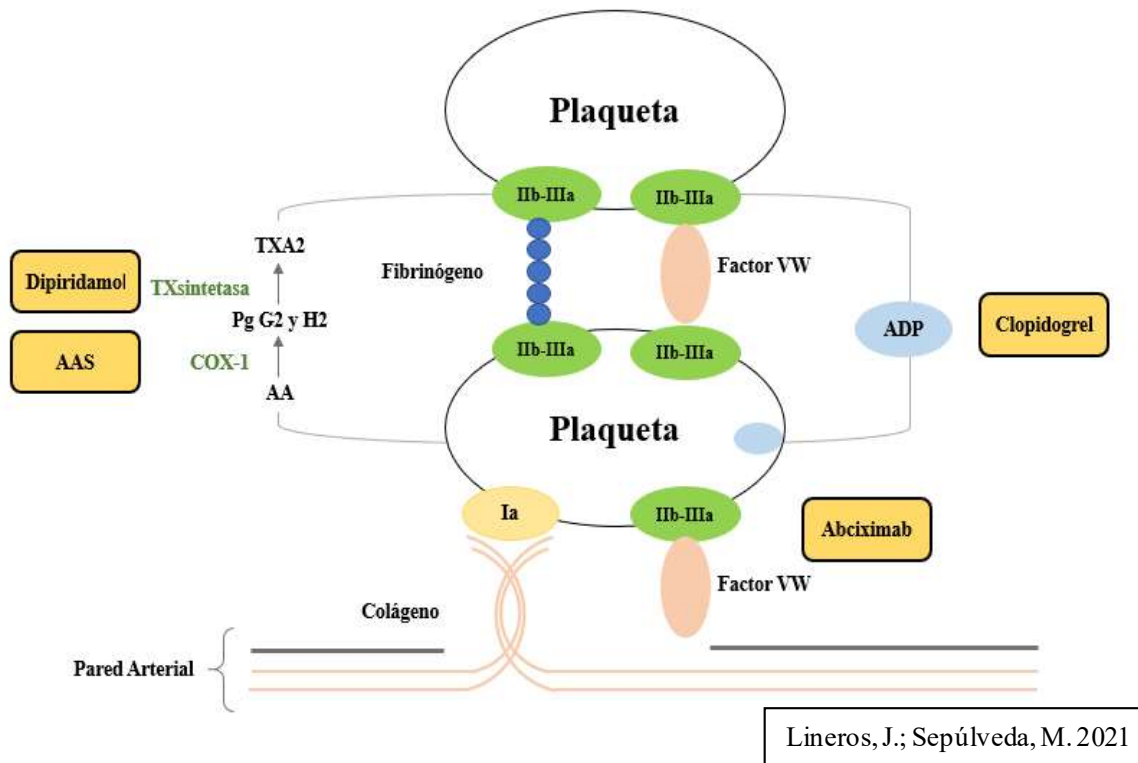


Figura 8. Mecanismos de acción de antiagregantes plaquetarios. TXA2: Tromboxano A2; TX sintetasa: Tromboxano sintetasa; COX-1: Ciclooxygenasa 1; Pg: Prostaglandina; AAS: Ácido acetilsalicílico; AA: Acido araquidónico; Factor VW: Factor von Willebrand, ADP: adenosín difosfato.

Algunos fármacos presentan mecanismo de resistencias, los cuales se pueden agrupar en factores clínicos tales como dosis inadecuadas, fallo en la prescripción, interacción con otros fármacos, entre otros; factores celulares como el aumento de la expresión de ciclooxygenasa 2 (COX-2) y factores genéticos como polimorfismo en COX-1 y polimorfismo en el receptor de colágeno. Es por ello, por lo que a pesar de la eficacia que presentan los antiagregantes, es cada vez más habitual encontrarse con pacientes resistentes a su tratamiento, generando complicaciones cardiovasculares a pesar de la ingesta regular de antiplaquetarios, es por esto que es importante destacar que la terapia antiplaquetaria debe ser personalizada evaluando la clínica que presente el paciente, y si este presenta riesgo de complicaciones trombóticas o hemorrágicas (65).

3.6.1 Efectos adversos de los antiplaquetarios

En cuanto a los efectos adversos del AAS, por si solo se mencionan pérdida de la audición en casos de administración en dosis elevadas, aumenta el riesgo de desarrollar ulcera estomacal, es posible que pueda aumentar el riesgo de padecer un accidente cerebrovascular hemorrágico (66). Por otro lado, cuando se ocupa en combinación con otros medicamentos asociados a ciertas patologías, se observan grandes riesgos para la salud, el caso de ser usada con diuréticos aumenta el riesgo de insuficiencia renal en pacientes deshidratados, en conjunto con insulina aumenta el efecto hipoglucemiante, con ciclosporina aumenta el riesgo de nefrotoxicidad, con vancomicina el riesgo de ototoxicidad es mayor y por último, al ser usada con otros anticoagulantes hay un riesgo alto de hemorragia (67, 68).

El Dipyridamol presenta como efecto desfavorable la cefalea debido a su efecto vasodilatador, también puede presentar taquifilaxia, necesidad de aumentar la dosis del medicamento debido a la resistencia del organismo a los 3 o 4 días de iniciarse el tratamiento, además puede generar molestia estomacal, prurito, elevación de enzimas hepáticas, entre otras (69). Al ser usado con otros medicamentos puede aumentar el efecto de los antihipertensivos, disminuye el efecto de los inhibidores de la colinesterasa, aumenta los niveles de adenosina y finalmente, aumenta el riesgo de hemorragia con el uso de heparina, warfarina, AAS, antiinflamatorios no esteroideos (AINE), entre otros (70, 71).

El Clopidogrel tiene sus principales interacciones con los inhibidores de la bomba de protones como lo es el Omeprazol o Esomoprazol y otros medicamentos, debido a la inhibición del citocromo P450 2C19 (CYP2C19), ya que esta área es la encargada de metabolizar el Clopidogrel a su metabolito activo. También existen otros medicamentos como lo es la Claritromicina, Ketoconazol, Fluvoxamina, entre otras, que inhiben las enzimas del citocromo P405 3A4 (CYP3A4) responsables de activar el fármaco (72, 73). Por sí solo, destacan efectos adversos como la resistencia a Clopidogrel, la hemorragia que

puede aparecer en el intestino, orina, estómago, por medio de hematomas, entre otras; también se menciona la fiebre, hinchazón o signos asociados a problemas hepáticos (67, 74).

El mayor problema con el Abciximab consiste en que la dosis que produce un efecto eficaz también puede provocar una gran incidencia de hemorragia y trombocitopenia. Entre las reacciones adversas más frecuentes se encuentran dolor lumbar, náuseas, dolor torácico, cefalea, fiebre, vómitos, entre otras (75, 76). En raras ocasiones se ha notificado síndrome de distrés respiratorio, taponamiento cardíaco, reacciones alérgicas o hipersensibilidad, sin embargo, es posible que la anafilaxia ocurra en cualquier momento de la administración de este fármaco (77).

Debido a todas las características desfavorables que presentan los anticoagulantes más utilizados como los mencionados anteriormente, es necesario la búsqueda periódica y constante de nuevas formas o principios activos de tratamiento para estas afecciones, para generar una mejor calidad de vida para el paciente. En este sentido recientemente han tomado importancia compuestos químicos provenientes de fuentes naturales o sintéticas para el desarrollo de nuevos antiplaquetarios.

Los principios bioactivos presentes en plantas y vegetales últimamente tiene mayor importancia por su actividad biológica (78), debido a que elaboran metabolitos primarios y secundarios, siendo estos últimos los más relevantes, entre los que destacan antraquinonas, cumarinas, estilbenos, flavonoides, fuconinas, saponinas y taxanos, los cuales han demostrado mediante diversos estudios inhibir *in vitro* o *in vivo* la actividad antiagregante plaquetaria o acción anticoagulante (79).

Las cumarinas están ampliamente presentes en importante cantidad en el reino vegetal, estas componen un grupo heterogéneo de sustancias fenólicas naturales denominado

benzopironas, el cual presenta diferentes niveles de complejidad y diversa actividad biológica (80). Se ha demostrado que pueden inhibir la función de las plaquetas a través de variados mecanismos bioquímicos, que incluyen la síntesis de PG, la inhibición de la actividad de la enzima γ -carboxilasa dependiente de vitamina K o secuestrando especies reactivas de oxígeno (ROS) (81).

Los flavonoides han recibido mucha atención en los últimos años debido a los numerosos efectos beneficiosos observados, destaca su efecto antioxidante, convirtiéndose en un importante compuesto dietético con un potencial terapéutico prometedor. Los informes y la evidencia epidemiológica sugieren que las dietas ricas en flavonoides, como la quercetina, tienen efectos en la prevención y el tratamiento de enfermedades cardiovasculares, cáncer e insuficiencia renal y hepática (82, 83). Sin embargo, se sabe poco sobre la biodisponibilidad, absorción y metabolismo de los polifenoles en humanos, ya que su estudio es complejo y los datos son escasos. La quercetina, es el flavonoide más abundante y habitual en la dieta humana, se encuentra en altas concentraciones en algunas verduras en especial en la cebolla (83).

3.7 *Mangifera Indica L*

El fruto de *Mangifera indica L*, comúnmente conocido como mango es el cultivo con el segundo mayor requerimiento de producción y superficie, solo por detrás de los plátanos (84). Esta fruta tiene múltiples variedades con formas, colores, texturas y sabores muy variables; se consume principalmente fresco, pero también se encuentra en forma de jugo, mermelada, helado, néctar, etc.

Referente a las propiedades físicas que presenta el fruto antes mencionado, posterior a su madurez fisiológica, este muestra cambios en su firmeza lo que es atribuible a la degradación enzimática de polisacáridos como almidón, pectinas, celulosa y hemicelulosa, pues son componentes estructurales de la pared celular (85). Por otra parte, la luminosidad

en estos frutos es mayor en su estado de madurez, esto se debe a la degradación de clorofilas y a la síntesis de carotenoides durante la maduración (86).

Los ácidos orgánicos (cítricos, ascórbico y málico) presentes en el fruto, son de vital importancia durante el proceso de crecimiento, debido a que durante la respiración se desempeñan como fuente de energía y a consecuencia de esto, su contenido tiende a decrecer con el desarrollo del fruto (87). Paralelo a la pérdida de acidez, hay un incremento significativo del pH en los frutos durante el proceso de maduración (88).

En relación con el contenido de polifenoles, este se encuentra aumentado cuando el fruto está en su etapa de madurez fisiológica. Por otro lado, los fenoles totales tienden a disminuir en esta fase, lo que asocia con la senescencia del fruto (89).

Los polifenoles constituyen uno de los componentes fundamentales y mayoritarios, entre ellos se incluyen xantonas como mangiferina, isomangiferina y homomangiferina, flavonoides como quercetina, isoquercetina y catequina, taninos como el ácido gálico, metilgalato, galotanino y otros (90).

Luego de varios años de desconocimiento de este, se estudiaron sus propiedades en diferentes partes de la *Mangifera Indica L*, llegando a aislar por primera vez de las hojas y corteza, un compuesto denominado mangiferina (91).

3.7.1 Mangiferina

La mangiferina lleva por nombre químico 1,3,6,7 tetrahydroxyxantona-C2- β -glucósido, esta es una molécula de polifenol, clasificada como xantona y que se produce naturalmente. La presencia de un pirocatecol que contiene cuatro grupos hidroxilo en su estructura química hace que la mangiferina sea una molécula antioxidante y anti-radicales libres eficaz (91). La mangiferina se distribuye ampliamente en la corteza, la cáscara, las hojas, las semillas, el tallo y el grano del mango, y las plantas superiores (92). Este compuesto es soluble en etanol, sin embargo, es levemente soluble en agua y metanol. Por otra parte, se comprobó que es insoluble en cloroformo, acetona y éter dietílico; el aumento de temperatura va a disminuir la solubilidad de la mangiferina en solventes puros (93).

En cuanto a otras fuentes naturales donde se puede encontrar destacan las siguientes, *Iris unguicularis*, es una especie de la familia de las iridáceas. Diversas investigaciones fitoquímicas de especies de *Iris unguicularis* ha evidenciado el aislamiento de más de 250 compuestos, incluyen flavonoides, isoflavonoides y sus glucósidos, benzoquinonas y triterpenoides (94) entre los cuales encontramos a la mangiferina la cual mostró una potente actividad antirradicales en un estudio (95).

La mangiferina también ha sido aislada del rizoma de Bunge de *Anemarrhena asphodeloides* el cual se comprobó que el extracto acuoso demostró actividades antidiabéticas en ratones (96).

El extracto de mangiferina también se logró obtener directamente de concentrados metanólicos de hojas de *Bombax ceiba* la cual es una importante planta medicinal, estudios fitoquímicos en distintas fracciones de *B. ceiba* revelaron que es rica en compuestos fenólicos entre los cuales se encuentra la mangiferina, esta xantona se encuentra en grandes cantidades en las hojas, la cual demostró que en cantidades sustanciales, posee una fuerte actividad antioxidante (97).

3.7.2 Estructura

La mangiferina es un polifenol que se genera por una ruta biosintética como se observa en la Figura 9 (98). Se encuentra en plantas de las familias Gentianaceae, Anacardiaceae, y Guttiferae, también lleva por nombre C-glucosilxantona, se caracteriza por ser resistente a la hidrólisis química y enzimática, a diferencia de las xantonas O-glicósido, en los que el azúcar, está unida por un enlace carbono-oxígeno al núcleo y es sensible a la hidrólisis (99).

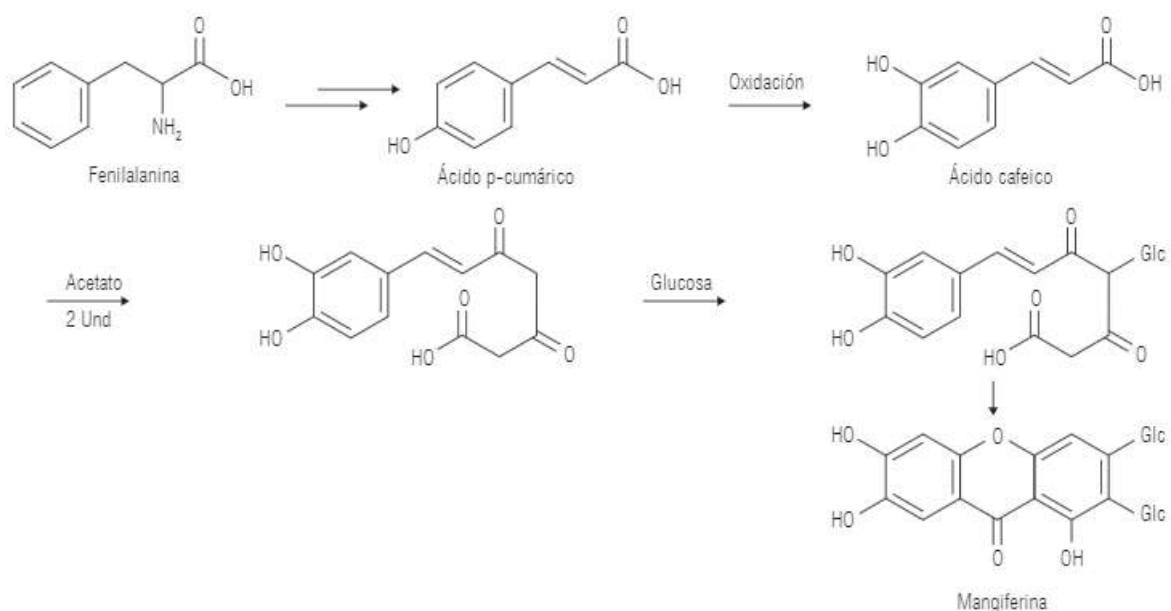


Figura 9. Ruta biosintética para mangiferina en plantas superiores. Tomada de Forero, F. (2016) (100).

3.7.4 Actividades biológicas

La mangiferina posee algunas actividades biológicas muy eficaces e importantes para la salud, este compuesto presenta potentes propiedades inmunomoduladoras, entre las que se

encuentran: propiedad antiinflamatoria (101), antitumoral (102), antioxidante (103), entre otras. Por otra parte, también se ha demostrado que la mangiferina posee propiedades antidiabéticas, antihiperlipidémicas y antiaterogénicas, lo que sugiere que su efecto es beneficioso en el tratamiento de la diabetes asociada con la hiperlipidemia y complicaciones cardiovasculares (104).

La actividad antioxidante de este polifenol es básicamente atribuible a su estructura química y a la presencia de anillos aromáticos y grupos hidroxilos, esto implica la deslocalización de los electrones y les confiere a los polifenoles la propiedad de reaccionar con los radicales libres, donándoles electrones y modificándolos a radicales intermedios más estables y menos reactivos, los cuales ya no provocaran daño a las macromoléculas (105).

En cuanto a la actividad antitrombótica, en un estudio se evaluaron los efectos inhibitorios de los compuestos presentes en la pulpa de mango y sus subproductos frente a la agregación plaquetaria, debido a que este fruto presenta gran cantidad de compuestos bioactivos; como resultados se obtuvo que la semilla de mango mostró un 72% de inhibición porcentual de la agregación plaquetaria inducida por el agonista ADP. Se descubrió que la semilla del mango era rica en compuestos de monogaloilo, tetra y penta galloilglucosa, ácido elágico, mangiferina, entre otros. Al evaluar los compuestos encontrados, la mangiferina (1 mg/ml) fue uno de los compuestos mayoritarios encontrados, la que mostró un efecto inhibitorio de la agregación plaquetaria más alto, aproximadamente de un 31%, lo que sugiere un papel clave como principal contribuyente a la actividad antiplaquetaria de la semilla de mango, por lo que se necesitan más estudios que corroboren este hallazgo (106).

En los últimos años, no se ha estudiado a fondo las propiedades de este compuesto, sin embargo, existen publicaciones que evidencian que la mangiferina posee facultades que van en directo beneficio para la salud de la población mundial como se observa en la Tabla 2. Si

este compuesto fuera investigado más a fondo, probablemente podría ser utilizado a futuro como parte del tratamiento de enfermedades de impacto a nivel mundial.

En uno de los estudios con resultados significativos, se evaluó el papel que jugaba la mangiferina en el deterioro cardíaco, para ello se indujo un modelo de fibrosis cardíaca en ratas inyectando 150 mg/kg dosis de D-galactosa durante 8 semanas. Se evaluó observando depósito de colágeno a través de tinción tricromica de Masson y tinción con rojo sirius, así mediante el examen de la expresión de proteínas de la matriz extracelular mediante análisis de transferencia Western. La actividad cardíaca la evaluaron midiendo la expresión de factor de crecimiento transformante beta 1 (TGF- β 1) y los niveles de fosforilación de p38. En cuanto a los resultados obtenidos se observó que la mangiferina mejoraba el envejecimiento cardíaco inducido por la D-galactosa, además atenuaba el estrés oxidativo cardíaco, la inflamación y la fibrosis (107).

En otra investigación mediante el metaanálisis se evaluaron los efectos de la administración oral de mangiferina sobre los niveles de glucosa en sangre, el peso corporal y los niveles de colesterol total y triglicéridos en modelos animales diabéticos, para ello se realizaron metaanálisis y se revisaron los mecanismos subyacentes. El metaanálisis se realizó con el software RevMan 5.3 y STATA 14.0, en donde los resultados apuntan que la ingesta oral de mangiferina tiene un efecto antidiabético significativo en modelos animales, y la revisión sistemática sugirió que esta función podría atribuirse a sus propiedades antiinflamatorias y antioxidantes, así como a su función de mejorar el metabolismo de los glicolípidos y mejorar la señalización de la insulina (108).

En otro caso, se evaluaron los efectos de la mangiferina y Vimang, el cual es un extracto acuoso de la corteza del tallo de la *Mangifera indica* (109), sobre diferentes parámetros de respuesta alérgica, los cuales revelaron una inhibición significativa dependiente de la dosis de la producción de inmunoglobulina E (IgE) en ratones y una reacción de anafilaxia en ratas, generando permeabilidad vascular inducida por histamina y de la respuesta

proliferativa de linfocitos como evidencia de la reducción de la cantidad de linfocitos B y T capaces de contribuir a la respuesta alérgica. En la investigación se utilizaron prometazina y cromoglicato disódico como fármacos de referencia. Se demostró que Vimang tuvo un efecto sobre un modelo *in vivo* de alergia inflamatoria mediada por mastocitos. Los resultados de las propiedades antialérgicas sugirieron que el extracto natural podría usarse con éxito en el tratamiento de trastornos alérgicos, en donde se le atribuyeron los efectos antialérgicos a la mangiferina, debido a que esta es el compuesto principal de Vimang, (110).

Tabla 2. Estudios de actividad biológica de la mangiferina

Actividad Biológica	Estudio	Resumen	Referencia
Antiinflamatoria	Mecanismo de acción protectora de la mangiferina sobre la supresión de la respuesta inflamatoria y la inestabilidad lisosómica en un modelo de rata de infarto de miocardio	Se investigo el efecto de la mangiferina sobre las hidrolasas lisosomales y la producción de TNF-alfa durante la necrosis miocárdica inducida por isoproterenol (ISPH) en ratas. La administración de ISPH a ratas dio como resultado una disminución de la estabilidad de las membranas, lo que se reflejó en la disminución de la actividad de la catepsina-D y la beta-glucuronidasa en las fracciones mitocondrial, nuclear, lisosomal y microsomal. Estos hallazgos demostraron que la mangiferina podría preservar la integridad lisosomal mediante la disminución del proceso inflamatorio.	(101)
Antitumoral	Efectos <i>in vitro</i> de la mangiferina sobre las concentraciones de superóxido y la expresión de la sintasa de óxido nítrico inducible, el factor de necrosis tumoral alfa y los genes del factor de crecimiento transformante beta	Se investigaron los efectos del polifenol mangiferina natural sobre la producción del anión superóxido, la actividad de la xantina oxidasa, la contractilidad vascular, los niveles de ARNm de óxido nítrico sintasa inducible, el factor de necrosis tumoral niveles de ARNm de -alfa y niveles de ARNm del factor de crecimiento tumoral beta. Los resultados indicaron que la mangiferina es un eliminador de O ₂ (-) y que inhibe la expresión de los genes iNOS y TNF-alfa, lo que sugiere que puede ser de valor potencial en el tratamiento de trastornos inflamatorios y / o	(102)

		neurodegenerativos.	
Antioxidante Analgésica	Actividades antioxidantes y analgésicas de los extractos de <i>Mangifera indica</i> L.	Se evaluó la actividad antioxidante de Extractos de <i>Mangifera indica</i> L, la actividad atrapadora de radicales libres del control fue mayor que la actividad de los diferentes extractos. Al igual que su actividad analgésica en extractos acuosos y etanólicos de corteza <i>Mangifera indica</i> L. Los resultados mostraron que los extractos presentan actividad analgésica. Por lo tanto, la corteza de <i>M. indica</i> L presenta actividad antioxidante y analgésica correlacionada con la presencia de polifenoles en todas las cortezas evaluadas.	(103)
Antialérgico	Propiedades antialérgicas del extracto de <i>Mangifera indica</i> L. (Vimang) y aporte de su glucosilxantona mangiferina	Se reportaron los efectos de Vimang y mangiferina aislada del extracto, sobre diferentes parámetros de respuesta alérgica. Vimang y mangiferina mostraron una inhibición dosis-dependiente significativa de la producción de IgE en ratones y reacción de anafilaxia en ratas. Los resultados expusieron que la mangiferina, el principal compuesto de Vimang, contribuye a los efectos antialérgicos del extracto. Además de sugerir que este extracto natural podría utilizarse con éxito en el tratamiento de trastornos alérgicos.	(110)
Antitrombótica	Actividad antiplaquetaria de extractos bioactivos naturales de mango (<i>Mangifera Indica</i> L.) y sus subproductos	Se exploraron los posibles efectos de la agregación antiplaquetaria de la pulpa de mango y sus subproductos (cáscara, cáscara de la semilla y semilla) debido a la presencia de compuestos bioactivos. La mangiferina mostró un efecto inhibitor del 31%, lo que sugirió su papel clave como uno de los principales contribuyentes a la actividad antiplaquetaria de la semilla de mango. Haciendo referencia a los resultados la semilla de mango podría postularse como una fuente natural de compuestos bioactivos con propiedades antiplaquetarias para diseñar alimentos funcionales o tratamientos terapéuticos complementarios.	(106)

Fuente: Elaboración propia Lineros, J. Sepúlveda, M. (2021)

En el estudio de Alañon del año 2019 (106), se destacó el posible uso de la semilla de mango como un coproducto natural prometedor con propiedades antiplaquetarias. Existen pocos antecedentes de este compuesto que muestre actividad antiplaquetaria por lo cual es necesario profundizar en el estudio de la mangiferina, ya que podría utilizarse como un medicamento farmacéutico o como un ingrediente alimentario funcional con aplicaciones terapéuticas para prevenir la agregación plaquetaria.

4. HIPÓTESIS

Mangiferina presenta actividad antiplaquetaria *in vitro* frente a diferentes agonistas plaquetarios, TRAP-6 y colágeno.

5. OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar la actividad antiplaquetaria *in vitro* de la mangiferina.

Objetivos específicos

- I. Evaluar el efecto inhibitorio de la mangiferina frente a diferentes agonistas plaquetarios (TRAP-6 y colágeno) por turbidimetría.

- II. Determinar la inhibición de la concentración media (IC_{50}) de la mangiferina sobre la agregación plaquetaria inducida por TRAP-6 y colágeno.

6. MATERIALES Y METODOS

6.1 Materiales

6.1.1 Reactivos

Ácido cítrico dextrosa (ACD) utilizado como anticoagulante para la toma de muestra proveniente de Genytec. Se utilizó colágeno y TRAP-6 como agonistas plaquetarios para los estudios de agregación plaquetaria (Sigma). La mangiferina, compuesto puro liofilizado, se adquirió comercialmente de Sigma-Aldrich y fue donado por la Dra. Lyanne Rodríguez. Buffer Tyrodes sin calcio para resuspender pellet de plaquetas (previamente preparado utilizando reactivos de Sigma).

6.2 Métodos

6.2.1 Preparación de la muestra de mangiferina

El compuesto fue pesado en la balanza analítica (Balanza analítica Sartorius CP224S), y se preparó una solución estándar a una concentración final de 25 μM . Para disolver el compuesto se utilizó dimetil sulfóxido (DMSO) a 0,2 % como solvente (111). Se homogenizó la solución durante 10 minutos en un baño ultrasónico (Baño ultrasónico As 3120, Auto Science, China). Se trabajó a diferentes concentraciones del estándar preparado (10, 20, 50, 100, 150, 200, 250 μM).

6.2.2 Obtención y preparación de plaquetas lavadas

Las muestras de sangre venosa se obtuvieron de voluntarios jóvenes sanos que firmaron previamente un consentimiento informado (112), donde se les explicó los aspectos de interés relacionados con la investigación, por ejemplo, la toma de muestra no implicaba ningún riesgo para su salud. Los mismos no debieron consumir fármacos, como AINE y antiplaquetarios en los últimos 7 días (113). Todos los procedimientos se realizaron siguiendo el protocolo aprobado por el Comité Ético Científico (CEC) de la Universidad de Talca, siguiendo la declaración de Helsinki (114).

Las muestras fueron extraídas desde la vena antecubital por flebotomía en una jeringa con anticoagulante ACD en una proporción de sangre: ACD (4:1). Posteriormente la muestra se distribuyó en tubos Falcon de 10 mL, volúmenes aproximados de 5 mL, luego fueron centrifugados a 1200 rpm por 10 minutos para obtener el plasma rico en plaquetas (PRP). A continuación, se extrajo el PRP y se traspasó a tubos Eppendorf de 1,5 mL, para luego centrifugar en microcentrífuga (Centrífuga digital, Eppendorf 5804, EE. UU.) a 3000 rpm por 8 minutos a una temperatura de 6 °C. Después, se eliminó el sobrenadante y se resuspendió el tapón plaquetario en el tampón Tyrodes sin calcio: ACD (9: 1), se homogenizó nuevamente las plaquetas y se centrifugó en las mismas condiciones antes escritas. Se descartó el sobrenadante dejando solamente el pellet de plaquetas y se resuspendió en TAF para realizar los estudios de agregación. El recuento de plaquetas se realizó en un contador hematológico (Bayer Advia 60 Hematology System, Tarrytown, NY, EE. UU.).

La información fue manejada únicamente por las tesisistas y tutores, para así garantizar la confidencialidad y/o anonimato en el tratamiento de las muestras. A la sangre tomada no se le realizó ningún experimento adicional que no estuviese relacionado con la funcionalidad plaquetaria. Las muestras fueron eliminadas una vez concluido el estudio según lo dispuesto en la resolución del citado CEC.

6.2.3 Actividad antiplaquetaria *in vitro*

La actividad antiagregante se evaluó midiendo la agregación plaquetaria mediante el método turbidimétrico descrito hace varios años (115, 116). Se utilizó un lumiagregómetro (Chrono-Log, Haverton, PA, EE.UU.). Las plaquetas lavadas (3×10^8 plaquetas/mL) se preincubaron a una temperatura estable de 37°C durante 5 minutos con CaCl_2 (2 mM) y el compuesto a $100 \mu\text{M}$ como ha sido descrito en estudios anteriores (117). La agregación plaquetaria se indujo con TRAP-6 $5 \mu\text{M}$ y colágeno $1 \mu\text{g/mL}$. El control negativo utilizado fue el disolvente DMSO (0,2 %). El porcentaje de agregación plaquetaria se obtuvo con el software AGGRO/LINK (Chrono-Log, Havertown, PA, EE. UU.). Los resultados se expresaron como porcentaje de agregación plaquetaria, área bajo la curva y pendiente.

6.2.4 Curvas concentración actividad (IC_{50})

Se realizaron estudios de agregación plaquetaria a diferentes concentraciones (10, 20, 50, 100, 150, 200 y $250 \mu\text{M}$). Se determinó el porcentaje de inhibición de la concentración al 50 % (IC_{50}) de la mangiferina sobre la agregación plaquetaria inducida por TRAP-6 $5 \mu\text{M}$ y colágeno $1 \mu\text{g/mL}$. IC_{50} fue calculado mediante las ecuaciones obtenidas a partir de curvas de respuestas a las diferentes concentraciones evaluadas. Se realizó una regresión lineal, basada en el porcentaje de inhibición y el log (molar) de cada concentración del compuesto para calcular la ecuación de la recta.

6.2.5 Análisis estadístico

Los datos obtenidos se analizaron utilizando el software Prism 8.0 (GraphPad Inc., San Diego CA, EE. UU.). Todos los datos proporcionados representan media \pm error estándar (SEM). Los resultados se expresaron como porcentaje de agregación e inhibición de la agregación plaquetaria. IC_{50} se calculó a partir de curvas de respuesta a diferentes

concentraciones. Los resultados de las distintas muestras de los voluntarios se sometieron al análisis de varianza unidireccional (ANOVA) utilizando la prueba post-hoc de Tukey para determinar las diferencias significativas entre las muestras. $p < 0,05$ se consideró estadísticamente significativo (118).

7. RESULTADOS

7.1 Efecto inhibitorio de la mangiferina frente a diferentes agonistas plaquetarios (TRAP-6 y colágeno) por turbidimetría.

El estudio de agregación plaquetaria se realizó utilizando el compuesto disuelto en DMSO 0,2 %. La agregación plaquetaria se estimuló con TRAP-6 y colágeno, agonistas que actúan sobre diferentes vías de activación plaquetaria. Posteriormente, mediante el ensayo turbidimétrico utilizando el software AGGRO/LINK se determinó el área bajo la curva y la pendiente, en conjunto con el porcentaje de agregación (Tabla 3). El control negativo fue DMSO 0,2%.

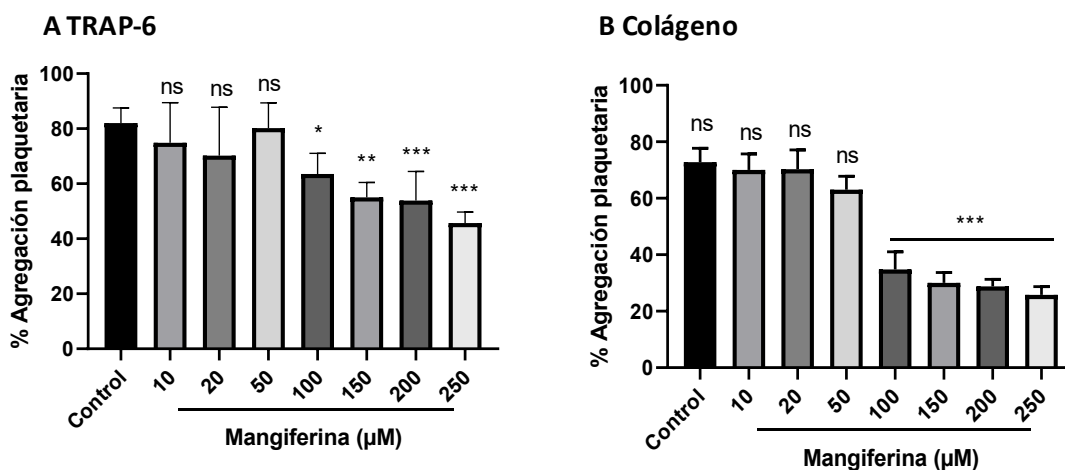
Los porcentajes de inhibición de la agregación plaquetaria de la mangiferina se calculó mediante la ecuación: $[100 - (\text{Porcentaje de agregación plaquetaria del compuesto} / \text{agregación plaquetaria del control negativo} * 100)]$ y se muestra en la tabla 4.

Tabla 3. Actividad antiplaquetaria de mangiferina.

Mangiferina (μM)	TRAP-6			Colágeno		
	PA (%)	AUC	S	PA (%)	AUC	S
10	76,33 \pm 2,08 ^{ns}	367,85 \pm 18,27 ^{ns}	84,83 \pm 2,01 [*]	70,00 \pm 1,43 ^{ns}	278,35 \pm 23,68 ^{ns}	66,50 \pm 4,78 ^{ns}
20	75,50 \pm 1,54 ^{ns}	303,37 \pm 14,99 ^{**}	92,50 \pm 3,88 ^{ns}	70,25 \pm 1,71 ^{ns}	285,65 \pm 17,40 ^{ns}	63,75 \pm 3,36 ^{ns}
50	72,17 \pm 2,32 ^{ns}	350,57 \pm 12,15 ^{ns}	77,33 \pm 1,83 ^{**}	63,00 \pm 1,21 ^{ns}	260,20 \pm 16,16 ^{ns}	72,25 \pm 6,14 ^{ns}
100	60,17 \pm 0,95 [*]	240,43 \pm 8,14 ^{***}	64,33 \pm 4,62 ^{***}	34,75 \pm 1,57 ^{***}	174,00 \pm 11,99 ^{**}	46,75 \pm 3,13 ^{***}
150	50,33 \pm 0,98 ^{**}	257,65 \pm 5,28 ^{***}	72,67 \pm 2,33 ^{***}	30,00 \pm 0,94 ^{***}	131,73 \pm 17,69 ^{***}	73,33 \pm 5,47 ^{ns}
200	46,83 \pm 1,02 ^{***}	243,12 \pm 9,73 ^{***}	60,83 \pm 2,28 ^{***}	28,75 \pm 0,63 ^{***}	124,23 \pm 16,51 ^{***}	66,30 \pm 4,90 ^{ns}
250	43,00 \pm 0,84 ^{***}	218,38 \pm 4,70 ^{***}	58,00 \pm 2,94 ^{***}	25,75 \pm 0,75 ^{***}	125,43 \pm 11,37 ^{***}	47,00 \pm 4,34 ^{***}
Control	85,00 \pm 2,08	371,83 \pm 16,64	104,50 \pm 9,07	72,80 \pm 1,25	286,20 \pm 22,17	76,25 \pm 5,18

Los resultados se expresaron como media \pm SEM con un $n = 6$. Los datos se analizaron mediante ANOVA de una vía. Los análisis post hoc se realizaron utilizando la prueba de Tukey, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ y *** $p < 0,001$ denota diferencias estadísticamente significativas en comparación con el control negativo ns: denota diferencias no estadísticas respecto al control. **PA**: porcentaje de agregación plaquetaria, **AUC**: área bajo la curva, **S**: slope/pendiente.

La mangiferina a diferentes concentraciones presentaron diferencias en la actividad antiplaquetaria según el agonista utilizado (Figura 11). La agregación plaquetaria desencadenada por el agonista TRAP-6, demostró resultados estadísticamente significativos con respecto al control negativo en las concentraciones 100 μM , 150 μM , 200 μM y 250 μM . Cuando la agregación plaquetaria se estimuló con el agonista colágeno, la mangiferina mostró mayor potencial antiplaquetario hasta 100 μM . Se mostró que la actividad es dependiente de la concentración y cuando disminuye la concentración se pierde significativamente el potencial antiplaquetario.



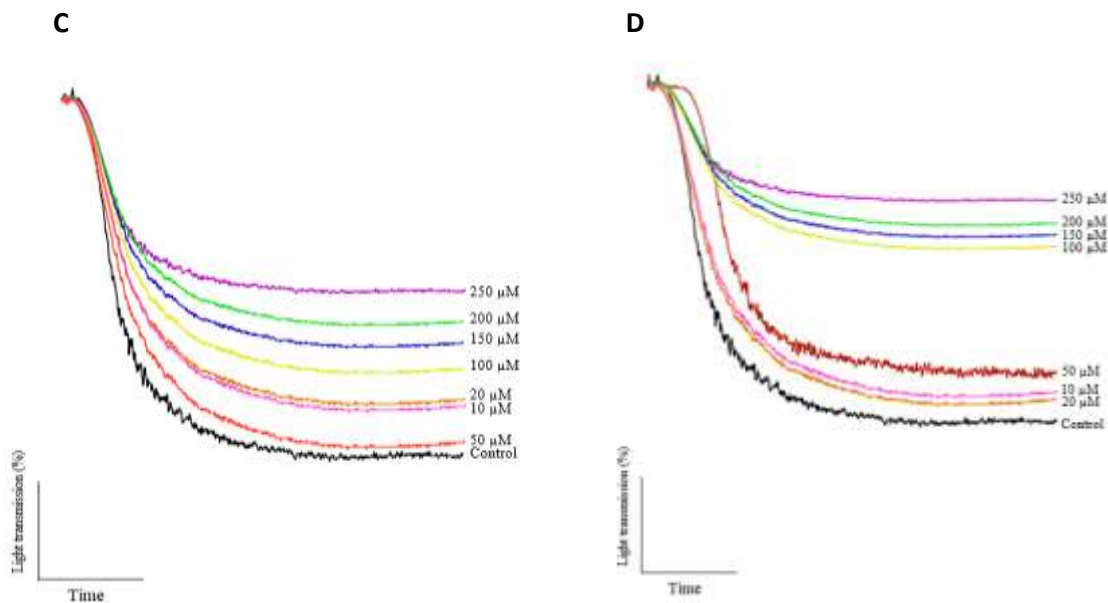


Figura 10. Estudio de la actividad antiplaquetaria de mangiferina frente al agonista TRAP-6 (A, C) y colágeno (B, D). Las plaquetas lavadas se preincubaron a 37 °C durante 3 minutos con el compuesto evaluado a diferentes concentraciones (10, 20, 50, 100, 150, 200, 250 μ M), para iniciar la agregación plaquetaria se estimuló con los agonistas durante 6 minutos. El control negativo se preincubó en ausencia del compuesto (A, B, C, D). Gráfico de barras de agregación plaquetaria máxima expresada como porcentaje (media \pm SEM; n=6). Los datos se analizaron utilizando ANOVA de una vía. * p <0,05, ** p <0,01 y *** p <0,001 denota diferencias estadísticamente significativas con el control. ns: denota diferencias no estadísticas respecto al control. Curvas representativas de agregación plaquetaria estimulada por TRAP-6 y colágeno (C, D). SEM: error estándar, TRAP-6: Péptido activador del receptor de trombina-6.

7.2 IC₅₀ de la mangiferina sobre la agregación plaquetaria inducida por TRAP-6 y colágeno.

Los resultados obtenidos mediante el ensayo de agregación plaquetaria inducida por TRAP-6 y colágeno frente a la mangiferina a diferentes concentraciones, evidenciaron que la inhibición de la agregación plaquetaria depende de la concentración. Se obtuvo un IC₅₀

de $276,83 \pm 26,76$ y $136,06 \pm 9,28$, cuando se utilizó como agonista TRAP-6 y colágeno, respectivamente (Tabla 4).

Tabla 4. IC₅₀ de la mangiferina a diferentes concentraciones.

Compuesto mangiferina	TRAP-6 (5 μM)		Colágeno (1 μg/mL)	
	PI (%)	IC ₅₀ (μM)	PI (%)	IC ₅₀ (μM)
10 μM	9,82±1,69**		3,83±0,55 ^{ns}	
20 μM	10,63±1,25**		3,53±1,06 ^{ns}	
50 μM	15,02±1,99***		13,43±0,23***	
100 μM	27,47±2,56***	276,83±26,76	51,79±2,75***	136,06±9,28
150 μM	40,13±1,33***		58,54±1,66***	
200 μM	44,39±1,14***		60,29±1,26***	
250 μM	48,11±2,01***		64,43±1,33***	

Los resultados se expresaron como media ± SEM, n = 6. Los datos se analizaron mediante ANOVA de una vía. Los análisis post hoc se realizaron utilizando la prueba de Tukey, ** p <0,01 y *** p <0,001 denota diferencias estadísticamente significativas en comparación con el control negativo ns: denota diferencias no estadísticas respecto al control. **PI:** porcentaje de inhibición **IC₅₀:** concentración máxima inhibitoria **TRAP-6:** péptido activador del receptor de trombina 6

8. DISCUSIÓN

Las plaquetas son las células sanguíneas más pequeñas, desempeñan un papel fundamental en la hemostasia, cuando ocurre un daño vascular estas se activan y forman un trombo (119). Se requiere la inhibición de la activación plaquetaria como tratamiento para prevenir la trombosis asociada a la activación de las plaquetas (120). A nivel mundial, existen distintos antiplaquetarios muy conocidos para el manejo en pacientes con riesgos cardiovasculares, sin embargo en casos aislados estos pacientes persisten con problemas trombóticos, llegando incluso a padecer hemorragias (121). Es por ello, que en los últimos años se ha fomentado la búsqueda de nuevos fármacos antiplaquetarios en base a compuestos activos de alimentos que se puedan integrar fácilmente en la dieta, ejerciendo actividad antiplaquetaria, sin presentar además los efectos adversos de los medicamentos utilizados comúnmente. Por lo cual, es vital una prevención primaria, donde una nutrición adecuada y un estilo de vida saludable ejercen un efecto protector para reducir el riesgo trombótico (122).

Los suplementos alimenticios y/o farmacéuticos se han convertido en alternativas atractivas para reducir los FRCV (123). Algunas enfermedades no transmisibles, entre ellas las ECV, podrían prevenirse mejorando el estilo de vida de la población, lo que incluye el consumo de una dieta saludable (124). Estudios han destacado la importancia de los antioxidantes naturales presentes en los vegetales, con el fin de brindar protección cardiovascular (125). En este contexto ha destacado la especie *Mangifera indica L.*, aunque son escasos los reportes de actividad antiplaquetaria en esta especie, sus bondades medicinales se han utilizado por más de 400 años por médicos e indígenas.

El empleo de extractos de *Mangifera indica L.* (hojas y tallo) ha sido descrito en la medicina tradicional como analgésico para el tratamiento de dolores dentales y musculares, afecciones inflamatorias y anemia (126). Existe conocimiento etnomédico documentado de

varios países (127) y en particular, de la experiencia acumulada durante más de 20 años en la población cubana (128, 129). Los efectos biológicos atribuidos a *Mangifera indica* L. están relacionados con la presencia de importantes compuestos fenólicos presentes en diferentes órganos de esta especie. Los polifenoles constituyen uno de los componentes fundamentales y mayoritarios. Estos compuestos son un grupo de fitoquímicos que se consideran potentes antioxidantes, que poseen anillos aromáticos de benceno con uno o más grupos hidroxilos, este grupo incluye a los flavonoides, ácidos fenólicos, proantocianidinas, taninos, resveratrol, entre otros (130). Su actividad antioxidante se debe a su estructura química y a la presencia de anillos aromáticos y grupos hidroxilos, esto implica la deslocalización de los electrones y permite a los polifenoles reaccionar con los radicales libres, donándoles electrones y transformándose con esto en radicales intermedios más estables y menos reactivos, que ya no causan daño a las macromoléculas. También tienen la capacidad de quelar iones metálicos y donar protones (131). Las xantonas son importantes fitonutrientes con potentes propiedades antioxidantes que pertenecen a la clase de los bioflavonoides, son una familia de moléculas biológicamente activas que poseen propiedades específicas como ser los más poderosos antioxidantes de la naturaleza, fortalecen el sistema inmunológico, provocan la apoptosis, y fortalecen las funciones vitales del organismo estimulando su regeneración (132).

Numerosos estudios *in vitro* e *in vivo* de diferentes laboratorios, análisis epidemiológicos y algunos ensayos clínicos en humanos confirman la utilidad de los polifenoles en la prevención y terapia de enfermedades asociadas a la existencia de un estrés oxidativo (133). Dicha capacidad se asocia con sus propiedades protectoras frente a enfermedades cardiovasculares, algunas formas de cáncer, fotosensibilidad y el envejecimiento.

Estudios experimentales han revelado que la agregación plaquetaria está asociada con producción de ROS (134, 135). Las plaquetas producen ROS cuando están en reposo y también cuando se exponen a moléculas activadoras (agonistas) como colágeno, trombina, o ADP (136). Estas especies externamente regulan la biodisponibilidad de moléculas

inhibidoras de la agregación y a nivel intracelular constituyen segundos mensajeros que median procesos de señalización (137). Es en el proceso de activación en el cual ROS endógenas tienen mayor relevancia, ya que participan como mediadoras en el proceso de granulación, en el que se liberan moléculas al medio para amplificar la señal de agregación, asegurar una correcta formación del trombo y así evitar el sangrado por ruptura de un vaso sanguíneo (138, 139). Por otro lado, la disfunción mitocondrial plaquetaria es una fuente importante de ROS, que contribuye potencialmente a la activación y finalmente la apoptosis de las plaquetas. La inhibición de los complejos I y/o V en las mitocondrias plaquetarias desencadenan el inicio de la apoptosis en estas células, debido al aumento de producción de ROS mitocondrial (140). Cuando el sistema antioxidante plaquetario se desequilibra por una excesiva producción de ROS, las células se vuelven hiperreactivas, generando tendencia a producir trombosis, por ello, la modulación del estado redox intraplaquetario se considera una etapa crítica para la función plaquetaria (141). Adicionalmente, este exceso también se considera como un mecanismo clave responsable de la mala respuesta a los fármacos antiagregantes plaquetarios (142). La inhibición de la disfunción mitocondrial plaquetaria podría potencialmente utilizarse como una nueva estrategia para el desarrollo de fármacos con actividad antiplaquetaria.

La mangiferina es el componente mayoritario de esta especie, como hemos referido. En la literatura se reporta que posee potente actividad antioxidante, lo que se ha relacionado con la capacidad que tiene este compuesto para atrapar el oxígeno singlete, especie radical de oxígeno de alta reactividad (143, 144). Posee además actividad inmunomoduladora, antiinflamatoria, analgésica, antiviral, antitumoral e hipoglicemiante (99, 145, 146). Se conoce que el síndrome metabólico es un FRCV dentro del cual entran distintas afecciones que van a contribuir al daño cardiovascular, como la hipertensión, DM y la obesidad. Si bien es necesario un tratamiento o dieta, para estos padecimientos, se ha demostrado en los estudios antes mencionados, que la mangiferina influye de manera positiva en la reducción de estos FRCV (147).

En un estudio publicado recientemente (106), se evaluaron subproductos del mango, en donde se demostró que la semilla de este presentó una inhibición del 72% de la agregación plaquetaria. Se realizó una caracterización fenólica de esta especie y se encontró que era rica en varios compuestos de diferente naturaleza y estructura, destacando dentro de esta lista la mangiferina que era el compuesto mayoritario de la semilla, atribuyéndose a este compuesto principalmente el efecto inhibitorio. Por lo cual, en este estudio se quiso profundizar en el estudio antiplaquetario de este compuesto, ya que son escasos los antecedentes a la fecha del potencial antiplaquetario que posee la mangiferina. Por lo antes mencionado, sería de gran relevancia la incorporación en nuestra dieta de alimentos ricos en mangiferina para el tratamiento o prevención de ECV.

La xantona en estudio inhibió la agregación plaquetaria dependiente de la concentración, actuando sobre las vías de transducción de señales inducidas por colágeno ($IC_{50}=136,06\pm 9,28$) y TRAP-6 ($IC_{50}=276,83\pm 26,76$). Este último actúa como agonista del receptor activado por proteasa 1 (PAR-1) (148, 149), mientras que la GPVI es el principal receptor de colágeno en la activación plaquetaria. La adición de TRAP-6 a las plaquetas provoca una respuesta de activación muy fuerte a la trombina sin las complicaciones de la ruptura del fibrinógeno y la formación de coágulos. La agregación plaquetaria inducida por colágeno por lo general refleja una fase de retraso de aproximadamente 1 minuto, durante la cual las plaquetas se adhieren a las fibras de colágeno experimentando cambios de forma, para luego ser liberadas (58, 150). Los resultados de la agregación plaquetaria mostraron que el compuesto inhibe mayormente la agregación plaquetaria estimulada por colágeno. Se ha descrito que, como parte del proceso inflamatorio de la aterotrombosis, existe algún nivel de exposición al colágeno asociado al daño endotelial, lo que, entre otros aspectos, favorece la adhesión de plaquetas circulantes a través de GPVI (135, 151). Los resultados sugieren que el tratamiento de las plaquetas con mangiferina regula la vía de señalización mediada por GPVI (135, 152). Otros autores encontraron que la presencia de flavonoides en otros frutos como el maqui, el cebollín, hinojo, almendras, entre otros, inhiben la función plaquetaria (secreción de gránulos, activación de la integrina, movilización de

calcio y fosforilación de proteínas de señalización aguas abajo de GPVI (153) al igual que la mangiferina.

9. CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos en esta investigación mostraron que la mangiferina podría postularse como un compuesto bioactivo con propiedades antiplaquetarias para diseñar alimentos funcionales o fármacos terapéuticos complementarios para el tratamiento de ECV. Sin embargo, estos hallazgos difícilmente se pueden comparar con otros debido a la escasa bibliografía sobre la actividad antiplaquetaria de los subproductos del mango, en este caso la mangiferina.

Se requieren estudios adicionales *in vitro* como activación y secreción plaquetaria, entre otros para evaluar el potencial antiplaquetario de la mangiferina.

10. REFERENCIAS

1. Bustos M P, Amigo C H, Arteaga L I A, Acosta B A M, Rona R J. Factores de riesgo de enfermedad cardiovascular en adultos jóvenes. Revista médica de Chile. 2003;131:973-80.
2. OMS OMDIS. Enfermedades Cardiovasculares 2017 [cited 2020 08 de agosto]. Available from: [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds)).
3. OMS OMDIS. Plan de acción para la prevención y el control de las enfermedades no transmisibles en las Américas 2013-2019. 2014.
4. Federation WH. Premature mortality due to CVD 2012 [Available from: <http://cvdworldmonitor.org/targets/premature-mortality-due-to-cvd/>].
5. DEIS DdEeIdS. Estadísticas de defunciones por causa básica de muerte. 2021.
6. MINSAL MdS, DEIS DdEeIdS. Indicadores Básicos de Salud 2019 [Available from: https://public.tableau.com/profile/deis4231#!/vizhome/DefuncionesSemanales1_0/].
7. MINSAL. Implementación del enfoque de riesgo en el programa de salud cardiovascular. 2009.
8. MINSAL. Orientación técnica programa de salud cardiovascular. 2017.
9. Fuentes J. Caracterización de los pacientes crónicos cardiovasculares bajo control "existencia" desde los 20 años y más, de la región del Maule, Talca. Chile. Portales Médicos. 2019.
10. MINSAL. Guía Clínica Examen de Medicina Preventiva. 2013.
11. Maule SdSd. Cuida tu vida, cuida tu corazón. 2021.
12. Silva F, Zarruk J, Quintero C, Arenas W, Rueda-Clausen C, Silva S, et al. Enfermedad cerebrovascular en Colombia. Revista Colombiana de Cardiología. 2006;13:85.
13. Forés R, Alzamora M, Baena J, Pera G, Torán P, Ingla J. Infradiagnóstico de la arteriopatía periférica en la población española. Estudio ARTPER. Medicina Clínica. 2010;135(7):306-9.

14. Villa-Forte A, Mandell B. Trastornos cardiovasculares y enfermedad reumática. *Revista Española de Cardiología*. 2011;64(9):809-17.
15. Viñals F, Giuliano A. Cardiopatías congénitas: Incidencia antenatal. *Revista chilena de obstetricia y ginecología*. 2002;67:203-6.
16. Weinmann E, Salzman E. Trombosis venosa profunda. *Revista Cubana de Medicina*. 1996;35:118-35.
17. Lobos J, Martell N, Mata P, Vázquez J, Morchón S. Guía para el manejo del riesgo cardiovascular 2010 [Available from: https://www.pfizer.es/salud/servicios/publicaciones/guia_manejo_riesgo_cardiovascular.html].
18. Lobos J, Brotons C. Factores de riesgo cardiovascular y atención primaria: evaluación e intervención. *Atención Primaria*. 2011;43(12):668-77.
19. Ministerio de Sanidad y C. 1st conference on health prevention and promotion in clinical practice in Spain. *Cardiovascular prevention. Atención primaria*. 2008;40(9):473-4.
20. MINSAL Mds. Encuesta Nacional de Salud 2016-2017. 2017.
21. Leiva AM, Martínez MA, Cristi-Montero C, Salas C, Ramírez-Campillo R, Díaz Martínez X, et al. El sedentarismo se asocia a un incremento de factores de riesgo cardiovascular y metabólicos independiente de los niveles de actividad física. *Revista médica de Chile*. 2017;145:458-67.
22. Lane D, Mannucci P, Bauer K, Bertina R, Bochkov N, Boulyjenkov V, et al. Inherited thrombophilia: Part 1. *Thrombosis and haemostasis*. 1996;76:651-62.
23. Pereira J. Trombofilia y trombosis arterial. *Revista Chilena de Cardiología*. 2007;26:97-103.
24. Flores N. Endotelina-1: vasoconstrictor intrínseco del endotelio vascular. *Revista Med*. 2013;21(2):42-56.
25. Martínez M, López B, Parra I. Pruebas de laboratorio para la evaluación de la función de las plaquetas. *Rev Mex Patol Clin Med Lab*. 2015;62:245-52.
26. Hernández E, Zavala C, Quintana S, Reyes E. Enfermedad de von Willebrand, biología molecular y diagnóstico. *Cirugía y Cirujanos*. 2015;83(3):255-64.
27. Flores O, Ramírez K, Meza J, et al. Fisiología de la coagulación. *Rev Mex Anest*. 2014;37:382-7.

28. Delgado C. Patología vascular. Universidad de Concepción 2018.
29. Chuaqui B, González S. Manual de Patología General. Universidad Católica de Chile 2017.
30. García M, Coma C. Características estructurales y funcionales de las plaquetas. Revista Cubana de Angiología y Cirugía Vascular. 2000;1:132-41.
31. González A, Falcón C, Fortoul T. Vías de señalización implicadas en la megacariopoyesis. Gaceta médica de México. 2010;146(2):136-43.
32. Lefrançais E, Ortiz-Muñoz G, Caudrillier A, Mallavia B, Liu F, Sayah DM, et al. The lung is a site of platelet biogenesis and a reservoir for haematopoietic progenitors. Nature. 2017;544(7648):105-9.
33. González A, Bizarro P, Rojas M, López N, Ustarroz M, Barbosa F, et al. El megacariocito: una célula muy original. Revista de la Facultad de Medicina (México). 2019;62:6-18.
34. Campuzano G. Inhibidores del receptor plaquetario P2Y12. Parte 1 de 2: escenario de acción, farmacología, aplicación clínica y limitaciones de su uso. Medicina y Laboratorio. 2017;23(1-2):13-44.
35. Manne B, Xiang S, Rondina M. Platelet secretion in inflammatory and infectious diseases. Platelets. 2017;28:155-64.
36. López A, Macaya C. Plaqueta: fisiología de la activación y la inhibición. Revista Española de Cardiología. 2013;13:2-7.
37. Layne K, Ferro A. Antiplatelet Therapy in Acute Coronary Syndrome. Eur Cardiol. 2017;12:33-7.
38. Airasca AL. Biología de las plaquetas: características funcionales y estructurales. : Universidad Católica de Córdoba 2020.
39. Longo DL, Kasper D, Fauci A, Hauser S, Longo D, Jameson JL, et al. Atlas de hematología y análisis de frotis de sangre periférica. Harrison Principios de Medicina Interna, 19e. New York, NY: McGraw-Hill Education; 2019.
40. Campuzano G. Utilidad clínica del extendido de sangre periférica: los eritrocitos. Medicina & Laboratorio. 2008;14:311-57.
41. Sharathkumar AA, Shapiro AD. Trastornos de la función plaquetaria Quebec 2008.

42. Palomo I, Pereira J, Palma J. Hematología- Fisiopatología y Diagnóstico 2005. 462-4 p.
43. Mehta J, Mehta P, Krop I, Lawson D. The primary wave of epinephrine-induced platelet aggregation represents alpha2-adrenoceptor status. *Thrombosis Research*. 1988;49(6):531-7.
44. Klinger MH. The storage lesion of platelets: ultrastructural and functional aspects. *Ann Hematol*. 1996;73(3):103-12.
45. Schwartz A, Martínez-Sánchez G, Re L. Factores de crecimiento derivados de plaquetas y sus aplicaciones en medicina regenerativa. Potencialidades del uso del ozono como activador. 2012;1.
46. Nazar C, Contreras JI, Molina I, Fuentes R. Manejo perioperatorio de pacientes usuarios de antiagregantes plaquetarios. *Revista chilena de cirugía*. 2018;70:291-9.
47. Fernández J, García F, Gómez M, Ramírez P, Rodríguez V, Sánchez E, et al. *Manual de Procedimientos de Enfermería en Hemodinámica y Cardiología Intervencionista*. Madrid: Asociación Española de Enfermería en Cardiología.; 2014. p. 539.
48. Badimon L, Vilahur G. Mecanismos de acción de los diferentes agentes antiplaquetarios. *Revista Española de Cardiología Suplementos*. 2013;13:8-15.
49. Patrono C, Bachmann F, Baigent C, Bode C, De Caterina R, Charbonnier B, et al. Documento de Consenso de Expertos sobre el uso de agentes antiplaquetarios. *Revista Española de Cardiología*. 2004;57(10):963-80.
50. von Bruchhausen F, Walter U. *Platelets and Their Factors*: Springer Berlin Heidelberg; 2012.
51. Gómez-Gómez B, Rodríguez-Weber FL, Díaz-Greene EJ. Fisiología plaquetaria, agregometría plaquetaria y su utilidad clínica. *Medicina interna de México*. 2018;34:244-63.
52. López Farré A, Macaya C. Plaqueta: fisiología de la activación y la inhibición. *Revista Española de Cardiología*. 2013;13:2-7.
53. Ruggeri Z. Platelets in atherothrombosis. *Nat Med*. 2002;8(1078-8956 (Print)):1227-34.

54. Pulcinelli F, Pignatelli P, Celestini A, Riondino S, Gazzaniga P, Violi F. Inhibition of platelet aggregation by aspirin progressively decreases in long-term treated patients. *J Am Coll Cardiol.* 2004;43:979-84.
55. Awidi A, Maqablah A, Dweik M, Bsoul N, Abu-Khader A. Comparison of platelet aggregation using light transmission and multiple electrode aggregometry in Glanzmann thrombasthenia. *Platelets.* 2009;20:297-301.
56. Halimeh S, Angelis G, Sander A, Edelbusch C, Rott H, Thedieck S, et al. Multiplate whole blood impedance point of care aggregometry: preliminary reference values in healthy infants, children and adolescents. *Klin Padiatr.* 2010;222:158-63.
57. Badimón L, Vilahur G, Padró T. Lipoproteínas, plaquetas y aterotrombosis. *Revista Española de Cardiología.* 2009;62(10):1161-78.
58. Jennings L, White M, Michelson A. Chapter 26 - Platelet Aggregation. *Platelets (Second Edition).* Burlington: Academic Press; 2007. p. 495-507.
59. Kahn ML, Zheng Y-W, Huang W, Bigornia V, Zeng D, Moff S, et al. A dual thrombin receptor system for platelet activation. *Nature.* 1998;394(6694):690-4.
60. Desch S, Siegemund A, Scholz U, Adam N, Eitel I, de Waha S, et al. Platelet inhibition and GP IIb/IIIa receptor occupancy by intracoronary versus intravenous bolus administration of abciximab in patients with ST-elevation myocardial infarction. *Clin Res Cardiol.* 2012;101:117-24.
61. Nazar J C, Contreras C JI, Molina P I, Fuentes H R. Manejo perioperatorio de pacientes usuarios de antiagregantes plaquetarios. *Revista chilena de cirugía.* 2018;70:291-9.
62. Patrono C. Aspirin as an antiplatelet drug. *N Engl J Med.* 1994;330(18):1287-94.
63. Savi P, Zacharyus J, Delesque-Touchard N, Labouret C, Hervé C, Uzabiaga M, et al. The active metabolite of Clopidogrel disrupts P2Y12 receptor oligomers and partitions them out of lipid rafts. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2006;103:11069-74.
64. Kleiman N. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of glycoprotein IIb-IIIa inhibitors. *Am Heart J.* 1999;138:263-74.
65. Heras S. Estudio de grado de antiagregación plaquetaria en pacientes portadores de stent farmacológico y su relación con la evolución clínica y valor pronóstico. Alicante: Universidad Miguel Hernández; 2017.

66. Clinic M. Terapia de aspirina diaria: ventajas y riesgos 2014 [Available from: <https://newsnetwork.mayoclinic.org/discussion/terapia-de-aspirina-diaria-entender-sus-ventajas-y-riesgos/>].
67. Chaves L. Antiplaquetarios. Revista Costarricense de Cardiología. 2012;14:21-5.
68. Moreno M. Tolerabilidad de Aspirina. Revista de la Sociedad Española del Dolor. 2005;12:357-72.
69. Molina V, Arruzazabala L, Carbajal D, Más R. Farmacología de los agentes antiagregantes plaquetarios. Revista CENIC Ciencias Biológicas. 2005;36(1):3-12.
70. Chile L. Dipyridamol 2016 [Available from: <https://www.laboratoriochile.cl/wp-content/uploads/2016/07/Dipyridamol.pdf>].
71. Pediatría AEd. Dipyridamol. 2015.
72. FDA FaDA. Evaluación de la FDA determina que el tratamiento prolongado con el medicamento anticoagulante clopidogrel no altera el riesgo de muerte. 2016.
73. medicamentos AEd. Ficha tecnica del producto: Clopidogrel. 2009.
74. Chile L. Clopidogrel. 2015.
75. Foster RH, Wiseman LR. Abciximab. An updated review of its use in ischaemic heart disease. (0012-6667 (Print)).
76. Molina D, Campos M, Núñez A. Historia de los anticoagulantes y su uso clínico en el presente. Revista Medica Sinergia. 2020;5(2):365.
77. Biológico IQ. Vademecum: Abciximab. 2012.
78. Carril E, García A. Metabolismo secundario de plantas. REDUCA. 2011;2:119-45.
79. Waizel J, Waizel S, Revilla F. Los productos herbolarios, la coagulación sanguínea y la cirugía otorrinolaringológica. Otorrinolaringología. 2017;62:115-42.
80. Borges F, Roleira F, Milhazes N, Santana L, Uriarte E. Simple coumarins and analogues in medicinal chemistry: occurrence, synthesis and biological activity. Current Medicinal Chemistry. 2005;12:887-916.
81. Durić K, Kovac E, Niksic H, Muratovic S, Sofic E. Anticoagulant activity of some Artemisia dracunculoides leaf extracts. Bosnian Journal of Basic Medical Sciences. 2015;15:9-14.
82. Vicente L, Prieto M, Morales A. Eficacia y seguridad de la quercetina como complemento alimenticio. Revista de Toxicología. 2013;30(2):171-81.

83. Behling E, Sendão M, Francescato H, Antunes L, Bianchi ML. Flavonóide quercetina: aspectos gerais e ações biológicas. *Alimentos e Nutrição*. 2008;15.
84. Muchiri D, Mahungu S, Gituanja S. Studies on Mango (*Mangifera indica*, L.) Kernel Fat of Some Kenyan Varieties in Meru. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 2012;89(9):1567-75.
85. Cárdenas W, Velez R, Siller J, Osuna T, Muy M, Sañudo J. Cambios en la composición de almidón, pectinas y hemicelulosas durante la maduración de mango (*Mangifera indica* cv. Kent). *Revista Chapingo Serie horticultura*. 2012;18:05-19.
86. Ballinas E, Vela G, López E, Aguilar O, Caballero A, Meza P, et al. Mango: Cultivo, tratamiento pre y postcosecha, Propiedades nutrimentales y funcionales 2013.
87. Sampaio S, Bora P, Holschuh H, Silva S. Postharvest respiratory activity and changes in some chemical constituents during maturation of yellow mombin (*Spondias mombin*) fruit. *Food Science and Technology*. 2007;27:511-5.
88. Maldonado Y, Alia I, Núñez C, Jiménez J, Pelayo C, López V, et al. Postharvest physiology and technology of *Spondias purpurea* L. and *S. mombin* L. *Scientia Horticulturae*. 2014;174:193-206.
89. Robles RM, Rojas MA, Odriozola I, González G, Martín O. Influence of alginate-based edible coating as carrier of antibrowning agents on bioactive compounds and antioxidant activity in fresh-cut Kent mangoes. *LWT - Food Science and Technology*. 2013;50(1):240-6.
90. Anjaneyulu V, Parvataneni R. The triterpenoids and steroids from *Mangifera indica* Linn. *Indian Journal of Chemistry - Section B Organic and Medicinal Chemistry*. 2000;39:883-93.
91. Khurana RK, Gaspar BL, Welsby G, Katare OP, Singh KK, Singh B. Improving the biopharmaceutical attributes of mangiferin using vitamin E-TPGS co-loaded self-assembled phospholipidic nano-mixed micellar systems. *Drug Deliv Transl Res*. 2018;8(3):617-32.
92. Imran M, Arshad MS, Butt MS, Kwon JH, Arshad MU, Sultan MT. Mangiferin: a natural miracle bioactive compound against lifestyle related disorders. *Lipids Health Dis*. 2017;16(1):84.

93. Acosta J, Sevilla I, Salomon S, Nuevas L, Romero A, Amaro D. Determination of mangiferin solubility in solvents used in the biopharmaceutical industry. *Pharm Pharmacogn Res.* 2016;4:49-53.
94. Atta ur R, Nasim S, Baig I, Orhan I, Sener B, Ayanoglu F, et al. Isoflavonoid Glycosides from the Rhizomes of *Iris germanica*. *Helvetica Chimica Acta.* 2003;86(10):3354-62.
95. Atta-ur-Rahman, Hareem S, Iqbal M, Sener B, Abbaskhan A, Siddiqui H, et al. New and Known Constituents from *Iris unguicularis* and Their Antioxidant Activity. *Heterocycles.* 2010;82:813-24.
96. Miura T, Ichiki H, Hashimoto I, Iwamoto N, Kato M, Kubo M, et al. Antidiabetic activity of a xanthone compound, mangiferin. *Phytomedicine.* 2001;8:85-7.
97. Dar A, Faizi S, Naqvi S, Roome T, Zikr-ur-Rehman S, Ali M, et al. Analgesic and Antioxidant Activity of Mangiferin and Its Derivatives: the Structure Activity Relationship. *Biological and Pharmaceutical Bulletin.* 2005;28(4):596-600.
98. Freddy FL, Pulido D AP. Extracción, purificación y cuantificación de mangiferina en la corteza de algunos cultivares de mango (*Mangifera indica* L.). *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas.* 2016;10:292-300.
99. Scartezzini P, Speroni E. Review on some plants of Indian traditional medicine with antioxidant activity. *J Ethnopharmacol.* 2000;71(1-2):23-43.
100. Forero F, Pulido A. Extracción, purificación y cuantificación de mangiferina en la corteza de algunos cultivares de mango (*Mangifera indica* L.). *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas.* 2016;10:292-300.
101. Prabhu S, Narayan S, Devi CS. Mechanism of protective action of mangiferin on suppression of inflammatory response and lysosomal instability in rat model of myocardial infarction. *Phytother Res.* 2009;23(6):756-60.
102. Leiro JM, Álvarez E, Arranz JA, Siso IG, Orallo F. In vitro effects of mangiferin on superoxide concentrations and expression of the inducible nitric oxide synthase, tumour necrosis factor- α and transforming growth factor- β genes. *Biochemical Pharmacology.* 2003;65(8):1361-71.

103. Benites J, López J, Kusch F, Gajardo S, Jorquera G, Salazar G. Actividad antioxidante, antibacteriana y analgésica de extractos de *Mangifera indica* L. *Biofarbo*. 2010;18.
104. Muruganandan S, Srinivasan K, Gupta S, Gupta PK, Lal J. Effect of mangiferin on hyperglycemia and atherogenicity in streptozotocin diabetic rats. *J Ethnopharmacol*. 2005;97(3):497-501.
105. Manach C, Williamson G, Morand C, Scalbert A, Rémésy C. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *Am J Clin Nutr*. 2005;81(1 Suppl):230s-42s.
106. Alañón M, Palomo I, Rodríguez L, Fuentes E, Arráez-Román D, Segura-Carretero A. Antiplatelet Activity of Natural Bioactive Extracts from Mango (*Mangifera Indica* L.) and its By-Products. *Antioxidants (Basel)*. 2019;8:517.
107. Cheng J, Ren C, Cheng R, Li Y, Liu P, Wang W, et al. Mangiferin ameliorates cardiac fibrosis in D-galactose-induced aging rats by inhibiting TGF- β /p38/MK2 signaling pathway. *The Korean journal of physiology & pharmacology : official journal of the Korean Physiological Society and the Korean Society of Pharmacology*. 2021;25(2):131-7.
108. Wu Y, Liu W, Yang T, Li M, Qin L, Wu L, et al. Oral administration of mangiferin ameliorates diabetes in animal models: a meta-analysis and systematic review. *Nutrition Research*. 2021;87:57-69.
109. García D, Escalante M, Delgado R, Ubeira FM, Leiro J. Anthelmintic and antiallergic activities of *Mangifera indica* L. stem bark components Vimang and mangiferin. *Phytotherapy Research*. 2003;17(10):1203-8.
110. Rivera DG, Balsameda IH, León AA, Hernández BC, Montiel LM, Garrido GG, et al. Anti-allergic properties of *Mangifera indica* L. extract (Vimang) and contribution of its glucosylxanthone mangiferin. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2006;58(3):385-92.
111. Méndez D, Urra F, Millas J, Alarcón M, Rodríguez J, Palomo I, et al. Synthesis of antiplatelet ortho-carbonyl hydroquinones with differential action on platelet aggregation stimulated by collagen or TRAP-6. 2020.
112. Human Experimentation: Code of Ethics of W.M.A. *British Medical Journal*. 1964;2(5402):177.

113. Fuentes E, Badimon L, Caballero J, Padro T, Vilahur G, Alarcon M, et al. Protective mechanisms of adenosine 5'-monophosphate in platelet activation and thrombus formation. *Thromb Haemost.* 2014;111(3):491-507.
114. Manzini JL. DECLARACIÓN DE HELSINKI: Principios éticos para la investigación medica sobre sujetos humanos. *Acta bioethica.* 2000;6:321-34.
115. Born GVR, Cross M. The aggregation of blood platelets. *The Journal of physiology.* 1963;168(1):178-95.
116. Fuentes E, Fuentes M, Caballero J, Palomo I, Hinz S, El-Tayeb A, et al. Adenosine A(2A) receptor agonists with potent antiplatelet activity. *Platelets.* 2018;29(3):292-300.
117. Rodríguez L, Badimon L, Méndez D, Padró T, Vilahur G, Peña E, et al. Antiplatelet Activity of Isorhamnetin via Mitochondrial Regulation. *Antioxidants.* 2021;10(5).
118. Alarcón M, Bustos M, Mendez D, Fuentes E, Palomo I, Lutz M. In Vitro Assay of Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) and Lupin (*Lupinus* spp.) Extracts on Human Platelet Aggregation. *Plant Foods for Human Nutrition.* 2020;75:215-22.
119. Koupenova M, Kehrel B, Corkrey H, Freedman J. Thrombosis and platelets: an update. *European Heart Journal.* 2017;38(785-791).
120. Harrington R, Hodgson P, Larsen R. Cardiology patient page. Antiplatelet therapy. *Circulation.* 2003;108(45-47).
121. Fox K, Mehta S, Peters R, Zhao F, Lakkis N, Gersh B, et al. Benefits and risks of the combination of clopidogrel and aspirin in patients undergoing surgical revascularization for non-ST-elevation acute coronary syndrome: the Clopidogrel in Unstable angina to prevent Recurrent ischemic Events (CURE). *Circulation.* 2004;110(1524-4539).
122. Rodríguez R, Quinteros E, Olate A, Moore R. Phaseolus vulgaris Exerts an Inhibitory Effect on Platelet Aggregation through AKT Dependent Way. *Preventive nutrition and food science.* 2018;23(2287-1098 (Print)):102-7.
123. Palomo I, Fuentes E. Antiplatelet effects of natural bioactive compounds by multiple targets: Food and drug interactions. *Journal of Functional Foods.* 2014;6:73-81.
124. Fuentes F, Alarcón M, Badimon L, Fuentes M, Klotz K-N, Vilahur G, et al. Guanosine exerts antiplatelet and antithrombotic properties through an adenosine-related cAMP-PKA signaling. *International Journal of Cardiology.* 2017;248(Supplement C):294-300.

125. Vilahur G, Badimon L. Antiplatelet properties of natural products. *Vascular Pharmacology*. 2013;59:67-75.
126. Garrido G, González D, Delporte C, Backhouse N, Quintero G, Núñez A, et al. Analgesic and anti-inflammatory effects of *Mangifera indica* L. extract (Vimang). *Phytotherapy Research*. 2001;15:18-21.
127. Loub W, Farnsworth N, Soejarto D, Quinn M. NAPRALERT: computer handling of natural product research data. *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*. 1985;25(2):99-103.
128. Tamayo D, Mari E, González S, Guevara M, Garrido G, Delgado R, et al. Vimang as natural antioxidant supplementation in patients with malignant tumors. *Minerva medica*. 2001;92:95-7.
129. Guevara M, González S, Álvarez A, Riaño A, Garrido G, Nuñez A. Uso etnomédico de la corteza de *Mangifera indica* L. en Cuba. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 2004;9.
130. Almonte D, Rosales M, Paniagua N. Estudio de Polifenoles con Propiedades Antioxidantes, Hipoglucémicas e Hipocolesterolémicas a partir de Subproductos Agroforestales. Doctoral dissertation 2015.
131. Manach C, Williamson G, Morand C, Scalbert A, Rémésy C. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *Am J Clin Nutr*. 2005;81(1):230-42.
132. Arnedo K. Identificación de xantonas presentes en la fruta de *Garcinia mangostana* L. (mangostino) como potenciales inhibidores de la enzima adn metiltransferasa I. 2019.
133. Diplock AT, Charleux J, Crozier-Willi G, Kok FJ, Roberfroid M, Stahl W, et al. Functional food science and defence against reactive oxidative species. *British Journal of Nutrition*. 1998;80.
134. Becatti M, Fiorillo C, Gori AM, Marcucci R, Paniccia R, Giusti B, et al. Platelet and leukocyte ROS production and lipoperoxidation are associated with high platelet reactivity in Non-ST elevation myocardial infarction (NSTEMI) patients on dual antiplatelet treatment. *Atherosclerosis*. 2013;231:392-400.

135. Monroy M, Méndez D, Trostchansky A, Martínez M, Araya R, Fuentes E. Synthesis and Biological Evaluation of Thio-Derivatives of 2-Hydroxy-1,4-Naphthoquinone (Lawsonia) as Novel Antiplatelet Agents. *Frontiers in chemistry*. 2020;8:533-.
136. Lagos E. Radicales libres en el control de la agregación plaquetaria. *Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica*. 2010;67:85-8.
137. Hernández S, Meneses F, Calderón J. Producción y función de especies reactivas de oxígeno en plaquetas. *Revista de educación Bioquímica*. 2020;39:52-60.
138. Guerra J. Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. *Anales de Medicina Interna*. 2001;18:50-9.
139. Carvajal C. Especies reactivas del oxígeno: formación, función y estrés oxidativo. *Medicina Legal de Costa Rica*. 2019;36:91-100.
140. Cuadros M. Efectos de las mutaciones en el ADN mitocondrial sobre la expresión de genes implicados en la función mitocondrial. *Barcelona*2013.
141. Masselli E, Pozzi G, Vaccarezza M, Mirandola P, Galli D, Vitale M, et al. ROS in Platelet Biology: Functional Aspects and Methodological Insights. *International journal of molecular sciences*. 2020;21(14):4866.
142. Luna P, Flores P, Martínez M. Las mitocondrias como blanco terapéutico. *Revista Mexicana de Anestesiología*. 2014;37:283-96.
143. Mohan C, Viswanatha G, Savinay G, Rajendra CE, Halemani P. 1,2,3,4,6 Penta-O-galloyl- β -D-glucose, a bioactivity guided isolated compound from *Mangifera indica* inhibits 11 β -HSD-1 and ameliorates high fat diet-induced diabetes in C57BL/6 mice. *Phytomedicine*. 2013;20:417-26.
144. Sato T, Kawamoto A, Tamura A, Tatsumi Y, Fujii T. Mechanism of antioxidant action of pueraria glycoside (PG)-1 (an isoflavonoid) and mangiferin (a xanthonoid). *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 1992;40:721-4.
145. Miura T, Ichiki H, Iwamoto N, Kato M, Kubo M, Sasaki H, et al. Antidiabetic activity of the rhizoma of *Anemarrhena asphodeloides* and active components, mangiferin and its glucoside. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2001;24(1009-1011).
146. Yoosook C, Bunyaphatsara N, Boonyakiat Y, Kantasuk C. Anti-herpes simplex virus activities of crude water extracts of Thai medicinal plants. *Phytomedicine*. 2000;6:411-9.

147. Fernández J. Síndrome metabólico y riesgo cardiovascular. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*. 2016;47(2):106-19.
148. Méndez D, Donoso V, Pablo Millas-Vargas J, Pessoa H, Araya R, Fuentes E. Synthesis and pharmacological evaluation of acylhydroquinone derivatives as potent antiplatelet agents. *Biochemical pharmacology*. 2021;183:114341.
149. Mitrugno A, Rigg R, Laschober N, Ngo A, Pang J, Williams C, et al. Potentiation of TRAP-6-induced platelet dense granule release by blockade of P2Y(12) signaling with MRS2395. *Platelets*. 2018;29:383-94.
150. Jennings L. Mechanisms of platelet activation: need for new strategies to protect against platelet-mediated atherothrombosis. *Thrombosis and Haemostasis*. 2009;102(0340-6245 (Print)):248-57.
151. Nieswandt B, Watson S. Platelet-collagen interaction: is GPVI the central receptor? *Blood*. 2003;102:449-61.
152. Jung S-H, Han J-H, Park H-S, Lee J-J, Yang SY, Kim YH, et al. Inhibition of Collagen-Induced Platelet Aggregation by the Secobutanolide Secolincomolide A from *Lindera obtusiloba* Blume. *Frontiers in pharmacology*. 2017;8:560-.
153. Stainer A, Sasikumar P, Bye A, Unsworth A, Holbrook L, Tindall M, et al. The Metabolites of the Dietary Flavonoid Quercetin Possess Potent Antithrombotic Activity, and Interact with Aspirin to Enhance Antiplatelet Effects. *TH open : companion journal to thrombosis and haemostasis*. 2019;3(3):244-58.