

## **Perfil antiagregante plaquetario del ácido clorogénico, metabolito presente en la especie *Solanum tuberosum***

Diana M. Buitrago<sup>1</sup>, Gloria Ramos<sup>2</sup>, Javier Rincón<sup>1</sup>, Mario F. Guerrero<sup>1</sup>

### **INTRODUCCIÓN**

Actualmente la enfermedad cardiovascular es la primera causa de morbilidad en Colombia y ha desplazado a la violencia como primera causa de muerte<sup>1</sup>. La aterosclerosis es una patología silenciosa que conlleva a eventos clínicos tales como angina inestable, infarto del miocardio y muerte súbita. Dentro de todo este proceso las plaquetas juegan un papel importante en el desarrollo de la lesión aterosclerótica, bien sea de manera directa, por daño del endotelio vascular o por la modulación de la liberación de los diferentes factores que inducen el proceso de la coagulación<sup>2</sup>. Uno de los objetivos en el tratamiento terapéutico es disminuir el fenómeno de progresión de la placa ateromatosa, mejorando así la morbilidad de los pacientes coronarios, usando fármacos antiagregantes plaquetarios como aspirina y clopidogrel que actúan inhibiendo el tromboxano A<sub>2</sub> (TA<sub>2</sub>)<sup>3</sup>.

Adicionalmente, se ha visto que compuestos con actividad antioxidante que inhiben la liberación del peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) pueden retrasar el proceso aterosclerótico. Tal es el caso de polifenoles de origen natural, como quercetina y catequina, que inhiben la agregación plaquetaria *in vitro* inducida por adenosindifosfato (ADP) y colágeno por un mecanismo que involucra liberación de óxido nítrico (ON) y producción de

O<sub>2</sub> plaquetario<sup>4</sup>.

La corteza de los tubérculos de *S. tuberosum* se utiliza popularmente en Colombia para problemas relacionados con la hipertensión arterial. Estudios previos del extracto etanólico demostraron efectos antihipertensivos e hipotensores en ratas<sup>5</sup> y efectos antiagregantes plaquetarios frente a ADP, epinefrina, colágeno y en mayor porcentaje inhibición de la agregación plaquetaria frente ácido araquidónico (AA)<sup>6</sup>.

Entre los metabolitos secundarios del tubérculo, los glicoalcaloides ( $\alpha$ -chaconina,  $\alpha$ -solanina) están presentes en mayor proporción, seguidos por catecolaminas (dopamina, epinefrina y norepinefrina), y polifenoles como el ácido clorogénico (90% del total de polifenoles presentes). Varios estudios han demostrado que el ácido clorogénico ejerce efectos anticancerígenos, antiglicémicos, hipocolesterolemicos y antioxidantes<sup>7</sup>.

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto antiagregante plaquetario *in vitro* en plaquetas humanas del ácido clorogénico frente a ADP, colágeno y AA, como uno de los compuestos polifenólicos con actividad antioxidante y antiplaquetaria y el consecuente interés de encontrar en una misma fuente natural, dos efectos farmacológicos involucrados íntimamente en la patologías cardiovasculares y la aterosclerosis. *Salud UIS* 2008; 40: 146-148

---

1. Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

2. Laboratorio de Hematología Especial. Hospital Militar Central. Bogotá. Colombia.

**Correspondencia:** Diana M. Buitrago. Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. E-mail: dmbuitragor@unal.edu.co.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Reactivos y equipos

Acido clorogénico, DMSO ácido acétilsalicilo (ASA) [Sigma®], ADP, colágeno, AA, Agregometro (Pack-4) [Helena Laboratorios®].

### Preparación de plaquetas humanas

La sangre se obtuvo de voluntarios sanos (18 – 50 años), con previo consentimiento informado, quienes no habían recibido ningún tipo de medicamento 15 días antes de la recolección de la muestra. Se recolectaron 18 mL de sangre en tubos al vacío de citrato sódico, posteriormente se dejaron en reposo por una hora. El plasma rico en plaquetas (PRP) se obtuvo por centrifugación durante 5 min a 1000 rpm y el plasma pobre en plaquetas (PPP) después de una centrifugación a 3500 rpm por 10 min.

### Agregación plaquetaria

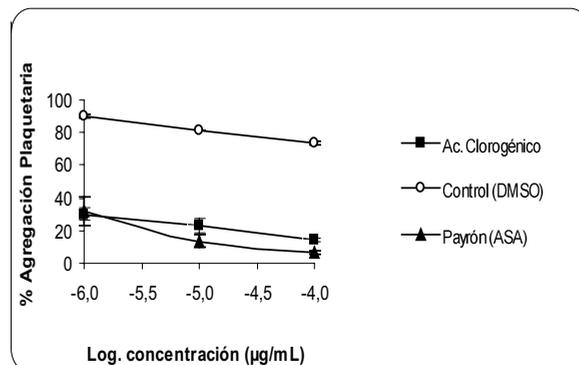
Para el estudio de agregación plaquetaria *in vitro* se utilizó la técnica espectrofotométrica de Born. En cada uno de los canales de lectura del equipo se dispusieron 400  $\mu$ L de PRP, 2  $\mu$ L de ácido clorogénico (1  $\mu$ g/mL – 100  $\mu$ g/mL), se dejó incubar por 15 min a 37°C, y posteriormente se adicionó 50  $\mu$ L de cada uno de los inductores de la agregación plaquetaria a las concentraciones mínimas en las que un paciente sano inhibe la agregación: ADP (10  $\mu$ M), colágeno (10  $\mu$ g/mL) y AA (150  $\mu$ g/mL). Este mismo procedimiento se realizó para el patrón (ASA; 0.42  $\mu$ g/mL, 4.2  $\mu$ g/mL y 42  $\mu$ g/mL) y para el vehiculo (DMSO, <1%).

### Análisis Estadístico

Se construyeron curvas dosis respuesta de los valores de agregación plaquetaria, expresados como porcentaje (%) de agregación máxima inducida por cada agonista. La concentración inhibitoria 50 (CI<sub>50</sub>) se obtuvo del análisis de regresión sigmoidal de la curva dosis respuesta. Todos los resultados se expresan como promedio  $\pm$  el error estándar (ems). El análisis estadístico se efectuó mediante una prueba de varianza asumiendo una  $p < 0,05$ . Se utilizaron los programas Excel® 2000 y SPSS® 12.

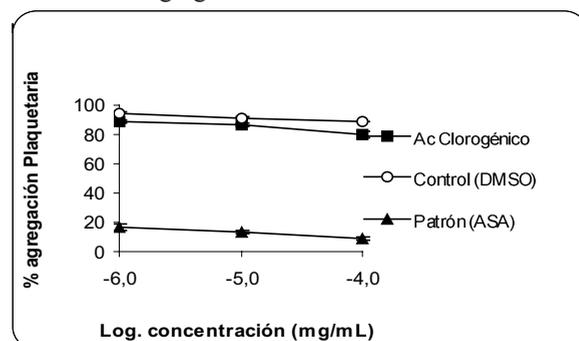
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De los resultados obtenidos se puede observar que el ácido clorogénico posee un efecto antiagregante en plaquetas humanas inducidas con ADP (10  $\mu$ M) en función de la dosis (Figura 1), la CI<sub>50</sub> fue < 0.1  $\mu$ g/mL.

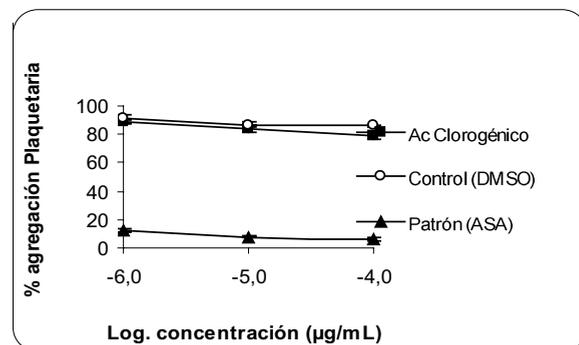


**Figura 1.** Efecto del ácido clorogénico sobre la agregación plaquetaria *in vitro* inducida por ADP (10  $\mu$ M). (n= 5), \* $p < 0,05$  frente al control.

Para los ensayos donde se utilizaron como agonistas colágeno (10  $\mu$ g/mL) (Figura 2) y AA (150  $\mu$ g/mL) (Figura 3), el ácido clorogénico no ejerció ningún tipo de efecto antiagregante.



**Figura 2.** Efecto del ácido clorogénico sobre la agregación plaquetaria *in vitro* inducida por colágeno (10  $\mu$ g/mL). (n= 5), \* $p < 0,05$  frente al control.



**Figura 3.** Efecto del ácido clorogénico sobre la agregación plaquetaria *in vitro* inducida por AA (150  $\mu$ g/mL). (n= 5), \* $p < 0,05$  frente al control.

De este estudio se puede concluir que el ácido clorogénico posee una actividad antiagregante plaquetaria semejante a la inducida por ASA frente a ADP, lo que indica que este polifenol puede presentar un mecanismo similar

al ejercido por ese fármaco. Hay que destacar que por los efectos antioxidantes ya estudiados para el ácido clorogénico (inhibición de  $H_2O_2$  e inducción del aumento en la producción de ON) su mecanismo antiagregante puede estar vinculado con el aumento de la liberación de GMP cíclico (importante antagonista endógeno de la agregación plaquetaria), en la inhibición de la liberación de las glicoproteínas IIb/IIIa (necesarias para la producción del AA endógeno) y en la inhibición de la activación de protein-kinasa C (necesaria para la adhesión y posterior agregación de las plaquetas).

Una de las ventajas que presenta el ácido clorogénico es que posee un perfil de seguridad amplio para el organismo, siendo seguro para su consumo y eventualmente para la producción de medicamentos antiagregantes plaquetarios. Es necesario realizar más estudios con el fin de determinar claramente cual es el mecanismo de acción antiagregante inducido por este agente.

En los últimos años el uso de fármacos antiagregantes, en el inicio o como profiláctico de eventos trombóticos ha aportado beneficio en la reducción de morbimortalidad de pacientes con patologías cardiovasculares, por lo tanto, es de gran interés encontrar nuevos principios activos de origen natural, que ayuden a reducir de manera rápida y efectiva la progresión hacia eventos súbitos como el infarto agudo de miocardio. El ácido clorogénico podría desempeñar algún papel en tales efectos.

## REFERENCIAS

1. Departamento Administrativo Nacional de Estadística. Defunciones por grupos de edad y sexo, según lista de causas agrupadas 6/67. CIE-10 de OPS 2002.
2. Vita, J. Polyphenols and cardiovascular disease: effects on endothelial and platelet function. *Am J Clin Nutr* 2005; 81: 292-7.
3. Lawson F, Reilly M, Kapoor S, Cucchiara A, DeMarco S, Tournier B, Vyas S, Fitzgerald G. Cyclooxygenase inhibitions and the antiplatelet effects of aspirin. *N Engl J Med* 2001; 345: 1809-17.
4. Singh I, Mok M, Christensen A, Turner A, Hawley J. The effects of polyphenols in olive leaves on platelet function. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2006; 09: 1-6.
5. Guerrero MF, Carrón R, Martín ML. Identificación de la actividad hipotensora del extracto etanólico de *Solanum tuberosum* en ratas. *Rev. Col. Cienc. Quím. Farm* 2003; 32: 30-6.
6. Buitrago DM, Ramos G, Rincón J, Guerrero MF. Actividad antiagregante plaquetaria del extracto etanólico de *Solanum tuberosum* en plaquetas humanas. *Vitae* 2007; 14:1, 49-54.
7. Friedman M. Chemistry, biochemistry, and dietary role of potato polyphenols. A review, *J Agric Food Chem* 1997; 45: 1523-40.