



Efecto en la cicatrización de heridas inducido por proteínas de *Mangifera indica* var. manila en fibroblastos humanos

Wound healing effect induced by *Mangifera indica* var. manila proteins in human fibroblast

Gloria Barrera-Morales^{1,2}, Alma Vázquez-Luna¹, Leticia Nicolás-Toledo², Yessica Eduvigis Zamudio-Cuevas^{3*}

RESUMEN

La medicina ayurveda ha reportado el uso de *Mangifera indica* L. (mango) para la cicatrización de heridas ocasionadas por picaduras y mordeduras de ciertos animales. El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto cicatrizante de las proteínas de mango *in vitro* en un modelo de herida-cicatriz en fibroblastos humanos. Las proteínas totales de la pulpa de mango fueron aisladas y cuantificadas usando el método de Bradford. Posteriormente, las muestras fueron liofilizadas y cuantificadas por el método BCA. La electroforesis SDS-PAGE fue usada para la separación e identificación de las fracciones proteicas. Se realizaron ensayos de citotoxicidad a 24 h de las proteínas (0.25 µg/mL, 2.5 µg/mL y 25 µg/mL) en los fibroblastos humanos. El ensayo herida-cicatriz fue llevado a cabo a través de un raspado en el cultivo de fibroblastos, midiendo la longitud de la herida mediante microscopía, después de los tratamientos con las diferentes concentraciones de proteínas a 24 h y 48 h. Se calculó el porcentaje de cierre de herida. Las proteínas de mango aisladas presentaron un peso molecular entre 10 kDa y 95 kDa y similar al control ($P < 0.05$) no indujeron citotoxicidad o cambios morfológicos en los fibroblastos a las concentraciones utilizadas. El tratamiento utilizando 0.25 µg/mL de proteínas de mango sugiere un incremento en la migración de los fibroblastos que podría favorecer el cierre de la herida.

PALABRAS CLAVE: cicatrización de heridas, fibroblastos humanos, proteínas de mango, migración celular, ensayo herida-cicatriz.

ABSTRACT

Ayurvedic medicine has reported the use of *Mangifera indica* L (mango) to heal wounds caused by stings and bites from certain animals. The aim of this study was to evaluate the healing effects of mango proteins *in vitro* in a wound scar model in human fibroblasts. The total proteins from mango pulp were isolated and quantified using the Bradford method and subsequently the samples were lyophilized and quantified by BCA. SDS-PAGE electrophoresis was used for the separation and identification of the protein fractions. Assays to determine protein cytotoxicity were performed by quantifying fibroblast viability at different protein concentrations (0.25 µg/mL, 2.5 µg/mL, and 25 µg/mL). The scratch wound assay was carried out through scraping the fibroblast culture, with wound length being measured via microscopy after treatment with the different protein concentrations at 24 h, and 48 h and the percentage of wound closure being calculated. The isolated mango proteins had a molecular weight between 10 kDa and 95 kDa and similar to the control ($P < 0.05$) they did not induce cytotoxicity or morphological changes in fibroblasts at the concentrations used. The treatment using a 0.25 µg/mL protein suggests an increase in fibroblast migration that could favor wound closure.

KEYWORDS: wound healing, human fibroblasts, mango proteins, cell migration, essay wound scar.

*Correspondencia: yesszamudio@gmail.com/Fecha de recepción: 20 de diciembre de 2024/Fecha de aceptación: 27 de mayo de 2025/ Fecha de publicación: 6 de junio de 2025.

¹Universidad Veracruzana, Instituto de Ciencias Básicas, Xalapa, Veracruz, México, C. P. 91190. ²Universidad Autónoma de Tlaxcala, Centro Tlaxcala Biología de la Conducta, Tlaxcala, Tlaxcala, México, C. P. 90070. ³Instituto Nacional de Rehabilitación "Luis Guillermo Ibarra Ibarra", Laboratorio de Líquido Sinovial, Calzada México-Xochimilco núm. 289, col. Arenal de Guadalupe, Tlalpan, Ciudad de México, México, C. P. 14389.

INTRODUCCIÓN

La cicatrización es un proceso biológico cuya finalidad es reparar el tejido dañado hasta la formación de una cicatriz. Es un proceso complejo, el cual está controlado por moléculas y factores de crecimiento. Para llevarlo a cabo se requieren diversas células, como queratinocitos, fibroblastos y células inflamatorias, además de mediadores inmunológicos como factores de crecimiento, y mensajeros químicos, como las interleucinas, quimiocinas y proteínas de la matriz celular (ECM, por sus siglas en inglés: extracellular matrix) (Fernández-Guarino y col., 2023), las cuales se organizan de tal manera que puedan establecer reacciones e interrelaciones celulares y su proliferación está mediada por citocinas liberadas al medio extracelular. Dicho proceso se activa una vez que se produce una herida (Lin y col., 2023).

En condiciones normales, la cicatrización se realiza sin complicaciones; sin embargo, en algunas patologías crónicas degenerativas, como la diabetes y obesidad, las heridas tardan más en cicatrizar, originando problemas de infecciones por microorganismos (Raziyeva y col., 2021). El uso indiscriminado de tratamientos a base de cortisona, en pacientes con algún tipo de artritis, asma e inmunosuprimidos y la utilización de cremas antibacterianas durante períodos prolongados de tiempo, afectan la estructura y funcionalidad de la piel, ya que estas contienen neomicina, polimixina B y bacitracina; compuestos que ocasionan prurito, ardor, irritación, enrojecimiento y erupciones (Punjataewkupt y col., 2019).

La diabetes es una de las patologías con mayor incidencia de complicaciones en los procesos de cicatrización y se estima que a la fecha existen 451 millones de personas a nivel mundial que padecen esta enfermedad. Los daños colaterales que presentan los pacientes diabéticos son principalmente úlceras de presión y úlceras del pie diabético (Ousey y col., 2018).

Mangifera indica L. (mango) pertenece a la familia Anacardiaceae y es uno de los frutos

con mayor demanda comercial a nivel mundial. Se cultiva en regiones tropicales y subtropicales incluyendo a México (Marquínez y col., 2023). El mango es una fuente importante de fibra, además de tener un alto valor nutricional por su contenido en vitaminas, minerales, polifenoles, carotenos, ácido ascórbico, fitoquímicos, carbohidratos y proteínas (Quintana y col., 2021; Lenucci y col., 2022; Rajasekaran y Soundarapanduan, 2023).

En la medicina ayurveda (medicina tradicional india), el mango y sus componentes han sido valorados por sus propiedades terapéuticas, como su capacidad antiinflamatoria y cicatrizante (Shah y col., 2010). Se han utilizado para tratar diversos tipos de heridas, incluidas las mordeduras de serpientes y otros animales (Pithayanukul y col., 2009). Sin embargo, la mayoría de los estudios se han centrado en evaluar los efectos de los compuestos fitoquímicos, principalmente taninos, flavonoides y triterpenos (Kumar y col., 2021; Rajasekaran y Soundarapandian, 2023).

En un modelo de ratones machos blancos Swiss donde se estudió el efecto del extracto de hoja de mango en la cicatrización de heridas, se demostró mejoría en el proceso de cicatrización (Suhatri y col., 2022). Además, se estableció un efecto favorable del extracto de hojas de mango sobre la formación de colágeno y el aumento de la epitelización de heridas en ratas Sprague Dawley. Estas propiedades curativas se atribuyeron principalmente a los taninos presentes en el mango (Nuevo y Bernardino, 2013).

Para reducir el uso de animales en experimentos médicos, se han desarrollado varios modelos humanos *in vitro* que permiten investigar la movilidad celular durante la cicatrización de heridas. Se ha descrito la movilidad de queratinocitos, melanocitos, fibroblastos y células endoteliales, ya que son las células residentes encargadas de restaurar las principales características estructurales de la piel (Hofmann y col., 2023). El interés en los fibroblastos como modelo de migración

celular, se debe a que estos pueden proporcionar un método para evaluar la cicatrización de heridas (Grupta y col., 2022).

En los últimos años, el papel de las proteínas de mango ha llamado la atención, no sólo desde el punto de vista alergénico, sino también porque tienen un posible efecto sobre la viabilidad celular (Herbert-Doctor y col., 2017). Hasta ahora, no queda claro el papel de las proteínas del mango en los mecanismos de migración y proliferación necesarios para la curación de heridas.

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto cicatrizante de las proteínas de mango en un modelo de herida-cicatriz en fibroblastos humanos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia prima

Los frutos de mango (*Mangifera indica* var. manila) fueron recolectados en estado de madurez fisiológica en la población de Jalcomulco, Veracruz, México, durante los meses de junio y julio de 2020. La fruta fue separada de la cáscara para obtener el extracto proteico a partir de la pulpa.

Obtención de los extractos proteicos

Se obtuvieron los extractos proteicos conforme a las especificaciones de Zhou y col. (2016) con las siguientes modificaciones. La pulpa de mango fue fragmentada y congelada en nitrógeno líquido y disgregada mecánicamente hasta su completa pulverización. Se pesaron 2.5 g del mango pulverizado y se adicionaron 25 mL de Tris-HCL 0.5M (pH 7.2), agentes desnaturizantes como el dodecil sulfato de sodio (SDS, por sus siglas en inglés: sodium sulfate dodecyl) al 1 % y agentes reductores como el β -mercaptoetanol al 0.5 % para la lisis de la matriz alimentaria y la obtención de las proteínas por agitación, y posterior centrifugación a 18 560 xg (Sorvall Super T21, USA) durante 30 min.

Las proteínas fueron obtenidas del sobrenadante usando metanol-cloroformo, mezclándose hasta su completa disolución. Posteriormente,

fueron centrifugadas a 2 016 xg por 6 min. Después, las proteínas fueron mezcladas con acetona fría 1:2 para inducir su precipitación y centrifugadas a 2 016 xg por 6 min, decantándose y volviéndose a precipitar hasta que los residuos de acetona se eliminaron. Las proteínas fueron resuspendidas en 1 mL de amortiguador de fosfatos (PBS, por sus siglas en inglés: phosphate-buffered saline) y almacenadas a -20°C. Se cuantificaron, empleando el método de Bradford. La electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE, por sus siglas en inglés: Polyacrylamide Gel Electrophoresis) y SDS, fue realizada para su identificación, utilizando 10 mg/ μ L de proteínas disueltas en amortiguador Laemmli, el cual contiene SDS y β -mercaptoetanol, que se unen a las proteínas y rompen los enlaces no covalentes que mantiene su estructura tridimensional, con lo cual se logra una mayor separación de las proteínas de acuerdo a su peso molecular. Adicionalmente, se realizó una comparación de proteínas disueltas en amortiguador Laemmli sin β -mercaptoetanol para comparar la separación de las proteínas. Con la finalidad de conservar sus propiedades, los extractos proteicos fueron liofilizados (Labconco, 4.5 L. USA) mediante un proceso de secado por congelación durante 24 h y cuantificados por el método del ácido bicinónico (BCA, por sus siglas en inglés: Bicinchoninic Acid). Los tratamientos para su aplicación en el modelo *in vitro* se diseñaron de acuerdo a dosis reportadas previamente de 25 μ g/mL, y a partir de esa concentración se realizaron diluciones seriadas de 2.5 μ g/mL y 0.25 μ g/mL (Conejero y col., 2007). Las proteínas se disolvieron en medio de cultivo Eagle modificado por Dulbecco (DMEM, por sus siglas en inglés: Dulbecco's modified eagle medium).

Preparación de los tratamientos celulares

Se prepararon cuatro soluciones de trabajo (stock), disolviendo por separado 50 mg de proteínas liofilizadas en 5 mL de medio de cultivo DMEM, con un mezclador vortex (Fiznevortex FinePCR, Daigger, Korea). Para incorporar las proteínas al medio de cultivo e incrementar su solubilidad, se utilizaron cua-

tro técnicas: centrifugación, filtración, mezcla con dimetilsulfóxido (DMSO, por sus siglas en inglés: dimethyl sulfoxide) y concentración a través de columnas de ultrafiltración Vivaspín™ 3000MWCO. En la primera técnica, la solución homogenizada se centrifugó a 1.9 xg por 4 min a 4 °C. En la segunda, la solución se filtró utilizando una membrana (Merck-Millipore) de 0.45 µm. A la tercera solución se le adicionó 0.1 % de DMSO (Sigma-Aldrich) mezclado por agitación, y posteriormente se filtró en una membrana de 0.45 µm. Por último, la cuarta solución homogenizada se incubó en baño de agua (Termobañó AR-371D, México) a 37 °C por 30 min, posteriormente se centrifugó a 5.8 xg por 6 min a 4 °C, obteniéndose el sobrenadante, el cual se filtró en una membrana y después se depositó en una columna de ultrafiltración Vivaspín™ 3000MWCO, centrifugándose a 13 257 xg durante 20 min a 4 °C. De las cuatro soluciones se recuperó el sobrenadante para la cuantificación de proteínas por BCA.

Cultivo celular

Se obtuvieron fibroblastos de piel humana, provenientes de tres pacientes del banco de criopreservación (-195.8 °C) del Instituto Nacional de Rehabilitación Luis Guillermo Ibarra Ibarra (INR-LGII) de la Ciudad de México, México. Estas células fueron obtenidas de remanentes de cirugías de abdominoplastia de pacientes que firmaron un consentimiento informado para su inclusión antes de participar en el estudio, el cual, fue conducido de conformidad con la Declaración de Helsinki, y el protocolo fue aprobado por el Comité de Ética CONBIOÉTICA-09-CEI-031-201711207 (Identificación del proyecto 78/15) del INR-LGII.

Los fibroblastos fueron descongelados en primer pase (primera etapa en donde crecen los fibroblastos en medio de cultivo) y expandidos con DMEM conteniendo 10 % de suero fetal bovino (FBS, por sus siglas en inglés: fetal bovine serum) y 1 % antibiótico-antimicótico (penicilina-estreptomina PE, Gibco). El medio de cultivo fue reemplazado con medio fresco cada tercer día hasta que las células alcan-

zaron una confluencia de 80 % a 90 % en el frasco de cultivo.

Ensayo de viabilidad celular

En una placa de 24 pozos, se colocaron 35 000 células por pozo con medio DMEM con 10 % FBS y 1 % PE. Las células se cultivaron durante 24 h y posteriormente se retiró el medio de cultivo, agregándole medio DMEM al 2 % de FBS conteniendo las diferentes dosis de proteínas de mango (25 µg/mL, 2.5 µg/mL y 0.25 µg/mL). Las células fueron estimuladas durante 24 h para determinar los efectos tóxicos inducidos por las proteínas de mango, a través de la identificación de cambios morfológicos en las células mediante microscopía de campo claro y la técnica de Flick y Gifford (1984), que incorpora el colorante cristal violeta para cuantificar las células vivas. Se utilizó un grupo de células control (células sin proteínas). A las células se les retiró el medio de cultivo y los tratamientos mediante lavados con PBS y se fijaron usando glutaraldehído al 2.5 % (Hycel); la tinción se realizó con cristal violeta al 0.1 % (Sigma-Aldrich). Se documentaron los cambios morfológicos a través de fotografías, con un microscopio EVOS FL (modelo L1113-178C-173, Thermo Scientific, W. A., United States). La absorbancia se cuantificó a 595 nm en un lector de microplacas Biorad Mark (10176) Japan. Las absorbancias se normalizaron al % de viabilidad celular de las células control, de las cuales 100 % se consideraron viables (Krebs y col., 2018).

Ensayo herida-cicatriz

Se realizaron ensayos herida-cicatriz utilizando placas de cultivo de 6 pozos conteniendo 150 000 fibroblastos por pozo, los cuales fueron cultivados, y al alcanzar 80 % de confluencia, estos fueron pretratados con 10 µg/mL de mitomicina C (Sigma-Aldrich) por 4 h para descartar la influencia de la proliferación celular en el cierre de la herida. Se llevaron a cabo estudios adicionales sin el uso de mitomicina C.

Se realizó un raspado por la mitad de la superficie del pozo utilizando una punta esté-

ril de 1 000 μ L. Las células despegadas por el daño mecánico fueron retiradas y se colocaron las distintas concentraciones experimentales de proteínas de mango disueltas en DMEM al 2 % de FBS, 1 % PE. Las células tratadas se compararon contra un control (células con herida, tratadas con medio de cultivo sin proteínas de mango). A las 24 h se llevó a cabo la fijación de las células y su tinción con la técnica de Cristal Violeta en todas las muestras, antes de fotografiarlas en campo claro con un microscopio EVOS FL (modelo L1113-178C-173, Thermo Scientific, W.A. United States). Se realizaron ensayos adicionales de cicatrización para evaluar el cierre de la herida a 24 y 48 horas mediante registro fotográfico en células vivas, sin fijación ni tinción. Las imágenes se obtuvieron en campo claro con el mismo equipo y se integraron en una figura comparativa, optimizada digitalmente para mejorar la nitidez y facilitar la evaluación morfológica. La distancia de la migración celular entre los bordes del área dañada mecánicamente de la monocapa se calculó utilizando el software EVOS® FL and FL color Cell Imaging Systems v.1.4 Rev 26059 (Grada y col., 2017).

La adquisición de datos consistió en dividir la herida en tres segmentos: superior, medio e inferior. Se realizaron al menos tres mediciones de la distancia entre los bordes de las tres áreas y se calculó la media. Para determinar el porcentaje (%) de contracción de la herida se aplicó la siguiente fórmula a las 24 h y 48 h (Sushanth y col., 2016).

$$\% \text{ Contracción de la herida} = \frac{\text{Área cicatrizada}}{\text{Área total de la herida}} \times 100$$

Análisis estadístico

Los resultados de la viabilidad celular y de la contracción de la herida fueron expresados como la media aritmética de tres repeticiones provenientes de tres experimentos independientes $\pm$ el error estándar (ES). La significancia estadística de la viabilidad se determinó realizando un análisis de varianza (ANOVA) de una vía con un intervalo de confianza del

95 %, seguido de un análisis *post-hoc* de Tukey, con nivel de $\alpha < 0.05$. En la variable contracción de la herida, los datos fueron expresados como la media $\pm$ ES. Se evaluó la diferencia de las micras de la lesión entre los tratamientos a lo largo de 0 h, 24 h y 48 h mediante la prueba de ANOVA de 2 vías de medidas repetidas. En caso de detectar significancia en los efectos principales, se reprogramó el análisis utilizando un ANOVA de una vía de medidas repetidas para el adecuado cálculo de los estadísticos. Las comparaciones múltiples se realizaron mediante la prueba de Bonferroni. El programa estadístico utilizado fue Graph Pad Prisma versión 8.2.1.

RESULTADOS

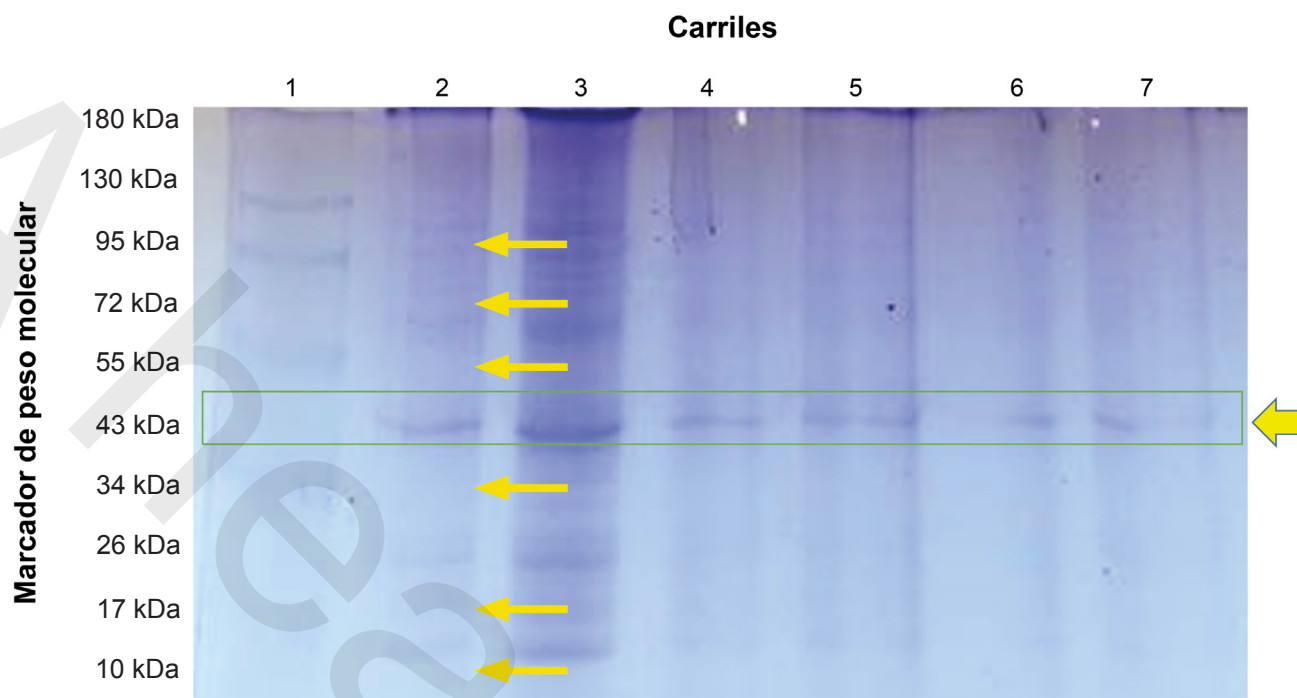
Caracterización del extracto proteico de mango

La muestra de pulpa de *Mangifera indica* analizada por electroforesis, tenía una concentración de proteínas de 10 μ g/ μ L, y mostró 7 bandas de proteínas, las cuales correspondieron a pesos moleculares de 10 kDa, 17 kDa, 30 kDa, 40 kDa, 55 kDa, 72 kDa y 95 kDa, con base en el marcador de peso molecular (Figura 1: carril 1). La banda de proteínas de 40 kDa mostró mayor intensidad en todos los carriles. Se observó una mayor cantidad de fracciones proteicas cuando la muestra se disolvió en el amortiguador Laemmli conteniendo β -mercaptoetanol (carril 3), que sin β -mercaptoetanol, ya que existe menor cantidad de fracciones proteicas, no obstante, la banda correspondiente a 40 kDa se identificó (Figura 1: carriles 2, 4, 5, 6 y 7).

Efecto del extracto de proteínas de mango en la viabilidad celular

Los ensayos de viabilidad no mostraron cambios morfológicos en los fibroblastos por efecto de los diferentes tratamientos con respecto al control, todos presentaban una morfología típica fusiforme y un índice alto de mitosis, comportamiento indicativo de no haber sufrido un efecto citotóxico al ser expuestos a las proteínas de mango (Patil y col., 2020).

Se observó un mayor porcentaje de viabilidad con las técnicas de centrifugación y filtración (Tabla 1), probablemente porque estos



■ Figura 1. Electroforesis de las proteínas de la pulpa de mango. Carril 1, marcador de peso molecular (10 kDa a 180 kDa). Carril 2, electroforesis de proteínas de mango resuspendidas en amortiguador de corrida Laemmli sin β -mercaptoetanol. Carril 3, proteínas de mango en amortiguador Laemmli con β -mercaptoetanol, Carriles 4 al 7; repeticiones de diferentes aislados de proteínas de mango en Laemmli sin β -mercaptoetanol.

Figure 1. Electrophoresis of mango pulp proteins. Lane 1, molecular weight marker (10 kDa to 180 kDa). Lane 2, electrophoresis of mango proteins resuspended in Laemmli buffer without β -mercaptoethanol. Lane 3, mango proteins in Laemmli buffer with β -mercaptoethanol, lanes 4 to 7; repeats of different mango protein isolates in Laemmli without β -mercaptoethanol.

■ Tabla 1. Efecto de la concentración de las proteínas de mango en la viabilidad de los fibroblastos a las 24 h en función del método de obtención.

Table 1. Effect of mango protein concentration on fibroblast viability at 24 hours according to the extraction method.

Concentración	Centrifugación %	Filtración %	Disueltas en DMSO %	Ultrafiltración %
Control	100 $\pm$ 0.00 ^a	100 $\pm$ 0.00 ^a	100 $\pm$ 0.00 ^a	100 $\pm$ 0.00 ^a
25 (μ g/mL)	115.4 $\pm$ 4.89 ^b	119.7 $\pm$ 3.60 ^b	89.49 $\pm$ 5.93 ^b	93.13 $\pm$ 1.73 ^b
2.5 (μ g/mL)	116.3 $\pm$ 2.35 ^b	135.4 $\pm$ 14.95 ^c	91.77 $\pm$ 5.25 ^b	98.50 $\pm$ 0.90 ^c
0.25 (μ g/mL)	125.1 $\pm$ 2.79 ^c	123.6 $\pm$ 3.99 ^b	89.79 $\pm$ 5.91 ^b	94.96 $\pm$ 0.09 ^b

^{a, b, c} Letras distintas indican diferencia significativa entre tratamientos para un mismo método de obtención ($P < 0.05$). Los datos están expresados como la media $\pm$ error estándar al menos de 3 experimentos independientes.

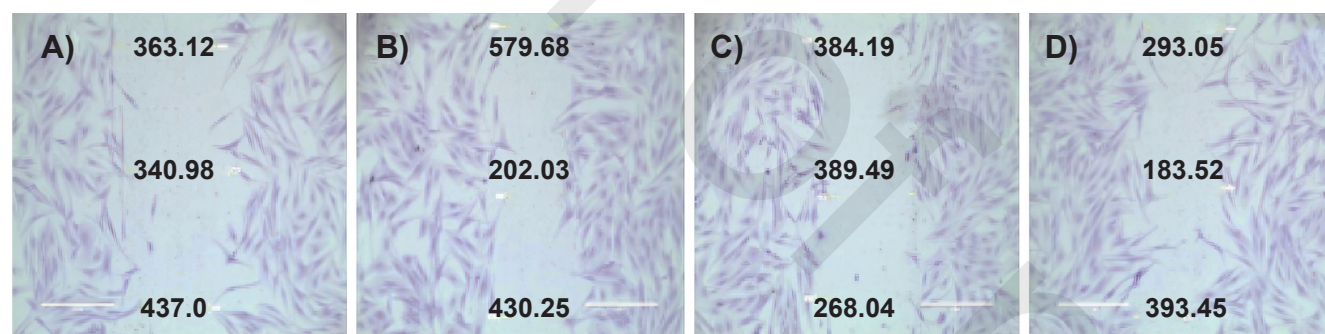
procedimientos retienen las proteínas de bajo peso molecular, como las lectinas, las cuales son mitogénicas permitiendo una mayor proliferación, y por lo tanto un porcentaje mayor de viabilidad (Fujii y col., 2024). Los fibroblastos de piel que estimularon con proteínas que se obtuvieron por centrifugación, mostraron un incremento en la viabilidad que varió de 15.40 % a 25.10 % por efecto de las diferentes concentraciones proteicas, comparado con el control. En el caso de la estimulación de fibroblastos con proteínas de mango obtenidas a través de la filtración, el incremento varió de 19.70 % a 35.45 %, comparado con el grupo de células control.

En contraste, las técnicas de obtención de proteínas utilizando DMSO y ultrafiltración indujeron un leve decremento en el porcentaje de viabilidad celular, probablemente asociado al DMSO y a la temperatura de incubación en el baño de agua, las cuales pueden desnaturalizar y agregar las proteínas de ba-

jo peso molecular (Pal y col., 2012), en tanto que la ultrafiltración podría impedir el paso de algunas proteínas de interés (Greening y Simpson, 2010). Sin embargo, el porcentaje de viabilidad fue superior al 50 % en ambos casos, lo que se considera aceptable (Wei y col., 2020). En los cultivos con las proteínas disueltas en DMSO, el decremento varió de 8.23 % a 10.51 %. En las proteínas que se obtuvieron por ultrafiltración, el decremento varió de 1.5 % a 6.87 % (Tabla 1). Basados en estos resultados, se utilizó el tratamiento de proteínas de mango por centrifugación para los ensayos de migración.

Efecto de las proteínas de mango sobre la migración celular de fibroblastos

En la Figura 2 se muestran los tratamientos en los que las células recibieron tratamiento previo con mitomicina C, que es un agente antineoplásico y antiproliferativo que reduce la formación de colágeno por los fibroblastos e impide la duplicación celular (Chen y



■ Figura 2. Ensayo herida-cicatriz con pretratamiento de mitomicina C a las 24 h. A) Control de fibroblasto sin estímulo, vehículo: DMEM 2 % SFB, 1 % PE (penicilina-estreptomicina). B) Fibroblastos + 25 µg/mL de proteínas de mango. C) Fibroblastos + 2.5 µg/mL de proteínas de mango, y D) Fibroblastos + 0.25 µg/mL de proteínas de mango. Determinación de la migración celular por microscopia de campo claro con microscopio invertido EVOS Fluid Thermo Scientific. Las imágenes son representativas de 1 a 3 campos de tres experimentos con diferentes pacientes. Objetivo de 10X. Células teñidas con colorante cristal violeta.

Figure 2. Wound-scar trial with pretreatment of mitomycin C. A) Control or fibroblasts without stimulation, vehicle: DMEM 2 % FBS, 1 % PS (penicilin-streptomycin). B) Fibroblasts + 25 µg/mL of mango proteins. C) Fibroblasts + 2.5 µg/mL of mango proteins, and D) Fibroblasts + 0.25 µg/mL of mango proteins. Determination of cell migration by brightfield microscopy in EVOS inverted microscope, Fluid Thermo Scientific. The images are representative of 1 to 3 fields and three independent experiments with different patients, target 10X. Cells stained with violet crystal dye.

col., 2006). El cultivo control presentó a las 24 h una tasa de cierre de herida de 25.78 %. En las muestras expuestas a proteínas de mango, el tratamiento de 2.5 µg/mL mostró el mayor porcentaje de cierre de herida (21.62 %), en comparación con los otros dos tratamientos: 25 µg/mL (12.00 %) y 0.25 µg/mL (13.65 %); pero ninguno de los tratamientos redujo significativamente el cierre de herida en comparación con el control.

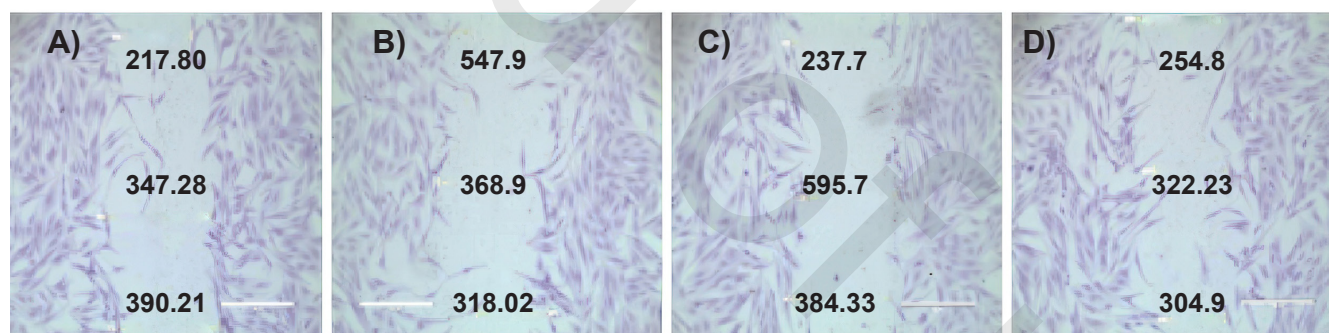
En la Figura 3 se muestran los fibroblastos que se sometieron a una prueba de raspado de la herida sin pretratamiento con mitomicina C. El tratamiento control mostró a las 24 h, un cierre de la herida del 22.15 %. En las células expuestas a proteínas de mango el cierre de herida varió de 6.29 % a 13.76 %.

La Figura 4 muestra el cierre de herida de manera inmediata a la realización de la herida (0 h) a las 24 h y 48 h, de los fibroblastos

pretratados con mitomicina C. Las muestras control presentaron 29 % de cierre de herida a las 24 h (Figura 4B) y de 33.6 % a las 48 h (Figura 4C). Las células expuestas a una concentración de 0.25 µg/mL mostraron la mayor tasa de cierre de herida (33 %) a las 24 h (Figuras 4J) y alcanzaron un 50.7 % a las 48 h (Figura 4L). La muestra con 2.5 µg/mL mostró la mayor tasa de cierre (61.6 %) a las 48 horas (Figura 4F).

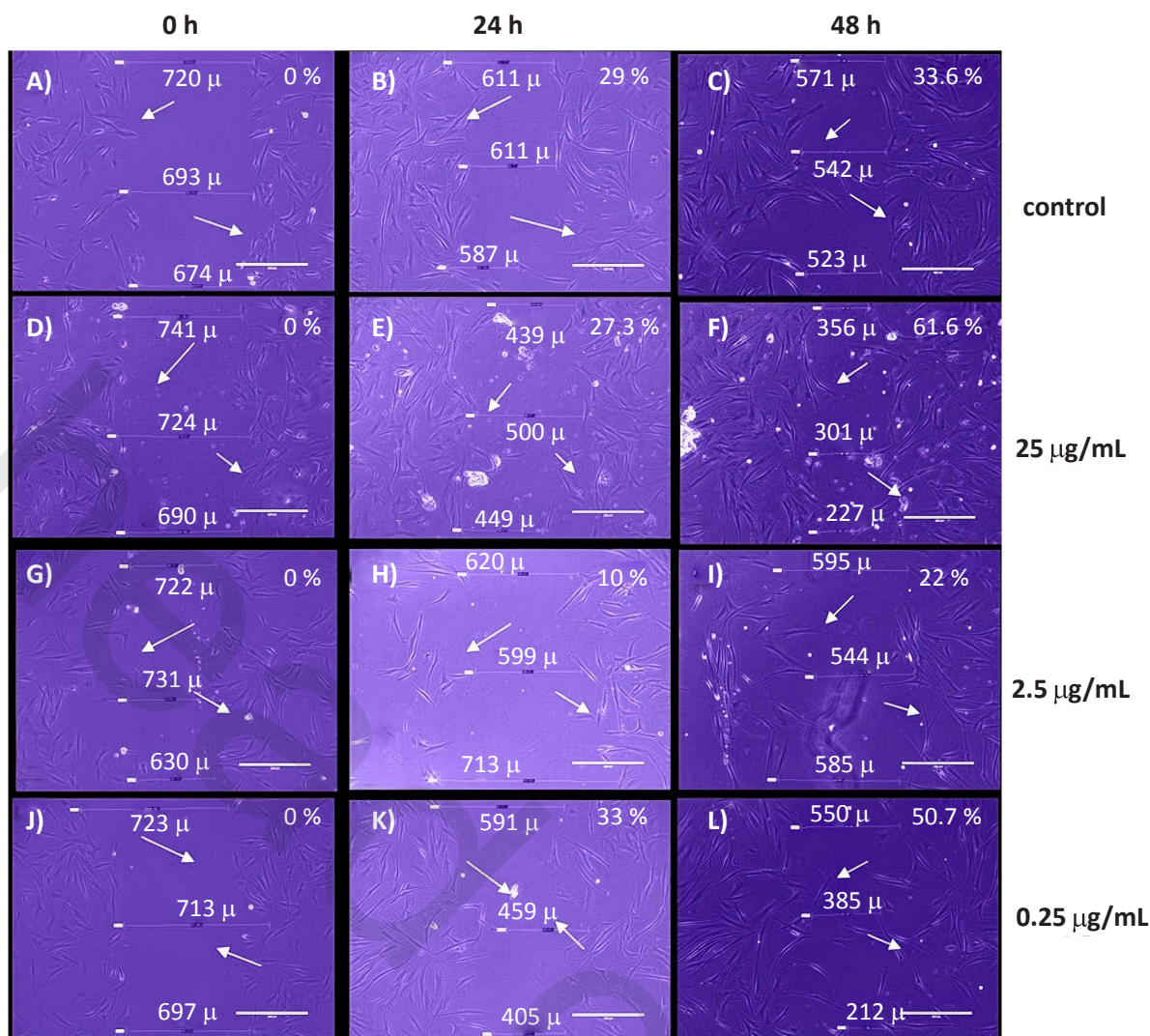
Análisis de la longitud de la herida en fibroblastos expuestos a proteínas de mango

El % de cierre a las 24 horas (Figura 5) fue significativamente mayor en la muestra con 0.25 µg/mL (38.06 %) indicando un mayor efecto respecto al control (27.11 %) y los otros dos tratamientos. Este porcentaje de cierre correspondió a una longitud de herida menor para la muestra tratada ($535.0 \pm 51.9 \mu\text{m}$) con relación al control ($526.33 \pm 7.9 \mu\text{m}$). Dicho comportamiento concordó con la tenden-



■ Figura 3. Ensayo herida-cicatriz sin pretratamiento de mitomicina C a las 24 h. A) Control de fibroblasto sin estímulo, vehículo: DMEM 2 % SFB, 1 % PE (penicilina-estreptomicina). B) Fibroblastos + 25 µg/mL de proteínas de mango. C) Fibroblastos + 2.5 µg/mL de proteínas de mango, y D) Fibroblastos + 0.25 µg/mL de proteínas de mango. Determinación de la migración celular por microscopia de campo claro con microscopio invertido EVOS Fluid Thermo Scientific. Las imágenes son representativas de 1 a 3 campos de tres experimentos con diferentes pacientes. Objetivo de 10X. Células teñidas con colorante cristal violeta.

Figure 3. Wound-scar trial without pretreatment of mitomycin C. A) Control or fibroblasts without stimulation, vehicle: DMEM 2 % FBS, 1 % PS (penicilin-streptomycin). B) Fibroblasts + 25 µg/mL of mango proteins. C) Fibroblasts + 2.5 µg/mL of mango proteins, and D) Fibroblasts + 0.25 µg/mL of mango proteins. Determination of cell migration by brightfield microscopy in EVOS inverted microscope, Fluid Thermo Scientific. The images are representative of 1 to 3 fields and three independent experiments with different patients, target 10X. Cells stained with violet crystal dye.



■ Figura 4. Comparación del cierre de herida en fibroblastos estimulados con proteínas de mango a diferentes concentraciones. A) Herida inicial del grupo control, B) 24 h y C) 48 h. D) Herida inicial en células expuestas a 25 µg/mL de proteínas de mango. E) 24 h, F) 48 h. G) Herida inicial en fibroblastos con 2.5 µg/mL de proteínas de mango. H) 24 h, I) 48 h. J) Herida inicial en células con 0.25 µg/mL de proteínas de mango, K) 24 h y L) 48 h.

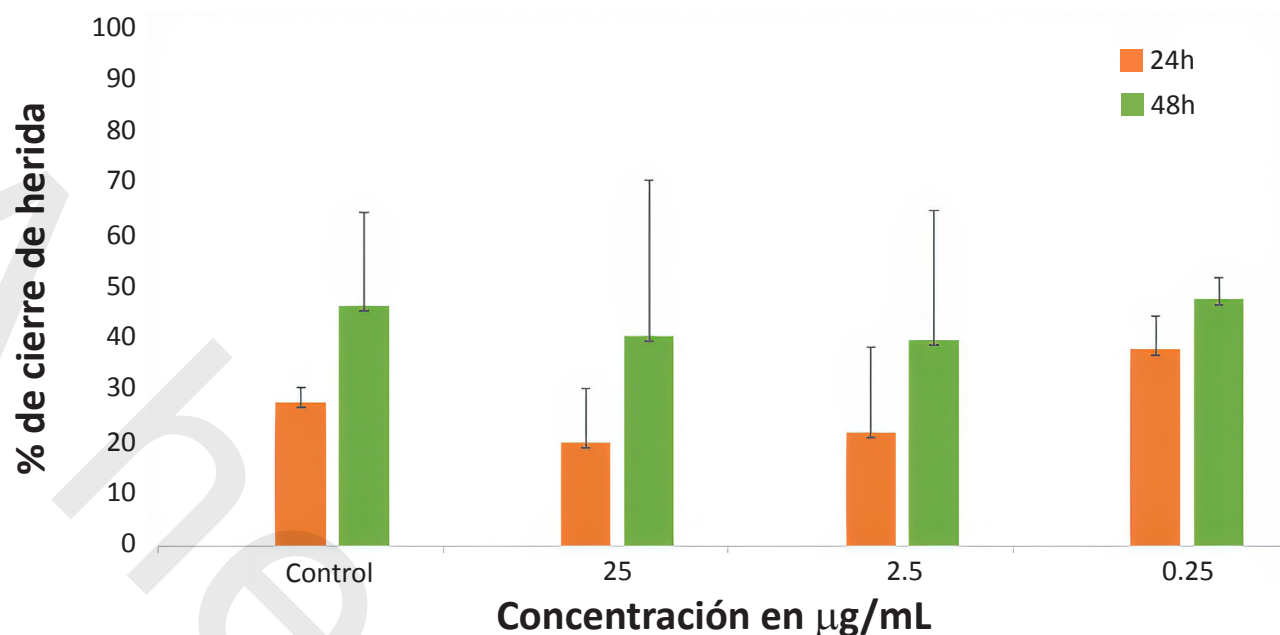
Figure 4. Comparison of wound closure in fibroblasts stimulated with varying concentrations of mango proteins. (A) Initial wound in the control group, followed by images at 24 h (B) and 48 h (C); (D) Initial wound in cells treated with 25 µg/mL of mango proteins, with subsequent closure at 24 h (E) and 48 h (F); (G) Initial wound in cells treated with 2.5 µg/mL, with closure assessed at 24 h (H) and 48 h (I); (J) Initial wound in cells treated with 0.25 µg/mL, with closure observed at 24 h (K) and 48 h (L).

cia hacia una mayor migración celular presente en los cultivos que fueron estimulados con la concentración de 0.25 µg/mL durante 24 h. La longitud de la herida fue más corta a las 48 h en todas las muestras, sin evidencia de una diferencia significativa por efecto de los tratamientos.

DISCUSIÓN

Caracterización del extracto proteico de mango

El patrón electroforético de las proteínas que se identificaron en el presente trabajo coincide con estudios previos de pulpa de mango. Herbert-Doctor y col. (2017) reportaron bandas de 250 kDa, 149 kDa, 75 kDa, 54 kDa,



■ Figura 5. Comparación de la longitud de la herida en porcentaje (%) entre el control y concentraciones de proteínas de mango. Los datos están mostrados como la media $\pm$ el error estándar de al menos 2 experimentos independientes, al inicio 0 h, 24 h y 48 h. El significado estadístico de la migración celular fue determinado realizando un ANOVA de una vía con intervalo de confianza del 95 %, seguido por un análisis *post-hoc* Tukey.

Figure 5. Comparison of wound length in porcentaje (%) between control and mango protein concentrations. The data is shown as the mean $\pm$ standard error (SE) of at least 2 independent experiments, at the beginning 0 h, 24 h y 48 h. The statistical significance of cell migration was determined by performing one-way ANOVA with a 95 % confidence interval, followed by a *post-hoc* Tukey analysis.

24 kDa, 18 kDa y 15 kDa. Así mismo, documentaron la presencia de bandas alrededor de 15 kDa, 30 kDa y 50 kDa. La banda de proteína alrededor de 30 kDa se ha atribuido a la actividad de las lectinas. Otros autores registraron bandas con peso molecular de 14 kDa, 16 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 27 kDa, 30 kDa, 37 kDa, 40 kDa, 43 kDa, 50 kDa, 60 kDa y 70 kDa (Zhou y col., 2016). En donde la banda de 14 kDa pertenece a la familia de las profilinas (Wu y col., 2024). Algunas proteínas como Man i1 (40 kDa) y Man i2 (30 kDa) han sido identificadas como los principales alérgenos (Tsai y col., 2021), aunque la Man i1 de 40 kDa corresponde a la familia de gliceraldehido 3 fosfato deshidrogenasa (GAPDH), la cual está presente tanto en el reino animal como vegetal, por esto, es clasificada como una proteína multifuncional (Kopeckova y col., 2020).

Efecto del extracto de proteínas de mango en la viabilidad celular

Los resultados obtenidos indican que las proteínas aisladas de la pulpa de mango no fueron citotóxicas en ninguna de las dosis evaluadas, no afectaron la viabilidad de los fibroblastos, e incluso, en dosis altas, se identificó una tendencia a una mayor proliferación. Estos hallazgos difieren de lo reportado por Herbert-Doctor y col. (2017), quienes determinaron que el extracto de proteínas de mango presentó, además de un efecto proliferativo un efecto citotóxico, aunque evaluaron la proliferación utilizando concentraciones más bajas que las de este trabajo (0.771 µg/mL y 0.076 µg/mL). También reportaron que, altas concentraciones (3 804 µg/mL) y tiempos de exposición cortos mostraron un efecto citotóxico, a través de la activación de apoptosis y

para tiempos de estimulación prolongados necrosis.

Efecto de las proteínas de mango sobre la migración celular de fibroblastos

Las proteínas se han estudiado tradicionalmente en términos de función nutricional o como alérgenos (Zhou y col., 2016; Rajasekaran y Soundarapadian, 2023; Wu y col., 2024), pero estudiarlas por su efecto cicatrizante es reciente. Varias partes del árbol de mango han sido usadas para curar o tratar diversas condiciones, incluyendo las heridas (Suhatri y col., 2022), debido a que esta planta tiene propiedades antiinflamatorias, antioxidantes y antibacterianas, entre otras (Rajasekaran y Soundarapadian., 2023). Dichas propiedades pueden ser atribuidas al contenido de compuestos fitoquímicos, tales como polifenoles, terpenos, taninos, esteroides y carotenos (Quintana y col., 2021; Kumar y col., 2021; Suhatri y col., 2022).

En otro estudio, Pithayanukul y col. (2009) evaluaron el extracto etanólico de la semilla de mango, las cuales mostraron un efecto inhibitorio en la actividad caseinolítica y fibrinogenolítica del veneno de serpiente en necrosis tisular *in vitro*. Ellos también reportaron que el extracto de mango podría inhibir la actividad de metaloproteasas.

En cuanto a la migración celular, los resultados del estudio mostraron que las proteínas de la pulpa tienden a movilizar los fibroblastos en el cierre de la herida, con la concentración de 0.25 µg/mL mostrando el mejor resultado a las 48 h y favoreciendo la migración moderadamente (Espinosa-Espinosa y col., 2022). Los resultados con la dosis más pequeña, sugieren que a esta concentración las proteínas son más solubles y fueron difundidas con mayor facilidad a las células, aunque faltan realizar estudios que corroboren este mecanismo.

Uno de los mecanismos para llevar a cabo la movilización de los fibroblastos en la herida, podría ser a través de la formación de los fi-

lamentos de actina, los cuales son necesarios para la reestructuración del citoesqueleto y la formación de filopodios y lamelopodios que permiten a la célula moverse de un lugar a otro, un paso fundamental en la cicatrización de las heridas. Algunas proteínas tipo profilinas, encontradas en alimentos como el maíz, han reportado utilizar este mecanismo de migración (Gibbon y col., 1997). En este estudio, la proteína de 40 kDa, presente en el extracto proteico, probablemente tiene actividad GAPDH (Gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa), lo que le permitiría interactuar con proteínas de la matriz extracelular (ECM, por sus siglas en inglés: extracellular matrix proteins) favoreciendo la adhesión de la fibronectina con la región transmembrana de integrina a través de receptores α y β . A través de este proceso, la cascada de señalización intracelular es activada causando un cambio en los filamentos de actina y miosina, por lo tanto, es necesario un reordenamiento del citoesqueleto de los fibroblastos para llevar a cabo la proliferación y migración (Tristan y col., 2011; Kopeckova y col., 2020), no obstante, una limitación del estudio fue la caracterización estructural de las fracciones proteicas.

Anteriormente GAPDH era considerada una proteína cuya función principal era la glicólisis. Sin embargo, se ha demostrado que participa en muchos procesos celulares, como la reparación del DNA, la exportación del RNA de transferencia, la fusión de membranas y transporte; también participa en la dinámica del citoesqueleto, así como en la muerte celular. Su actividad va a depender del estado de oligomerización y modificaciones post-traduccionales. GAPDH se localiza a nivel celular, ya sea en el citoplasma, vesículas, mitocondria, núcleo y membrana celular (Tristan y col., 2011). Cuando se localiza en la membrana sirve como receptor de los componentes de la ECM como la fibronectina, lamininas, fibrinógeno y plasminógeno (Kopeckova y col., 2020). Esto permite que se adhiera a las células interactuando con lisozimas, proteínas del citoesqueleto (actina y miosina), fibronectina,

vitronectina y plasminógeno (Wang y col., 2021). Cuando el GAPDH se localiza en el citoplasma, participa en la formación de microtúbulos debido a que interactúa con la tubulina y actina, promoviendo la polimerización de la actina (Tristan y col., 2011). Durante las etapas del proceso de cicatrización de heridas, los tejidos están en constante remodelación finalizando con el cierre de la herida (Tristan y col., 2011; Huerta y col., 2023) a través de la re-epitelización (Huerta y col., 2023).

Otra vía que pudiera estarse modulando a través de las proteínas del mango, es la activación de proteínas reguladoras de la familia Rho GTPasas, RhoA, Rac1 y Cdc42. Estas proteínas dirigen y regulan diversos procesos celulares como la citocinesis, la adhesión y la motilidad. Las GTPasas actúan como interruptores moleculares y activan la remodelación del citoesqueleto. Dicho proceso se lleva a cabo mediante la polimerización de actina y la formación de lamelipodios (Fu y col., 2022). La formación de estas estructuras requiere de factores que promuevan la nucleación, tales como, WAVE, WASP, WASH, WHAM y JMY, que activan el complejo Arp2/3, el cual es el responsable de la polimerización de actina, de la nucleación (Zheng y col., 2023) y de guiar la polaridad de la célula para el cierre de la herida (Fu y col., 2022).

Suraneni y col. (2012) demostraron la importancia del complejo Arp2/3 en una línea celular de fibroblastos que tenía inhibido el gen *Arpc3* (subunidad 3 del complejo Arp2/3). Cuando lo compararon con fibroblastos normales que expresaban *Arpc3* en un ensayo de cicatrización de herida, observaron que, en fibroblastos, sin la inhibición del gen, la herida se cerró a las 30 h. Por otro lado, en fibroblastos, con inhibición del gen, el cierre de herida se retrasó; las células no lograron extender los lamelipodios, pero generaron pequeños bordes como propulsiones en las membranas. Resulta interesante valorar el impacto de las proteínas de mango en estas vías. A la fecha, lo que se conoce es el potencial cicatr

trizante de un extracto acuoso de hojas de mango en un modelo *in vivo* con ratones blancos machos (*Mus musculus*), en el cual se demostró que la contracción de la herida fue mayor en los animales tratados con este extracto (Suhatri y col., 2022). En otro estudio del extracto crudo de hojas de mango, los autores reportaron que los componentes fitoquímicos como los taninos promueven el cierre de herida en un modelo de ratas de la cepa *Rattus norvegicus* (Nuevo y Bernardino, 2013). De la misma manera, se documentó que la combinación de miel y un extracto de pulpa de mango pulverizado influyeron en el cierre de la herida en un modelo *in vivo* utilizando ratones de Swiss. Este estudio demostró que el 100 % de cierre de la herida ocurrió después de 10 d (Sushanth y col., 2016).

En el caso de las proteínas de la pulpa de mango evaluadas en este estudio, mostraron un efecto moderado sobre la migración de fibroblastos en el cierre de herida. Por lo tanto, se sugiere realizar más estudios para verificar si las proteínas de mango ejercen un efecto citoprotector frente a mecanismos de daño en la piel. También, es conveniente caracterizar las diferentes proteínas involucradas usando técnicas como gel bidimensional y espectrofotometría de masas, con la finalidad de identificar su estructura, así como, realizar el análisis informático de las mismas. De esta manera será posible en un futuro su síntesis con fines farmacológicos (Delahunty y Yates, 2005; López-Macay y col., 2024).

CONCLUSIONES

Las proteínas de mango no mostraron un efecto citotóxico en los cultivos celulares, a las concentraciones empleadas, independientemente del método de preparación. Las técnicas de obtención mediante centrifugación y filtración indujeron un porcentaje mayor de viabilidad con respecto al control, asociado probablemente con una mayor retención de proteínas de bajo peso molecular, como las lectinas, las cuales son mitógenicas, permitiendo una mayor proliferación. Las técnicas de mezclado con DMSO y la de ultrafiltración

se asociaron con la disminución de la viabilidad celular. Las proteínas de mango favorecieron moderadamente la migración celular y se evidenció una disminución en la longitud de la herida, principalmente a las 24 h, por lo que sería recomendable realizar más estudios para establecer la concentración óptima para inducir la máxima eficiencia de cicatrización sin mostrar efecto citotóxico.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Roberto Sánchez Sánchez por el soporte técnico para el análisis

celular de este estudio y la donación de los fibroblastos humanos. Asimismo, a Liliana Ivonne Betancourt Trevedhan y Ricardo Tovar Miranda por su apoyo para la extracción proteica.

DECLARACIÓN DE INTERESES

Los autores declararon no tener conflicto de interés alguno.

REFERENCIAS

- Chen, T., Kunnavatana, S. S., & Koch, R. J. (2006). Effects of mitomycin-C on normal dermal fibroblasts. *The Laryngoscope*, 116(4), 514-517.
- Conejero, L., Higaki, Y., Baeza, M. L., Fernández, M., Varela-Nieto, I., & Zubeldia, J. M. (2007). Pollen-induced airway inflammation, hyper-responsiveness and apoptosis in a murine model of allergy. *Clinical & Experimental Allergy*, 37(3), 331-338. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2007.02660.x>
- Delahunty, C. & Yates III, J. R. (2005). Protein identification using 2d-lc-ms/ms. *Methods*, 35(3), 248-255. <https://doi.org/10.1016/j.jymeth.2004.08.016>
- Espinosa-Espinosa, L., Garduño-Siciliano, L., Rodríguez-Canales, M., Hernández-Portilla, L. B., Canales-Martínez, M. M., & Rodríguez-Monroy, M. A. (2022). The wound-healing effect of mango peel extract on incision wounds in a murine model. *Molecules*, 27(1), 259.
- Fernández-Guarino, M., Hernández-Bule, M. L., & Bacci, S. (2023). Cellular and molecular processes in wound healing. *Biomedicine*, 11(9), 2526.
- Flick, D. A. & Gifford, G. E. (1984). Comparison of in vitro cell cytotoxic assays for tumor necrosis factor. *Journal of Immunological Methods*, 68(1-2), 167-175.
- Fu, J., Liu, B., Zhang, H., Fu, F., Yang, X., Fan, L., & Zhang, S. (2022). The role of cell division controls protein 42 in tumor and non-tumor diseases: a systematic review. *Journal of Cancer*, 13(3), 800-814. <https://doi.org/10.7150/jca.65415>
- Fujii, Y., Kamata, K., Gerdol, M., Hasan, I., Rajia, S., Kawsar, S. M., Padma, S., Chatterjee, B. P., Ohkawa, M., Ishiwata, R., Yoshimot, S., Yamada, M., Matsuzaki, N., Yamada, M., Yamamoto, K., Niimi, Y., Miyaniishi, N., Konno, M., ..., & Fujita, H. (2024). Multifunctional Cell Regulation Activities of the Mussel Lectin SeviL: Induction of Macrophage Polarization toward the M1 Functional Phenotype. *Marine Drugs*, 22(6), 269.
- Gibbon, C. B., Ren, H., & Staiger, J. C. (1997). Characterization of maize (*Zea mays*) pollen profilin function in vitro and in live cells. *Biochemical Journal*, 327(3), 909-915.
- Grada, A., Otero-Vinas, M., Prieto-Castrillo, F., Obagi, Z., & Falanga, V. (2017). Research techniques made simple: analysis of collective cell migration using the wound healing assay. *Journal of Investigative Dermatology*, 137(2), e11-e16. <https://doi.org/10.1016/J.JID.2016.11.020>
- Greening, D. W. & Simpson, R. J. (2010). A centrifugal ultrafiltration strategy for isolating the low-molecular weight (≤ 25 K) component of human plasma proteome. *Journal of Proteomics*, 73(3), 637-648. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2009.09.013>
- Gupta, S., Patel, L., Mitra, K., & Bit, A. (2022). Fibroblast Derived Skin Wound Healing Modeling on Chip under the Influence of Micro-Capillary Shear Stress. *Micromachines* 2022, 13(305), 1-22.
- Herbert-Doctor, L. A., Coutiño-Rodríguez, E. M. R., Palmeros-Sánchez, B., & Sampieri, R. C. L. (2017). Necrotic and Apoptotic Activity of the Protein Extract from Mesocarp in Human Lymphocytes in Culture. *ECORFAN-Bolivia Journal*, 4(6), 28-47.
- Hofmann, E., Fink, J., Pignet, A. L., Schwarz, A., Schellnegger, M., Nischwitz, S. P., & Kotzbeck, P. (2023). Human *In Vitro* Skin Models for Wound Healing and Wound Healing Disorders. *Biomedicine*

nes, 11(4), 1056. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11041056>

Huerta, M., Franco-Serrano, L., Amela, I., Perez-Pons, J. A., Piñol, J., Mozo-Villarias, A., & Cedano, J. (2023). Role of moonlighting proteins in disease: analyzing the contribution of canonical and moonlighting functions in disease progression. *Cells*, 12(2), 235.

Kopeckova, M., Pavkova, I., & Stulik, J. (2020). Diverse localization and protein binding abilities of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase in pathogenic bacteria: the key to its multifunctionality. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10(89), 1-7. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00089>

Krebs, A., Nyffeler, J., Rahnenführer, J., & Leist, M. (2018). Normalization of data for viability and relative cell function curves. *Alternatives to Animal Experimentation: ALTEX*, 35, 268-271. <https://doi.org/10.14573/1803231>

Kumar, M., Saurabh, V., Tomar, M., Hasan, M., Changan, S., Sasi, M., & Mekhemar, M. (2021). Mango (*Mangifera indica* L.) leaves: Nutritional composition, phytochemical profile, and health-promoting bioactivities. *Antioxidants*, 10(2), 299.

Lenucci, M. S., Tornese, R., Mita, G., & Durante, M. (2022). Bioactive compounds and antioxidant activities in different fractions of mango fruits (*Mangifera indica* L., cultivar Tommy Atkins and Keitt). *Antioxidants*, 11(3), 484: 1-21. <https://doi.org/10.3390/antiox11030484>

Lin, P., Zhang, G., & Li, H. (2023). The Role of Extracellular Matrix in Wound Healing. *Dermatologic Surgery*, 49(5S), S41-S48.

López-Macay, A., Montes-Sánchez, D., Narváez-Morales, J., Salas-Paniagua, M., Barrios-Aguilar, S., Zamudio-Cuevas, Y., Fernández-Torres, J. y Martínez, K. (2024). Explorando algunas técnicas proteómicas: Western blot, Dot blot y electroforesis bidimensional complementada con espectrometría de masas. *Investigación en Discapacidad*, 10(3), 187-202.

Marquínez, E. Y. L., Ortega, J. G., Morán, J. M., Campana, W. N. y Figueroa, T. F. (2023). Situación actual y perspectivas del cultivo de mango (*Mangifera indica* L.) en el Sur de Manabi, Ecuador. *Revista UNESUM-Ciencias*, 7(1), 156-172.

Nuevo, J. J. M. & Bernardino, E. R. K. (2013). The effect of *Mangifera indica* (Mango) leaf crude ex-

tract in the wound healing properties of *Rattus norvegicus* (Sprague Dawley). *Fatima University Research Journal*, 5(1), 1-1.

Ousey, K., Chadwick, P., Jawień, A., Tariq, G., Nair, H. K. R., Lázaro-Martínez, J. L., & Moore, Z. (2018). Identifying and treating foot ulcers in patients with diabetes: saving feet, legs and lives. *Journal of Wound Care*, 27(Sup5), S1-S52. <https://doi.org/10.12968/jowc.2018.27.Sup5.S1>

Patil, R., Kale, A. D., Mane, D. R., & Patil, D. (2020). Isolation, culture and characterization of primary cell lines of human buccal mucosal fibroblasts: A combination of explant enzymatic technique. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*, 24(1), 68-75. https://doi.org/10.4103/jomfp.JOMFP_282_19

Pal, R., Mamidi, M. K., Das, A. K., & Bhonde, R. (2012). Diverse effects of dimethyl sulfoxide (DMSO) on the differentiation potential of human embryonic stem cells. *Archives of Toxicology*, 86, 651-661

Pithayanukul, P., Leanpolchareanchai, J., & Sarpapakorn, P. (2009). Molecular docking studies and anti- snake venom metalloproteinase activity of Thai mango seed kernel extract. *Molecules*, 14(9), 3198-3213. <https://doi.org/10.3390/molecules14093198>

Punjataewakupt, A., Napavichayanun, S., & Aramwit, P. (2019). The downside of antimicrobial agents for wound healing. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 38, 39-54.

Quintana, S. E., Salas, S., & García-Zapateiro, L. A. (2021). Bioactive compounds of mango (*Mangifera indica*): A review of extraction technologies and chemical constituents. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(15), 6186-6192. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1145>

Rajasekaran, A. & Soundarapandian, S. (2023). Nutritional and medicinal values of *Mangifera indica* L. fruit. *Trends in Horticulture*, 6(2), 1-12. <https://doi.org/10.24294/th.v6i2.2949>

Raziyeva, K., Kim, Y., Zharkinbekov, Z., Kassymbek, K., Jimi, S., & Saparov, A. (2021). Immunology of acute and chronic wound healing. *Biomolecules*, 11(5), 1-25. <https://doi.org/10.3390/biom11050700>

Shah, K. A., Patel, M. B., Patel, R. J., & Parmar, P. K. (2010). *Mangifera indica* (mango). *Pharmacognosy Reviews*, 4(7), 42-48. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.65325>

Suhatri, S., Fidiyani, D., Azzahra, N., & Suardi, M. (2022). Effectiveness of Mango Leaf Extract (*Mangifera indica* L.) on Healing of Second Level Cut

Wound in Male White Mice (*Mus musculus*). *Journal Kesehatan Terapan*, 9(2), 7-12. <https://doi.org/10.54816/jk.v9i2.520>

Suraneni, P., Rubinstein, B., Unruh, J. R., Durnin, M., Hanein, D., & Li, R. (2012). The Arp2/3 complex is required for lamellipodia extension and directional fibroblast cell migration. *Journal of Cell Biology*, 197(2), 239-251. <https://doi.org/10.1083/jcb.201112113>

Sushanth, K. A., Lakshmi, K. C., & Reddy, D. S. (2016). Evaluation of wound healing activity with a new formulation of dry *Mangifera indica* and honey using swiss albino mice. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 139-142.

Tristan, C., Shahani, N., Sedlak, T. W., & Sawa, A. (2011). The diverse functions of GAPDH: views from different subcellular compartments. *Cellular Signalling*, 23(2), 317-323.

Tsai, W. C., Yin, H. Y., Chen, S. N., Chang, H. C., & Wen, H. W. (2021). Development of monoclonal antibody-based sandwich ELISA for detecting major mango allergen Man i1 in processed foods. *Journal of Food Safety*, 41(2), e12884.

Wang, J., Li, Y., Pan, L., Li, J., Yu, Y., Liu, B., & Xiong, Q. (2021). Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) moonlights as an adhesin in *Mycoplasma hyorhinis* adhesion to epithelial cells as well as a plasminogen receptor mediating extracellular matrix degradation. *Veterinary Research*, 52(1), 1-14. <https://doi.org/10.1186/s13567-021-00952-8>

Wei, F., Zhao, L., & Jing, Y. (2020). Mechanisms underlying dimethyl sulfoxide-induced cellular migration in human normal hepatic cells. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 80, 103489.

Wu, C. C., Lin, C. C., Yin, H. Y., Tsai, W. C., Yang, P. F., Liu, H. J., & Wen, H. W. (2024). Rapid detection of mango allergen in processed foods using an immunomagnetic nanoparticle-based electrochemical immunosensor. *Microchemical Journal*, 1100, 1-16.

Zheng, S., Qin, F., Yin, J., Li, D., Huang, Y., Hu, L., & Hu, W. (2023). Role and mechanism of actin-related protein 2/3 complex signaling in cancer invasion and metastasis: A review. *Medicine*, 102(14), 1-8.

Zhou, C., Ludmila, T., Sun, N., Wang, C., Pu, Q., Huang, K., & Che, H. (2016). BALB/c mice can be used to evaluate allergenicity of different food protein extracts. *Food and Agricultural Immunology*, 27(5), 589-603.