

ÍNDICE

Contenido	Página
1. Resumen	1
2. Introducción	3
3. Revisión bibliográfica	5
3.1. Enfermedades cardiovasculares	5
3.2. Hemostasia	5
3.3. Plaquetas, estructura y función	6
3.3.1. Activación y agregación plaquetaria	8
3.4. Infecciones bacterianas y trombosis	10
3.5. Inmunidad innata	13
3.5.1. Receptores Toll Like	13
3.5.2. Lipopolisacárido	14
3.5.3 Plaquetas y su capacidad de modular el Sistema Inmune	16
3.6. Antiagregantes plaquetarios	19
3.6.1. Aspirina	19
3.6.2. Antiagregantes naturales	20
4. Objetivos	23
4.1. Objetivo general	23
4.2. Objetivos específicos	23
5. Materiales y Métodos	24
5.1 Preparación de extractos de berries	24
5.2 Estudio del efecto inhibitorio de extractos de berries y derivados del ácido hidroxicinámico sobre la agregación plaquetaria mediada por TLR-4	25
5.2.1. Agregación plaquetaria mediada por TLR-4	25
5.2.1.1. Toma muestra	25

5.2.1.2. Obtención de PRP y PPP	26
5.2.1.3. Agonista	26
5.2.1.4. Lipopolisacárido Bacteriano	27
5.2.1.5. Inhibidores de la función plaquetaria	27
5.3. Inhibición de la agregación plaquetaria mediada por TLR-4 con extractos de berries y derivados del ácido hidroxicinámico	27
5.4. Análisis estadístico	28
6. Resultados	29
6.1. Estudio de la agregación plaquetaria	29
6.2. Agregación plaquetaria mediada por TLR-4	29
6.3. Inhibición de la agregación plaquetaria mediada por TLR-4	31
6.3.1. Efecto extractos de berries sobre la agregación plaquetaria mediada por TLR-4	34
6.3.2. Ensayo de Viabilidad Celular	35
6.3.2.1. Viabilidad Celular con extracto de Arándano	35
6.3.2.2. Viabilidad Celular con extractos de Calafate	36
6.3.2.3. Viabilidad Celular con extracto de Frutilla	42
6.3.2.4. Viabilidad Celular con extracto de Maqui	43
6.4. Efecto inhibidor extractos de berries sobre la agregación plaquetaria mediada por TLR-4	44
6.4.1. Efecto inhibidor extracto de Arándano	46
6.4.2. Efecto inhibidor extractos de Calafate	48
6.4.3. Efecto inhibidor extracto de Frutilla	54
6.4.4. Efecto inhibidor extracto de Maqui	56
6.5. Efecto inhibidor extractos de berries dosis dependiente sobre la agregación plaquetaria mediada por TLR-4	60
6.5.1. Efecto inhibidor extracto de Maqui dosis dependiente	60
6.5.2. Efecto inhibidor extracto de Frutilla dosis dependiente	63
6.5.3. Efecto inhibidor extracto de Calafate Reserva Magallanes dosis dependiente	65

6.6. Actividad de compuestos derivados de ácido hidroxicinámico sobre la agregación plaquetaria mediada por TLR-4	68
6.6.1. Viabilidad Celular con Ácido Ferúlico	69
6.6.2. Viabilidad Celular con Ácido Cafeico	70
6.6.3. Viabilidad Celular con Ácido p-Cumárico	71
6.7. Actividad antiagregante de compuestos derivados del ácido hidroxicinámico sobre la agregación plaquetaria mediada por TLR-4	72
6.7.1. Actividad antiagregante de Ácido Ferúlico	73
6.7.2. Actividad antiagregante de Ácido Cafeico	78
6.7.3. Actividad antiagregante de Ácido p-Cumárico	84
7. Discusión	89
8. Conclusión	100
9. Bibliografía	101

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Función hemostática y protrombótica de las plaquetas.	9
Figura 2. Mecanismos implicados en la activación plaquetaria mediada por TLR-4.	15
Figura 3. Plaquetas activadas con LPS median la interacción célula-célula y modulan la respuesta inmune.	18
Figura 4. Efecto del Lipopolisacárido bacteriano sobre la agregación plaquetaria inducida por ADP.	30
Figura 5. Representación de controles empleados en agregación plaquetaria de compuestos y extractos.	33
Figura 6. Efecto extractos de berries sobre PRP.	34
Figura 7. Viabilidad celular con extracto Arándano por método Azul Tripan (AT) Y MTT.	36
Figura 8. Viabilidad celular con extracto Calafate Aeropuerto por método Azul Tripan (AT) Y MTT.	37
Figura 9. Viabilidad celular con extracto Calafate Cárcel por método Azul Tripan (AT) y MTT.	38
Figura 10. Viabilidad celular con extracto Calafate Lynch por método Azul Tripan (AT) y MTT.	39
Figura 11. Viabilidad celular de con extracto Calafate Puerto Hambre por método Azul Tripan (AT) y MTT.	40
Figura 12. Viabilidad celular con extracto Calafate Reserva Magallanes por método Azul Tripan (AT) y MTT.	41

Figura 13. Viabilidad celular con extracto Frutilla por método Azul Tripan (AT) Y MTT.	42
Figura 14. Viabilidad celular con extracto maqui por método Azul Tripan (AT) y MTT.	43
Figura 15. Controles del ensayo de inhibición de la agregación plaquetaria por extractos de berries.	45
Figura 16. Efecto inhibitorio extracto de Arándano sobre la agregación plaquetaria.	47
Figura 17. Efecto inhibitorio extractos de Calafate Aeropuerto sobre agregación plaquetaria.	49
Figura 18. Efecto inhibitorio extractos de Calafate Cárcel sobre la agregación plaquetaria.	50
Figura 19. Efecto inhibitorio extractos Calafate Lynch sobre agregación plaquetaria.	51
Figura 20. Efecto inhibitorio extracto calafate Puerto Hambre sobre agregación plaquetaria.	52
Figura 21. Efecto inhibitorio extracto Calafate Reserva Magallanes sobre la agregación plaquetaria.	53
Figura 22. Efecto inhibitorio extracto Frutilla sobre la agregación plaquetaria.	55
Figura 23. Efecto inhibitorio extracto Maqui sobre agregación plaquetaria.	57
Figura 24. Representación gráfica del porcentaje de inhibición con extractos de berries sobre la agregación plaquetaria.	59
Figura 25. Efecto inhibitorio extracto de Maqui dependiente de dosis sobre la agregación plaquetaria mediada por TLR-4.	61

Figura 26. Representación gráfica del efecto inhibitorio extracto de Maqui dependiente de concentración sobre la agregación plaquetaria inducida por ADP y mediada por TLR-4.	62
Figura 27. Efecto inhibitorio extracto de Maqui dependiente de concentración sobre agregación plaquetaria mediada por TLR-4.	63
Figura 28. Representación gráfica del efecto inhibitorio extracto de Frutilla dependiente de concentración sobre la agregación plaquetaria mediada por TLR-4.	64
Figura 29. Efecto inhibitorio extracto de Calafate Reserva Magallanes dependiente de concentración sobre la agregación plaquetaria mediada por TLR-4.	65
Figura 30. Representación gráfica del efecto inhibitorio de la agregación plaquetaria mediada por TLR-4 con extracto de Calafate Reserva Magallanes dependiente de concentración.	66
Figura 31. Viabilidad celular con Ácido Ferúlico por método Azul Tripan (AT) y MTT.	69
Figura 32. Viabilidad celular con Ácido Cafeico por método Azul Tripan (AT) y MTT.	70
Figura 33. Viabilidad celular con Ácido p-Cumárico por método Azul Tripan (AT) y MTT.	71
Figura 34. Efecto inhibitorio del Ácido Ferúlico en la agregación plaquetaria mediada por TLR-4.	73
Figura 35. Representación grafica del efecto inhibitorio del Ácido Ferúlico en la agregación plaquetaria mediada por TLR-4.	74
Figura 36. Efecto inhibitorio del Ácido Ferúlico dosis dependiente sobre la agregación plaquetaria mediada por TLR-4.	75

Figura 37. Efecto inhibitorio del Ácido Ferúlico en la agregación plaquetaria mediada por TLR-4.	76
Figura 38. Efecto inhibitorio del Ácido Cafeico en la agregación plaquetaria mediada por TLR-4.	79
Figura 39. Efecto inhibitorio dosis dependiente del Ácido Cafeico en la agregación plaquetaria mediada por TLR-4.	80
Figura 40. Efecto inhibitorio del Ácido Cafeico dosis dependiente en la agregación plaquetaria mediada por TLR-4.	81
Figura 41. Efecto inhibitorio del Ácido p-Cumárico en la agregación plaquetaria mediada por TLR-4.	82
Figura 42. Efecto inhibitorio del Ácido p-Cumárico en la agregación plaquetaria mediada por TLR-4.	84
Figura 43. Efecto inhibitorio del Ácido p-Cumárico en la agregación plaquetaria mediada por TLR-4.	85
Figura 44. Efecto inhibitorio del Ácido p-Cumárico dependiente de dosis en la agregación plaquetaria mediada por TLR-4.	86
Figura 45. Efecto inhibitorio del Ácido p-Cumárico dependiente de dosis en la agregación plaquetaria mediada por TLR-4.	86

ÍNDICE TABLAS

Tabla 1. DATOS INHIBICIÓN DE LA AGREGACIÓN PLAQUETARIA CON EXTRACTOS DE BERRIES.	58
Tabla 2. DATOS DE INHIBICIÓN DE LA AGREGACIÓN PLAQUETARIA DEPENDIENTE DE CONCENTRACIÓN CON EXTRACTOS DE BERRIES.	67
Tabla 3. DATOS DE INHIBICIÓN CON ÁCIDO FERÚLICO DE AGREGACIÓN PLAQUETARIA MEDIADA POR TLR-4.	77
Tabla 4. DATOS DE INHIBICIÓN CON ÁCIDO CAFEICO DE AGREGACIÓN PLAQUETARIA MEDIADA POR TLR-4.	83
Tabla 5. DATOS DE INHIBICIÓN CON ÁCIDO p-CUMÁRICO DE AGREGACIÓN PLAQUETARIA.	88