

ÍNDICE

1. RESUMEN.....	1
2. INTRODUCCIÓN.....	2
3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	3
3.1. Hemostasia.....	3
3.1.1. Plaquetas.....	4
3.1.2. Receptores plaquetarios.....	5
3.1.3. Adhesión y extensión de plaquetas.....	7
3.1.4. Agregación plaquetaria.....	7
3.2. Enfermedades cardiovasculares y aterogénesis.....	8
3.2.1 Epidemiología de enfermedades cardiovasculares en Chile.....	8
3.2.2 Rol de las plaquetas en la aterogénesis.....	10
3.2.3 Interacción plaqueta-endotelio.....	11
3.2.4 Interacción plaqueta-leucocito.....	11

3.3. Compuestos naturales y actividad antiplaquetaria.....	13
3.3.1 Actividad antiagregante del Tomate.....	13
4. HIPÓTESIS.....	14
5. OBJETIVOS.....	14
5.1. Objetivo general.....	14
5.2. Objetivos específicos.....	14
6. MATERIALES Y MÉTODOS.....	15
6.1 Evaluación de agregación plaquetaria.....	15
6.1.1. Agregación plaquetaria.....	15
6.1.2. Agonistas.....	15
6.1.3. Compuesto Bioactivo.....	15
6.1.4. Preparación de plasma rico en plaquetas y plasma pobre en plaquetas.....	16
6.1.5. Procedimiento ensayo agregación plaquetaria.....	17

6.2. Procedimiento para obtener plaquetas lavadas.....	18
6.2.1 Preparación buffer de extracción.....	18
6.2.2 Preparación buffer de lavado (CAF) y buffer de resuspensión (TAF).....	19
6.2.3 Selección de donantes.....	20
6.2.4 Extracción de sangre.....	20
6.2.5 Lavado de plaquetas.....	21
6.3 Western blot.....	21
6.3.1. Preparación de muestras.....	22
6.3.2. Lisis de muestras.....	22
6.3.3. Electroforesis en gel SDS-poliacrilamida.....	23
6.3.4. Electrotransferencia.....	23
6.3.5. Enzimoimmunoensayo indirecto: Incubación con anticuerpos específicos....	24
6.3.6.1 Bloqueo de la membrana.....	24
6.3.6.2 Incubación con anticuerpo primario.....	24
6.3.6.3 Incubación con anticuerpo secundario.....	24
6.3.7. Revelado de membrana.....	25
6.4 Determinación de AMPc.....	25
6.4.1. Preparación de muestras.....	25
6.4.2 Lisis de muestras.....	26

6.4.3 Determinación de AMPc intraplaquetario.....	26
6.5 Análisis estadístico.....	26
7. RESULTADOS.....	27
7.1. Efecto de la guanosina sobre la agregación plaquetaria.....	27
7.2. Efecto de la guanosina en los niveles de cAMP intraplaquetario.....	28
7.3. Efecto de la AMPc en fosforilación de PKA.....	28
8. DISCUSIÓN.....	30
9. CONCLUSIÓN.....	31
10. BIBLIOGRAFÍA.....	32

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. Participación de las plaquetas en la hemostasia primaria.....	4
FIGURA 2. Rol de las plaquetas en la respuesta inflamatoria vascular asociada a aterosclerosis.....	12
FIGURA 3. Obtención de plasma rico en plaquetas (PRP) y plasma pobre en plaquetas (PPP).	17
FIGURA 4. Actividad antiagregante plaquetaria de guanosina.....	27
FIGURA 5. Efecto de guanosina sobre los niveles intraplaquetarios de AMPc.....	28
FIGURA 6. Efecto de guanosina sobre la expresión de p-PKA.....	29

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA1. Asociación de receptores glicoproteícos a su ligando y respectiva función plaquetaria.....	5
TABLA 2. Asociación de receptores no glicoproteícos y su respectiva función plaquetaria.....	6
TABLA 3. Agonistas más comunes que inducen respuesta plaquetaria.....	7
TABLA 4. Prevalencia de principales factores de riesgo cardiovasculares.....	9
TABLA 5. Reactivos buffer de extracción.....	18
TABLA 6. Soluciones stock.....	19

TABLA 7. Buffer lavado CAF y buffer de resuspensión TAF.....20