

## INDICE DE CONTENIDOS

1. RESUMEN	8
2. INTRODUCCIÓN	10
3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	12
3.1 Enfermedades cardiovasculares	12
3.2 Hemostasia	13
3.2.1 Hemostasia Primaria	14
3.2.2 Hemostasia Secundaria	15
3.2.3 Fibrinólisis	17
3.3 Estructura y fisiología plaquetaria	18
3.4 Agregación plaquetaria	24
3.5 Estrés oxidativo	29
3.6 Disfunción endotelial	29
3.7 Antiagregantes plaquetarios	30
3.8 Prevención de enfermedades cardiovasculares por compuestos bioactivos	31
3.9 Llantén y la prevención de enfermedades cardiovasculares	33
4. OBJETIVOS	36
5. MATERIALES Y MÉTODOS	37
5.1 <i>Plantago major</i>	37
5.2 Preparación de los extractos	37
5.3 Estudio del efecto antiagregante plaquetario	38
5.3.1 Toma de muestra	38
5.3.2 Obtención de PRP y PPP	39
5.3.3 Agregación plaquetaria	40
5.3.4 Agonistas	41
5.4 Medición de la activación plaquetaria	42
5.5 Determinación de fenoles totales	43
5.6 Determinación de flavonoides totales	44
5.7 Capacidad antioxidante por ensayo de reducción del radical DPPH	45

5.8 Análisis estadístico	47
6. RESULTADOS	48
6.1 Estudio de la actividad antiagregante plaquetaria	48
6.2 Estudio de la actividad antiagregante plaquetaria de <i>Plantago major</i>	52
6.3 Medición de la activación plaquetaria por citometría de flujo	63
6.4 Cuantificación de fenoles totales en extracto de llantén	67
6.5 Cuantificación de flavonoides totales en extracto de llantén	68
6.6 Capacidad antioxidante por ensayo de reducción del radical DPPH	69
7. DISCUSIÓN	71
8. CONCLUSIÓN	80
9. BIBLIOGRAFÍA	81
10. ANEXOS	88

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Esquema simplificado de la cascada de la coagulación	17
Figura 2: Esquema de las principales características de la ultraestructura plaquetaria	20
Figura 3: Principales agonistas y proteínas de adhesión participan en la activación plaquetaria	26
Figura 4: Estructura básica del esqueleto flavonólico	32
Figura 5: <i>Plantago major</i>	35
Figura 6: Equipos utilizados en la preparación de extracto	38
Figura 7: Técnica de extracción de muestra sanguínea	39
Figura 8: Agregómetro	41
Figura 9: Citómetro de flujo	43
Figura 10: Lector de multiplaca	44
Figura 11: Inhibición de la agregación plaquetaria con controles positivos y negativo, inducida por ADP (4 $\mu$ M).	49
Figura 12: Inhibición de la agregación plaquetaria con controles positivos y negativo, inducida por TRAP-6 (10 $\mu$ M).	50
Figura 13: Inhibición de la agregación plaquetaria con controles positivos y negativo, inducida por colágeno (1 $\mu$ g/ml).	51
Figura 14: Efecto del extracto de Llantén en las plaquetas.	53
Figura 15: Efecto del extracto de Llantén (1mg/mL) sobre la agregación plaquetaria, en comparación con controles positivo y negativo, inducida por ADP (4 $\mu$ M).	54
Figura 16: Efecto del extracto de llantén a distintas concentraciones sobre la agregación plaquetaria, en comparación con controles negativo, inducida por ADP (4 $\mu$ M).	56
Figura 17: Efecto del extracto de llantén (1mg/mL) sobre la agregación plaquetaria, en comparación con controles positivo y negativo, inducida por TRAP-6 (10 $\mu$ M).	58
Figura 18: Efecto del extracto de llantén a distintas concentraciones sobre la agregación plaquetaria, en comparación con controles negativo, inducida por TRAP-6 (10 $\mu$ M).	59
Figura 19: Efecto del extracto de llantén (1mg/mL) sobre la agregación plaquetaria, en comparación con controles positivo y negativo, inducida por colágeno (1 $\mu$ g/ml).	61
Figura 20: Efecto del extracto de llantén a distintas concentraciones sobre la agregación plaquetaria, en comparación con controles negativo, inducida por colágeno (1 $\mu$ g/ml).	62

Figura 21: Detección de parámetros iniciales en citometría.	64
Figura 22: Efecto en la activación de plaquetas lavadas con extracto de llantén.	65
Figura 23: Porcentaje de activación plaquetaria.	66
Figura 24: Curva de calibración para la cuantificación de fenoles totales en extracto de llantén (1mg/ml).	68
Figura 25: Curva de calibración para la cuantificación de flavonoides totales en extracto de llantén (1mg/ml).	69
Figura 26: Capacidad antioxidante de extracto de llantén.	70
Figura 27: Estructura química Plantain A	73
Figura 28: Mecanismo de inhibición de la agregación y activación plaquetaria, por polifenoles, otros antioxidantes y fármacos antiplaquetarios.	77

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Factores de la coagulación	16
Tabla 2: Glicoproteínas mayores de la membrana plaquetaria	21
Tabla 3: Agonistas más comunes que inducen respuesta plaquetaria	25