

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 μ M). | 49 |
| Figura 12: Inhibición de la agregación plaquetaria con controles positivos y negativo, inducida por TRAP-6 (10 μ M). | 50 |
| Figura 13: Inhibición de la agregación plaquetaria con controles positivos y negativo, inducida por colágeno (1 μ 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 μ 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 μ 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 μ 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 μ 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 μ 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 μ 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 |