

## ÍNDICE GENERAL

	Página
1- RESUMEN	1
2- INTRODUCCIÓN	2
3- OBJETIVOS	4
3.1 Objetivo General	4
3.2 Objetivos Específicos	4
4- HIPÓTESIS	5
5- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	6
5.1 Hemostasia Primaria	6
5.2 Plaquetas	8
5.2.1 Generalidades	8
5.2.2 Agonistas Plaquetarios	9
5.2.3 Receptores Plaquetarios	9
5.2.4 Glicoproteína Ib-IX-V, PAR1 y PAR4	10
5.3 Akt 1	16
5.4 Aterosclerosis	19
5.5 <i>Phaseolus vulgaris</i>	21
5.5.1 Generalidades	21
5.5.2 Efectos benéficos estudiados	24
6- MATERIALES Y MÉTODOS	26
6.1 Flebotomía	26
6.2 Obtención de Plaquetas Lavadas	27
6.3 Incubación de Plaquetas con Agonistas	28
6.4 Obtención de Proteínas Citosólicas	29
6.5 Cuantificación de Proteínas	29
6.6 Western blot de Lisado Plaquetario	30
6.6.1 Electroforesis de Proteínas	30

6.6.2 Transferencia	32
6.6.3 Preparación de la Membrana	33
6.6.4 Revelado	34
6.6.5 Stripping	34
6.6.6 Análisis de Resultados	35
7- RESULTADOS	36
7.1 Lavado de Plaquetas	36
7.2 Extracción de Proteínas Citosólicas y Cuantificación	36
7.3 Western blot	38
7.3.1 Electroforesis de Proteínas	38
7.3.2 Revelado	39
7.4 Análisis de Resultados	41
8- DISCUSIÓN	44
9- CONCLUSIÓN	50
10- BIBLIOGRAFÍA	51
11- ANEXO	55

## ÍNDICE DE TABLAS

	Página
<b>TABLA 1:</b> MEDIA EN EL CONTENIDO PROTEICO Y MINERAL, Y HEREDABILIDAD ESTIMADA OBTENIDA TRAS LA EVALUACIÓN DE 100 VARIEDADES DE FRIJOL COMÚN DEL BANCO DE SEMILLAS DE UFLA (Silva, C., <i>et al</i> )	23
<b>TABLA 2:</b> PROTOCOLO DE PREPARACIÓN DE GELES PARA ELECTROFORESIS DE PROTEÍNAS.	30
<b>TABLA 3:</b> CUANTIFICACIÓN DE PROTEÍNAS EN LAS MUESTRAS	37
<b>TABLA 4:</b> RESULTADOS NUMÉRICOS DEL ESTUDIO DENSITOMÉTRICO DE LAS BANDAS	42

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
<b>FIGURA 1 Y 2:</b> ESQUEMAS DE LOS PROCESOS REALIZADOS POR LA PLAQUETA EN LA HEMOSTASIA PRIMARIA (Clemetson, K. 2012) (Offermanns, S. 2006).	8
<b>FIGURA 3:</b> ORGANIZACIÓN EN LA MEMBRANA PLAQUETARIA DE LAS GLICOPROTEÍNAS DEL COMPLEJO Ib-XI (Hongquan, G., <i>et al.</i> 2011).	12
<b>FIGURA 4:</b> MECANISMO DE ACTIVACIÓN DE LOS PARs. SE MUESTRA LA ACTIVACIÓN EN PAR1 Y PAR4 EN HUMANOS, Y LA CONTRIBUCIÓN DE GP IB-IX-V EN ESTA FUNCIÓN (Brass, L. 2003).	14
<b>FIGURA 5:</b> PARTICIPACIÓN DE LOS RECEPTORES ACOPLADOS A PROTEÍNA G EN LA ACTIVACIÓN PLAQUETARIA (Smyth, S., <i>et al.</i> 2009).	16
<b>FIGURA 6:</b> ESTRUCTURA CRISTALOIDE DE AKT. SE DESTACAN EL DOMINIO HOMÓLOGO A PLECKTRINA (AMARILLO), DOMINIO CATALÍTICO (CELESTE), Y EL EXTREMO CARBOXILO TERMINAL (ROJO) (Kumar, C. 2005).	17
<b>FIGURA 7:</b> EFECTOS EN LA FUNCIÓN PLAQUETARIA DE LA VÍA DE SEÑALIZACIÓN DONDE PARTICIPA AKT (Stojaovic, A., <i>et al.</i> 2006).	18
<b>FIGURA 8:</b> ESQUEMA DE LA FUNCIÓN INTERMEDIARIA DE LAS PLAQUETAS EN LA ACTIVACIÓN Y MIGRACIÓN DE LOS LEUCOCITOS PARA LA FORMACIÓN DE LA PLACA DE ATEROMA (Kaplan, Z., Jackson, S. 2011).	21
<b>FIGURA 9:</b> PROTOCOLO DE OBTENCIÓN DE PLAQUETAS LAVADAS EN REPOSO	28
<b>FIGURA 10:</b> PROTOCOLO DE CARGA DE LAS MUESTRAS EN LOS GELES. A) GEL 1. B) GEL 2. ADP, EXT (EXTRACTO), AA (ÁCIDO ARAQUIDÓNICO), COL (COLÁGENO), TRAP, MWM (MARCADOR DE PESO MOLECULAR), PGE-1, AAS (ÁCIDO ACETIL SALICÍLICO).	31

<b>FIGURA 11:</b> RESULTADOS DE LA ELECTROFORESIS DE LAS MUESTRAS.	38
<b>FIGURA 12:</b> A LA IZQUIERDA, PRIMER WESTERN BLOT EFECTIVO CON ANTICUERPO PRIMARIO ANTI-AKT1. A LA DERECHA, Y PRIMER WESTERN BLOT USANDO ANTICUERPO PRIMARIO ANTI $\gamma$ -TUBULINA TRAS PRIMER STRIPPING.	39
<b>FIGURAS 13, 14, 15 Y 16:</b> RESULTADOS BRUTOS DEL ESTUDIO, RESPECTIVAMENTE CORRESPONDEN A ANTI AKT1 M1 Y M2, Y ANTI $\gamma$ -TUBULINA M1 Y M2	40
<b>FIGURA 17 Y 18:</b> BANDAS RESULTANTES TRAS EL REVELADO, Y A QUE MUESTRA CORRESPONDE.	41
<b>FIGURA 19:</b> RESULTADOS DEL ESTUDIO DENSITOMÉTRICO DE M1.	42
<b>FIGURA 20:</b> RESULTADOS DEL ESTUDIO DENSITOMÉTRICO DE M2	43
<b>FIGURA 21:</b> COMPARACIÓN ENTRE LOS NIVELES DE INHIBICIÓN DEL EXTRACTO (M1) Y DEL CONTROL POITIVO (M2)	43