

ÍNDICE

| Contenido | Página |
|---|--------|
| 1. RESUMEN | 1 |
| 2. INTRODUCCIÓN | 2 |
| 3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA | 3 |
| 3.1 Sepsis y sus complicaciones trombóticas | 3 |
| 3.2 Fisiología de las plaquetas | 5 |
| 3.3 Rol de las plaquetas en inflamación e inmunidad durante la sepsis | 7 |
| 3.4 Receptores Tipo Toll (TLRs) | 13 |
| 3.5 Agentes antiplaquetarios | 17 |
| 3.5.1 Berries y acción anti-trombótica | 17 |
| 4. OBJETIVOS | 20 |
| 4.1 Objetivo General | 20 |
| 4.2 Objetivos Específicos | 20 |
| 5. MATERIALES Y MÉTODOS | 21 |
| 5.1 Reactivos | 21 |
| 5.2 Obtención de Plasma Rico en Plaquetas y Pobre en Plaquetas | 22 |

| | |
|--|-----------|
| 5.3 Obtención de Plaquetas Lavadas | 23 |
| 5.4 Agregación plaquetaria | 24 |
| 5.6 Análisis estadístico | 25 |
| 6. RESULTADOS | 27 |
| 6.1 Estandarización de la técnica de agregación plaquetaria | 27 |
| 6.2 Efecto antiagregante de agentes antiplaquetarios | 34 |
| 6.3 Estudio de viabilidad celular | 38 |
| 6.4 Efecto antiagregante de extractos de Berries | 41 |
| 6.5 Efecto antiagregante de compuestos bioactivos de Berries | 56 |
| 7. DISCUSIÓN | 78 |
| 8. CONCLUSIÓN | 82 |
| 9. REFERENCIAS | 85 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. Contribución de las plaquetas a la complicación de la sepsis | 4 |
| Figura 2. Participación de las plaquetas en la hemostasia | 6 |
| Figura 3. Las plaquetas como reguladores inmunes durante la sepsis | 10 |
| Figura 4. TLRs potencialmente ligados a la inmunidad innata | 14 |
| Figura 5. Mecanismos de la activación plaquetaria vía TLR2 | 16 |
| Figura 6. Agregación plaquetaria utilizando PRP y Pam3CSK4 | 28 |
| Figura 7. Agregación plaquetaria utilizando PL y Pam3CSK4 | 29 |
| Figura 8. Curva de concentración de Pam3CSK4 | 31 |
| Figura 9. Obtención de extractos | 32 |
| Figura 10. Estandarización de la técnica de agregación plaquetaria | 33 |
| Figura 11. Inhibición plaquetaria mediada por BAY 11-7085 | 35 |
| Figura 12. Inhibición plaquetaria mediada por AAS | 36 |
| Figura 13. Comparación de BAY 11-7085 y AAS | 37 |
| Figura 14. Estudio de viabilidad celular por el uso de extractos | 39 |
| Figura 15. Estudio de viabilidad celular por el uso de compuestos | 40 |
| Figura 16. Efecto inhibitor de <i>Solanum lycopersicum</i> | 41 |
| Figura 17. Efecto inhibitor concentración-dependiente de <i>Solanum lycopersicum</i> | 43 |
| Figura 18. Efecto inhibitor de <i>Vaccinium spp. var. duke</i> | 45 |

| | |
|---|----|
| Figura 19. Efecto inhibidor concentración dependiente de <i>Vaccinium spp. var. duke</i> | 46 |
| Figura 20. Efecto inhibidor de <i>Vaccinium spp. var. o'neal</i> | 48 |
| Figura 21. Efecto inhibidor concentración-dependiente de <i>Vaccinium spp. var. o'neal</i> | 49 |
| Figura 22. Efecto inhibidor de <i>Berberis microphyla</i> | 51 |
| Figura 23. Efecto inhibidor concentración-dependiente de <i>Berberis microphyla</i> | 52 |
| Figura 24. Efecto inhibidor de <i>Fragaria ananassa</i> | 54 |
| Figura 25. Efecto inhibidor concentración-dependiente de <i>Fragaria ananassa</i> | 55 |
| Figura 26. Efecto inhibidor de ácido cafeico | 57 |
| Figura 27. Efecto inhibidor concentración-dependiente de ácido cafeico | 58 |
| Figura 28. Efecto inhibidor de ácido ferúlico | 60 |
| Figura 29. Efecto inhibidor concentración-dependiente de ácido ferúlico | 61 |
| Figura 30. Efecto inhibidor de ácido <i>p</i> -cumárico | 63 |
| Figura 31. Efecto inhibidor concentración-dependiente de ácido <i>p</i> -cumárico | 64 |
| Figura 32. Efecto inhibidor de adenosina | 66 |
| Figura 33. Efecto inhibidor concentración-dependiente de adenosina | 67 |
| Figura 34. Efecto inhibidor de inosina | 69 |
| Figura 35. Efecto inhibidor concentración-dependiente de inosina | 70 |
| Figura 36. Efecto inhibidor de guanósina | 72 |
| Figura 37. Efecto inhibidor concentración-dependiente de guanósina | 73 |

Figura 38. Efecto inhibidor de AMP

75

Figura 39. Efecto inhibidor concentración-dependiente de AMP

76

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|---|----|
| Tabla 1. Moléculas plaquetarias que no poseen función hemostática | 8 |
| Tabla 2. Efecto agregante utilizando PRP y Pam3CSK4 (10 µg/mL) | 28 |
| Tabla 3. Efecto agregante utilizando PL y Pam3CSK4 (10 µg/mL) | 30 |
| Tabla 4. Efecto agregante a distintas concentraciones de Pam3CSK4 | 31 |
| Tabla 5. Efecto agregante de PL utilizando Pam3CSK4 (10 µg/mL), estandarización de la técnica | 33 |
| Tabla 6. Efecto inhibidor de BAY 11-7085 dependiente de concentración | 35 |
| Tabla 7. Efecto inhibidor de ácido acetilsalicílico dependiente de concentración | 37 |
| Tabla 8. Efecto inhibidor de AAS y BAY 11-7085 | 38 |
| Tabla 9. Efecto inhibidor de <i>Solanum lycopersicum</i> | 42 |
| Tabla 10. Efecto inhibidor concentración-dependiente de <i>Solanum lycopersicum</i> | 43 |
| Tabla 11. Efecto inhibidor de <i>Vaccinium spp. var. duke</i> | 45 |
| Tabla 12. Efecto inhibidor concentración-dependiente de <i>Vaccinium spp. var. duke</i> | 47 |
| Tabla 13. Efecto inhibidor de <i>Vaccinium spp. var. o'neal</i> | 48 |
| Tabla 14. Efecto inhibidor concentración-dependiente de <i>Vaccinium spp. var. o'neal</i> | 50 |
| Tabla 15. Efecto inhibidor de <i>Berberis microphyla</i> | 51 |
| Tabla 16. Efecto inhibidor concentración-dependiente de <i>Berberis microphyla</i> | 53 |
| Tabla 17. Efecto inhibidor de <i>Fragaria ananassa</i> | 54 |

| | |
|---|----|
| Tabla 18. Efecto inhibidor concentración-dependiente de <i>Fragaria ananassa</i> | 56 |
| Tabla 19. Efecto inhibidor de ácido cafeico | 57 |
| Tabla 20. Efecto inhibidor concentración-dependiente de ácido cafeico | 59 |
| Tabla 21. Efecto inhibidor de ácido ferúlico | 60 |
| Tabla 22. Efecto inhibidor concentración-dependiente de ácido ferúlico | 62 |
| Tabla 23. Efecto inhibidor de ácido <i>p</i> -cumárico | 63 |
| Tabla 24. Efecto inhibidor concentración-dependiente de ácido <i>p</i> -cumárico | 65 |
| Tabla 25. Efecto inhibidor de adenosina | 66 |
| Tabla 26. Efecto inhibidor concentración-dependiente de adenosina | 68 |
| Tabla 27. Efecto inhibidor de inosina | 69 |
| Tabla 28. Efecto inhibidor concentración-dependiente de inosina | 71 |
| Tabla 29. Efecto inhibidor de guanosina | 72 |
| Tabla 30. Efecto inhibidor concentración-dependiente de guanosina | 74 |
| Tabla 31. Efecto inhibidor de AMP | 75 |
| Tabla 32. Efecto inhibidor concentración-dependiente de AMP | 77 |