

ÍNDICE DE CONTENIDO

1.	RESUMEN.....	1
2.	INTRODUCCIÓN	2
3.	REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	4
3.1.	Enfermedades cardiovasculares	4
3.2.	Hemostasia	5
3.2.1.	Hemostasia primaria.....	5
3.2.2.	Hemostasia secundaria	6
3.2.3.	Fibrinólisis.....	8
3.3.	Estructura y fisiología plaquetaria.....	9
3.4.	Agregación plaquetaria.....	14
3.5.	Estrés oxidativo	17
3.6.	Disfunción endotelial	18
3.7.	Antiagregantes plaquetarios	20
3.8.	Prevención de enfermedades cardiovasculares por bioactivos.....	21
3.9.	Paico y la prevención de enfermedades cardiovasculares.....	23
4.	OBJETIVOS	25
4.1.	Objetivo general	25
4.2.	Objetivos específicos.....	25
5.	MATERIALES Y MÉTODOS	26
5.1.	Dysphania ambrosioides	26
5.2.	Preparación de los extractos.....	26
5.3.	Estudio del efecto antiagregante plaquetario	27
5.3.1.	Toma de muestra	27
5.3.2.	Obtención de PRP y PPP.....	28

5.3.3.	Agregación plaquetaria	29
5.3.4.	Agonistas.....	30
5.4.	Medición de la activación plaquetaria.....	31
5.5.	Determinación de fenoles totales	32
5.6.	Determinación flavonoides totales.....	33
5.7.	Capacidad antioxidante por ensayo de reducción del radical DPPH	34
5.8.	Análisis estadístico.....	35
6.	RESULTADOS.....	36
6.1.	Estudio de la actividad antiagregante plaquetaria	36
6.2.	Estudio de la actividad antiagregante plaquetaria de Dysphania ambrosioides.....	40
6.3.	Medición de la activación plaquetaria por citometría de flujo.....	52
6.4.	Detección de fenoles totales.....	56
6.5.	Determinación de flavonoides totales	57
6.6.	Capacidad antioxidante por ensayo de reducción del radical DPPH.....	58
7.	DISCUSIÓN	59
8.	CONCLUSIÓN.....	66
9.	BIBLIOGRAFÍA	67
10.	ANEXOS	74
10.1.	Consentimiento informado.....	74

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Esquema simplificado de la cascada de la coagulación.....	8
Figura 2: Esquema de las principales características de la ultraestructura plaquetaria.	13
Figura 3: Rol de las plaquetas en la amplificación de la inflamación.	19
Figura 4: Estructura básica del esqueleto flavonólico.	22
Figura 5: Dysphania ambrosioides.	24
Figura 6: Equipos utilizados en la preparación del extracto.....	27
Figura 7: Técnica de extracción de muestra sanguínea.	28
Figura 8: Agregómetro	30
Figura 9: Citómetro de flujo	31
Figura 10: Lector de multiplaca.....	32
Figura 11: Inhibición de la agregación plaquetaria con controles positivos y negativo, inducida por ADP (4 μ M).....	37
Figura 12: Inhibición de la agregación plaquetaria con controles positivos y negativo, inducida por TRAP-6 (10 μ M).	38
Figura 13: Inhibición de la agregación plaquetaria con controles positivos y negativo, inducida por colágeno (1 μ g/mL).	39
Figura 14: Efecto del extracto de paico en las plaquetas.....	41
Figura 15: Efecto del extracto de paico (1mg/mL) sobre la agregación plaquetaria, en comparación con controles positivo y negativo, inducida por ADP (4 μ M).....	42
Figura 16: Efecto del extracto de paico a distintas concentraciones sobre la agregación plaquetaria, en comparación con controles negativo, inducida por ADP (4 μ M).	43
Figura 17: Efecto del extracto de paico (1mg/mL) sobre la agregación plaquetaria, en comparación con controles positivo y negativo, inducida por TRAP-6 (10 μ M).	45
Figura 18: Efecto del extracto de paico a distintas concentraciones sobre la agregación plaquetaria, en comparación con controles negativo, inducida por TRAP-6 (10 μ M)...	47
Figura 19: Efecto del extracto de paico (1mg/mL) sobre la agregación plaquetaria, en comparación con controles positivo y negativo, inducida por colágeno (1 μ g/mL).	49
Figura 20: Efecto del extracto de paico a distintas concentraciones sobre la agregación plaquetaria, en comparación con controles negativo, inducida por colágeno (1 μ g/mL).	51

Figura 21: Detección de parámetros iniciales en citometría.....	53
Figura 22: Efecto en la activación de plaquetas lavadas con extracto de paico.	54
Figura 23: Porcentaje de activación plaquetaria.	55
Figura 24: Curva de calibración para la cuantificación de fenoles totales en extracto de paico 1 mg/mL.....	56
Figura 25: Curva de calibración para la cuantificación de flavonoides totales en extracto de paico 1 mg/mL.	57
Figura 26: Capacidad antioxidante de extracto de paico.....	58
Figura 27: Mecanismo de inhibición de la agregación y activación plaquetaria, por polifenoles, otros antioxidantes y fármacos antiplaquetarios.....	64

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Factores de la coagulación..	7
Tabla 2: Glicoproteínas mayores de la membrana plaquetaria.....	10
Tabla 3: Agonistas más comunes que inducen respuesta plaquetaria.	15