

EFECTO DE FLAVONOIDES EN LA ADHESIÓN Y AGREGACIÓN PLAQUETARIA BAJO CONDICIONES DE FLUJO MODERADO Y ALTO: BLOQUEO DE LOS RECEPTORES DE TXA₂ EN PLASMA RICO EN PLAQUETAS

L. Navarro-Núñez^a, M. Palomo^b, M.L. Lozano^a, C. Martínez^a, E. Pérez^a, V. Vicente^a, J. Castillo^c, G. Escolar^b, M. Díaz-Ricart^b y J. Rivera^a

^aCentro Regional de Hemodonación, Universidad de Murcia. ^bServicio de Hemoterapia y Hemostasia, CDB, Hospital Clinic, IDIBAPS, Universidad de Barcelona. ^cFurfural Español, Murcia.

Introducción: En estudios previos con plaquetas lavadas, demostramos que ciertos flavonoides inhiben la función de las plaquetas por distintos mecanismos, incluyendo el bloqueo de los receptores de tromboxano A₂ (TPs).

Objetivo: Analizar el efecto de algunos flavonoides sobre la función plaquetaria en sangre total y bajo condiciones de flujo, así como valorar su unión a TPs en presencia de plasma.

Métodos: Perfundimos segmentos desendotelizados de aorta de conejo (800s⁻¹, 10min, 37°C) con sangre citratada en ausencia o presencia de 200μM de apigenina (API), genisteína (GEN), catequina (CAT), rutina, quercetina o rhoifolina, y cuantificamos la superficie cubierta por plaquetas (%SC) y el tamaño del trombo formado (%T). También ensayamos sangre citratada conteniendo API (50-200#mM) o su equivalente en DMSO (control) en el sistema PFA-100 con cartuchos Col-Epi y Col-ADP. Por último, hicimos ensayos de unión incubando ³H-SQ29548 (5nM), un antagonista selectivo de TPs, con PRP (2 x 10⁵ pla/#mL) en ausencia o presencia de SQ29548 (0-10#mM), o API o API-potásica (0-4mM) (30 min, RT). El ligando unido a plaquetas se separó por filtración, y las curvas de inhibición resultantes se analizaron con el software Kell (Biosoft) para el número de sitios de unión (B_{max}), la constante de afinidad del ligando (K_d) y la constante de inhibición del flavonoide (K_i).

Resultados: En los estudios de perfusión, API, GEN y CAT redujeron el %T (26,2 ± 3,8%, 33,1 ± 5,2% y 26,2 ± 5,2%, respectivamente vs. 76,6 ± 2,6%; p < 0,05). API y GEN también disminuyeron el %SC (18,5 ± 4,9% y 21,4 ± 4,1% vs. 24,6 ± 3,7% en control; p < 0,05). En los tests de PFA-100, API alargó el tiempo de oclusión para Col-Epi (200#mM: 211 vs. 129 s; p < 0,0001). Finalmente, los ensayos de unión mostraron que ³H-SQ29548 se une específicamente a las plaquetas en el PRP (K_d = 30,9±10,4 nM; B_{max} = 4348 ± 590 sitios/plaqueta). Tanto API como API- potásica inhibieron de forma no competitiva la unión de ³H-SQ29548 al PRP (K_i = 155,3±65,4 y 155,8 ± 57,9#mM).

Conclusión: Este estudio muestra que API y GEN modulan la reactividad plaquetaria en presencia de plasma y bajo condiciones de flujo moderado-alto. El bloqueo de TPs podría mediar esta capacidad. Estos datos apoyan el sugerido efecto protector de ciertos flavonoides frente a la enfermedad cardiovascular. (SAF 2004-07535)