

Análisis del tratamiento durante 7 y 10 días con el extracto enriquecido en proantocianidinas de *Ligaria cuneifolia* sobre la fluidez sanguínea

¹Juan Francisco, Alonso; ¹Paula, Santiago Rahlf; ¹Carolina, Galiasso; ¹Leda, Urli; ¹Sebastián, Galliano; ¹Diego, Crosetti; ²Daniel, Francés; ²María Teresa, Ronco; ³Marcelo, Wagner;

²Cristina, Carnovale; ¹Alejandra, Luquita

¹Cátedra Biofísica, Facultad de Ciencias Médicas - Universidad Nacional de Rosario; CIURN.

²Cátedra de Fisiología, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas - Universidad Nacional de Rosario; IFISE-CONICET.

³Cátedra de Farmacobotánica - Facultad de Farmacia y Bioquímica - Universidad de Buenos Aires.

Autor por correspondencia: Juan Francisco Alonso — juanchofran512@gmail.com

Conflicto de intereses: no presenta

Resumen

La infusión de *Ligaria cuneifolia* o “muérdago criollo” es utilizada en medicina popular para dar mayor fluidez a la sangre disminuyendo el exceso de Colesterol plasmático. Del extracto crudo se purificó Proantocianidina (PLc). Nuestro objetivo fue analizar los factores celulares y plasmáticos que afectan la fluidez sanguínea a bajas velocidades de flujo, estimada por la cinética de la agregación eritrocitaria en ratas hiperlipémicas durante 7 días y 10 días de tratamiento con PLc. Fueron utilizadas ratas Wistar machos de 70 días de edad (n = 24), alimentadas con dieta rica en grasa. Las ratas controles recibieron por vía intraperitoneal solución fisiológica cada 24 horas y las tratadas PLc 3mg /100g peso corporal, durante 7 días y 10 días (n= 6 cada grupo). El día 8 y 11 respectivamente, los animales fueron anestesiados obteniéndose sangre por punción cardíaca. Se determinaron en plasma: colesterol (total, HDL y LDL) y triglicéridos por métodos enzimáticos; en sangre: se evaluó la cinética de la agregación eritrocitaria por método óptico, obteniéndose 2 parámetros: tamaño de los agregados y velocidad de la agregación eritrocitaria. Factores celulares: Se calculó el índice morfológico según clasificación de Bessis e índice de rigidez por método de filtración. El tratamiento con PLc mostró un efecto hipolipemiante en ratas tratadas durante 7 y 10 días, con una disminución significativa de la agregación eritrocitaria mejorando la fluidez sanguínea, sin cambios en los factores celulares que afectan la capacidad de agregarse de los eritrocitos. De acuerdo con estos resultados podemos concluir que se ha logrado obtener una fracción de Lc, enriquecida en Proantocianidinas que es capaz de disminuir el colesterol y triglicéridos plasmático favoreciendo la fluidez sanguínea a bajas velocidades de flujo, disminuyendo la velocidad de agregación eritrocitaria.

Palabras clave: *Ligaria cuneifolia*; Proantocianidinas; agregación eritrocitaria; colesterol; triglicéridos

Abstract

In folk medicine, the infusions of *Ligaria cuneifolia* (Lc) are used to increase blood fluidity and decrease excess plasma cholesterol (Cho). Our objective was to analyze the cellular and plasmatic

Cita sugerida: Alonso, J. F., Santiago Rahlf, P., Galiasso, C., Urli, L., Galliano, S., Crosetti, D., Francés, D., Ronco, M. T., Wagner, M., Carnovale, C., & Luquita, A. (2023). Análisis del tratamiento durante 7 y 10 días con el extracto enriquecido en proantocianidinas de *Ligaria cuneifolia* sobre la fluidez sanguínea. Revista De La Facultad De Ciencias Médicas. Universidad Nacional De Rosario., 3, 29-36.



Esta obra está bajo una licencia internacional Creative Commons Atribución-NoComercial 4.0. creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/

DOI: doi.org/10.35305/fcm.v3i1.97

factors that affect blood fluidity at low flow speeds, estimated by erythrocyte aggregation kinetics on hyperlipemic rats during 7 and 10 days of treatment with the extract enriched in Proantocianidins from Lc (PLc). Adult male Wistar rats (aged 70 days, n=24) were fed with a high-fat diet. Then, control rats were administered intraperitoneally each 24hr with either physiological solution or PLc 3mg /100g body weight during 7 and 10 days (n=6 each group). In day 8 and 11, respectively, they were anesthetized to obtain blood samples by cardiac puncture. In serum, we determined cholesterol (total, HDL and LDL) and triglycerides by using enzymatic methods. In blood, erythrocyte aggregation kinetics was evaluated using an optic method obtaining two parameters that estimate: size of aggregates (T) and speed of aggregation (V). Cellular factors: it was calculated the distinction of shapes by optic microscopy and Morphological Index adjudicating an index according to classification of Bessis. Stiffness Index was determined with a filtration method. Treatment with PLc shows a lipid-lowering effect on treated rats during 7 and 10 days, with a significant decrease in the erythrocyte aggregation improving blood fluidity, without producing changes in cellular factors. We have obtained a fraction enriched in Proantocianidins that decreases cholesterol and triglycerides favoring blood fluidity at low flow rates and decrease erythrocyte aggregation speed.

Key words: *Ligaria cuneifolia*; Proantocianidins; erythrocyte aggregation; cholesterol; triglycerides

Introducción

Ligaria cuneifolia (Lc), popularmente conocida como “muérdago criollo”, es una planta hemiparásita de amplia distribución en las zonas centro y norte de la República Argentina (1, 2). La infusión de esta planta se utiliza en medicina popular como sustituto natural del muérdago europeo, para disminuir la presión arterial y dar mayor fluidez a la sangre, al disminuir el exceso de colesterol. En estudios realizados en nuestro laboratorio, al realizar el tratamiento con el extracto crudo de Lc por vía intraperitoneal (i.p.) en ratas normocolesterolémicas, se observó un aumento de la viscosidad sanguínea (inversa de la fluidez de la sangre) asociado a una disminución en los niveles plasmáticos de colesterol. En concordancia con dicha disminución, se evidenció un incremento en la velocidad de excreción biliar de sales biliares, producto del metabolismo hepático de colesterol (3). Prosiguiendo con el análisis de las distintas fracciones extraídas de Lc, se realizaron estudios *in vivo* e *in vitro* con la fracción enriquecida en quercetina (QLc) y la fracción enriquecida en catequina (catLc). A diferencia de lo demostrado con la administración del extracto crudo de Lc, por vía i.p. con QLc y catLc, no se evidenciaron cambios significativos en los parámetros de excreción biliar; tampoco se registró un descenso en los niveles plasmáticos de colesterol (Co). Se observó que la administración de QLc y catLc en ratas normocolesterolémicas por vía i.p. condujo a un aumento de la viscosidad sanguínea (4). Esto sugiere que otro componente de Lc sería el responsable del descenso de colesterol plasmático. En otro estudio, se analizó otra fracción de Lc, enriquecida en otro de los flavonoides presentes en Lc, la Proantocianidina (PLc). El tratamiento en ratas normocolesterolémicas por vía i.p. produjo un descenso significativo en los niveles plasmáticos de colesterol, sin producir cambios en la viscosidad sanguínea ni en la forma, ni en la fragilidad osmótica eritrocitaria, es decir, sin alterar la fluidez de la sangre (5). El tratamiento en ratas alimentadas con una dieta enriquecida en Co (colesterol (97% de pureza) 8 g/kg de dieta y aceite de maíz 28% (peso/peso de dieta), con diferentes dosis de PLc administradas durante 3, 7 y 10 días por vía ip, no produjo alteración de la viscosidad sanguínea a altas velocidades de flujo, ni en la deformabilidad de los eritrocitos ni en su forma eritrocitaria. Esta disminución en el nivel de Co se debe a un incremento en la velocidad de excreción biliar de Co y de las sales biliares (productos de la metabolización hepática del Co). El aumento en la excreción biliar de estos componentes conduce a un aumento del flujo biliar total (6).

El tratamiento con PLc (dosis 3 mg%) durante 3 días, en ratas alimentadas con dieta enriquecidas en grasa (HFD) disminuyó la viscosidad sanguínea a altas velocidades de flujo, a expensas de una tendencia a la normalización de la deformabilidad eritrocitaria (7). El tratamiento con PLc (dosis 3 mg%) durante 7 y 10 días no produjo alteración de la viscosidad sanguínea ni en la deformabilidad de los eritrocitos ni en su forma (8).

Hasta el momento no se ha estudiado el efecto del tratamiento con PLc sobre la fluidez sanguínea a bajas velocidades de flujo, estimada por la cinética de la agregación eritrocitaria (AE). Los eritrocitos pueden incrementar su agregación, es decir su tendencia a formar rouleaux o pilas de monedas, lo cual conduce a un incremento de la viscosidad sanguínea con la indudable consecuencia de un aumento de la resistencia al flujo sanguíneo. El incremento de la AE

contribuiría a desórdenes circulatorios, y particularmente en la microcirculación, provocando la oclusión de los microcapilares (9, 10). Entre los factores celulares que pueden ser estudiados y que podrían afectar este proceso es la forma de disco bicóncavo típica de los glóbulos rojos, la cual es una característica importante para la formación de rouleaux, y cualquier divergencia de esta forma conduce a desviaciones del comportamiento de agregación eritrocitaria afectando las condiciones de flujo (11). En general, se acepta que la alteración de la deformabilidad de los glóbulos rojos conduce a una disminución de la agregación de glóbulos rojos (12). En definitiva, no se ha determinado directamente cómo los factores celulares interactúan para modificar la cinética de agregación eritrocitaria en enfermedades cardiovasculares. En el plasma, el fibrinógeno (Fb) es la principal proteína pro-agregante, aunque también coadyuvan las globulinas y otras proteínas de fase aguda (13,14).

En la actualidad el rol que desempeñan los lípidos en la AE es controversial. El aumento de la AE encontrado en pacientes hiperlipidémicos podría deberse a modificaciones en la composición lipídica de la membrana celular que conduciría a alteraciones de las propiedades del eritrocito (15).

Nuestro objetivo fue analizar los factores celulares y plasmáticos que afectan la fluidez sanguínea a bajas velocidades de flujo, estimada por la cinética de la agregación eritrocitaria en ratas hiperlipémicas durante 7 días y 10 días de tratamiento con PLc.

Materiales y Métodos

Obtención de PLc:

El material vegetal fue recolectado en Sierra Chica, localidad de Carlos Paz, Córdoba, siendo el hospedante el Chañar (*Geoffroea decorticans*, perteneciente a la familia Fabaceae) (16). Los ejemplares fueron desecados a temperatura ambiente. El material, ya seco, se molió y se realizaron tres extracciones en metanol al 80% (a temperatura ambiente durante 24 hs.). Se concentró el extracto en evaporador rotatorio a presión reducida hasta sequedad. Se disolvió en metanol y se trató con HCL 2 N a 100 °C. Luego se procedió a la extracción de los aglicanos mediante una partición líquido-líquido. Por último, se concentró el extracto en evaporador rotatorio hasta sequedad (2) obteniéndose un extracto enriquecido en Proantocianidinas de Lc (PLc).

Tras este proceso el material fue remitido a la cátedra de Biofísica de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Rosario, por el Dr. Marcelo Wagner de la Cátedra de Farmacobotánica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UBA.

Tratamiento de ratas hiperlipémicas con PLc:

Se utilizaron ratas Wistar de acuerdo con las normas internacionales para el manejo y uso de animales de experimentación, endocriadas y tratadas según los protocolos experimentales (17). Este protocolo experimental fue aprobado por el Comité de Ética y Bioseguridad de la Facultad de Ciencias Médicas (Resolución Decanal n° 199/2019)

Se colocaron ratas macho de 90 días con pesos entre 320 g y 380 g en número de dos por jaula y se mantuvieron bajo un período de 12 horas luz/oscuridad.

Los animales tuvieron libre acceso al agua y a la comida. Los animales fueron alimentados con dieta hiperlipémica: la dieta comercial que fue utilizada se obtuvo del alimento balanceado rata/ratón producido por GEPSA Argentina adicionada con 40% de "jugo bovino" (cada 100g: 1,2g de colesterol (Co), 1,06g de grasa total y 6,8g de proteínas, HFD) (18).

Las ratas fueron alimentadas durante 28 días. Previo al tratamiento de los animales, se les extrajo sangre para la determinación de los valores basales de hematocrito y colesterol.

A los animales se los dividió al azar en dos grupos. Uno de ellos, considerado control, se lo inyectó con solución fisiológica y al otro grupo de animales, considerados tratados, fueron inyectados con la preparación de PLc con una dosis de 3 mg/100 g PC, en una inyección intraperitoneal diaria durante 7 y 10 días según corresponda.

Procedimientos y determinaciones:

El día del experimento, 24 horas después de la última administración, las ratas fueron pesadas y anestesiadas con Ketamina/Xilacina (100mg/kg/3mg/kg, i.p). Se extrajo sangre por punción cardíaca anticoagulada con EDTA (Sigma Chem Co) y se usaron dentro de las cuatro horas. La

eutanasia se realizó por exceso de anestesia utilizando una mezcla de Ketamina (100 mg/kg) Xilacina (10 mg/kg) administrada vía intraperitoneal y posterior apertura de caja torácica. La sangre obtenida se centrifugó a 5.000 rpm durante 10 minutos para obtener el plasma, en él se realizaron las siguientes determinaciones bioquímicas: colesterol total por método enzimático de esterasa-oxidasa, colesterol HDL y colesterol LDL (usando reactivos precipitantes) por método colorimétrico utilizando Fenol/4-aminofenazona y triglicéridos (TG) por método enzimático con los reactivos lipoprotein lipasa, glicerol kinasa, glicerol fosfato oxidasa, peroxidasa, adenosina trifosfato y 4-aminofenazona (utilizando en todas las determinaciones equipos del Laboratorio Wiener). Fibrinógeno: se determinó utilizando el coagulómetro SYSMEX CA-500 de SIEMENS, FIBRINTIMER II, Laboratorios Wiener; Proteínas Totales: por el método colorímetro con kit, Laboratorios Wiener.

Factores Celulares:

*Forma celular: se determinaron por microscopía directa de la alícuota de sangre entera, adjudicando un índice de acuerdo con la clasificación de Bessis (Discocito: 0, Estomatocito I: -1, Estomatocito II: -2, Estomatocito III: -3, Esferoestomastocito: -4) (19). El número de células observadas fue de 150 por cada alícuota. Luego se calculó el Índice Morfológico (IM) con la fórmula: Σ (índice de forma x número de células) / número total de células.

El índice de rigidez (IR), inversa de la deformabilidad eritrocitaria, se midió por el método de filtración (20) por membranas de policarbonato en un aparato automatizado. Con este método, la sangre entera de ratas controles y tratadas se centrifugó a 5000 RPM durante 5 minutos, el plasma y la capa leucocitaria fue separada y los eritrocitos se lavaron dos veces con buffer fosfato isotónico. Los glóbulos rojos lavados (1 ml) se volvieron a suspender en buffer fosfato isotónico (137 mM NaCl, 2,7 mM KCl, 8 mM Na₂HPO₄, 2 mM KH₂PO₄) pH 7,4; 285 mOsm/l conteniendo 0,25% de albumina bovina (9 ml) (Sigma Chemical Co., St.Louis, MO, EE. UU.) para conservar la forma del eritrocito, obteniendo un hematocrito del 10%.

Luego, se pasó la suspensión de eritrocitos a través de un filtro de policarbonato, con 5 micrómetros de tamaño de poro (Nucleopore Corp. USA), usando una presión de filtración negativa de 10 cm H₂O. El tiempo de flujo requerido para que un 1 ml de suspensión de eritrocitos pase a través del filtro se midió en ratas controles y tratadas. Los resultados se expresaron como un índice de rigidez (IR) que es una estimación de la deformabilidad eritrocitaria (21), definido como:

$$IR = (T_b - T_s) / (T_s) \times 100 / Hto$$

Donde:

T_b: tiempo de paso de la suspensión celular a través del filtro; T_s: tiempo de paso de un volumen igual de buffer fosfato isotónico; Hto: hematocrito (10%).

Las medidas de deformabilidad de eritrocitos están en conformidad con el Comité Internacional de Normalización en Hematología (22).

Agregación eritrocitaria: se realizaron las mediciones con un agregómetro, instrumento que consta de un sistema mecánico que agita la muestra de sangre a una velocidad media controlada de 560 seg⁻¹ para obtener una desagregación completa. Luego de una abrupta interrupción de la agitación, el circuito de medición verifica por medio del receptor infrarrojo una gradual disminución en la transmitancia a la luz asociado con la producción de agregados de células rojas. Esta señal es luego amplificada y conectada a la entrada del conversor analógico-digital de la placa de adquisición de datos. Posteriormente, el software los grafica en línea, permitiendo al operador observar a cada instante lo que está sucediendo, en forma cuantitativa y gráfica. Del análisis de la curva se determinan dos parámetros del proceso de AE: SONO que estima el tamaño promedio de los agregados (T), y 2K2N0 que estima la velocidad inicial del proceso (V) (23, 24).

Análisis Estadístico:

En todos los casos se aplicó la “t de Student” para datos no apareados.

Resultados

En la Tabla 1 se muestran los valores del índice de rigidez, índice morfológico (factores celulares) y fibrinógeno (Fb) y proteínas totales (PT) (factores plasmáticos) de ratas tratadas con PLc durante

7 y 10 días versus las ratas controles con dieta HFD. No se observaron cambios estadísticamente significativos ni en los valores estudiados de los factores celulares ni en las proteínas presentes en el plasma y ni en el fibrinógeno del suero de estos animales tratados.

En la Tabla 2, se observa como los eritrocitos de las ratas HFD tratadas con PLc durante 7 y 10 días agregaron a menor velocidad y formaron agregados de menor tamaño que en los controles.

Tabla 1. Factores celulares y plasmáticos estudiados durante 7 y 10 días de tratamiento con PLc vs. los controles con dieta HFD.

	C7 HFD	PLc 7 días	C10 HFD	PLc 10 días
IM	-1.450 ± 0.5679	-1.267 ± 0.2204 (ns)	-2.10 ± 0.21	-2.02 ± 0.12 (ns)
IR	6,37 ± 0,47	6,25 ± 0,23 (ns)	6,37 ± 0,47	7,25 ± 0,41 (ns)
Fb(mg/dl)	256,37 ± 23,81	277,7 ± 20,15 (ns)	256,37 ± 23,81	310,60 ± 9,81 (ns)
PT(g/dl)	7,83 ± 1,11	7,72 ± 1,20 (ns)	7,85 ± 0,85	7,95 ± 0,92 (ns)

Los valores se expresan como media ± ES. (**ns**): no significativo respecto de C; **IM**: Índice Morfológico; **IR**: Índice de Rigidez; **Fb**: fibrinógeno; **PT**: proteínas totales; **C7 HFD**: grupo control 7 días con dieta rica en grasas (HFD); **C10 HFD**: grupo control 10 días con HFD; **PLc**: Proantocianidinas de Lc **PLc 7 días**: grupo de tratamiento con PLc durante 7 días; **PLc 10 días**: grupo de tratamiento con PLc durante 10 días.

IR = (Tb - Ts) / (Ts) × 100 / Hto (Tb: tiempo de paso de la suspensión celular a través del filtro; Ts: tiempo de paso de un volumen igual de buffer fosfato isotónico; Hto: hematocrito (10%).

IM = Índice de forma × número de células / número total de células

Tabla 2. Parámetros de la AE durante 7 y 10 días de tratamiento con PLc.

	C7 HFD	PLc 7 días	C10 HFD	PLc 10 días
(T) (S₀/n₀)	2,042 ± 0,02	1,163 ± 0,21*	2,042 ± 0,02	1,667 ± 0,113*
(V) (2k₂/n₀)	0,110 ± 0,003	0,0056 ± 0,002*	0,110 ± 0,003	0,006 ± 0,002*

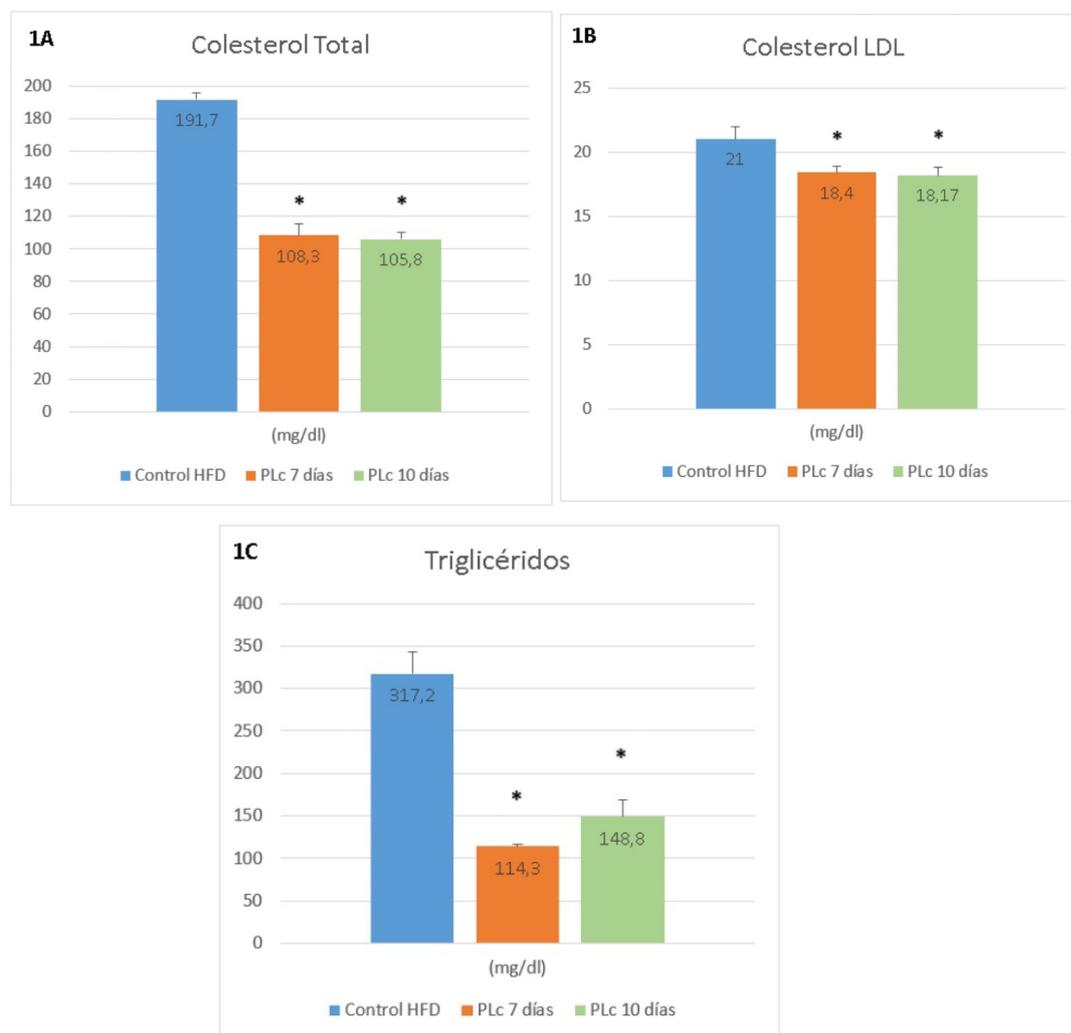
Los valores se expresan como media ± ES. (*p<0,05 respecto de C); T: tamaño de los agregados; V: velocidad de agregación; C7 HFD: grupo control con dieta rica en grasa (HFD); C10 HFD: grupo control con HFD; PLc: Proantocianidinas de Lc; PLc 7 días: grupo de tratamiento con PLc durante 7 días; PLc 10 días: grupo de tratamiento con PLc durante 10 días.

Como se observa en las Figuras 1A, 1B y 1C el tratamiento con PLc durante 7 y 10 días consecutivos en ratas hiperlipémicas, disminuye el Co total y Co LDL, así como los TG. En la Figura 1 se muestran los resultados obtenidos para las variables estudiadas como media ± ES. Considerando como diferencia significativa *p<0,05 vs. C.

C7 y C10 no mostraron diferencias significativas entre los dos tiempos de administración de solución fisiológica, por ello se presenta un solo grupo C.

Los valores de Colesterol HDL no presentaron diferencias significativas en el tratamiento con PLc durante 7 y 10 días consecutivos en ratas hiperlipémicas (**Colesterol HDL** Control HFD: 25,0 ± 1,3; PLc 7 días: 29,5 ± 2,3 (ns); PLc 10 días: 20,00 ± 2,39 (ns).)

Figura 1. Valores plasmáticos de Colesterol Total, Colesterol LDL y Triglicéridos de ratas hiperlipémicas control versus tratadas con PLc durante 7 y 10 días.



Control HFD: grupo control con dieta rica en grasas (HFD); PLc: Proantocianidinas de Lc; PLc 7 días: grupo de tratamiento con PLc durante 7 días; PLc 10 días: grupo de tratamiento con PLc durante 10 días; (*) p <0,05 Control HFD vs T7 y T10

Discusión

En estudios previos, el tratamiento de ratas normocolesterolémicas con PLc (dosis: 3 mg/100 g peso corporal) por vía i.p produjo un descenso significativo en los niveles plasmáticos de Co concomitante con un aumento de la la velocidad de excreción biliar de sales biliares (VEBSB) y de sales biliares, sin producir cambios en la viscosidad sanguínea, es decir, sin alterar la fluidez de la sangre (5).

Posteriormente, el tratamiento en ratas alimentadas con una dieta enriquecida en Co, con diferentes dosis de PLc administradas durante 3, 7 y 10 días por vía i.p, indujo una disminución de los niveles de Co plasmático debido al aumento de VEBSB, las cuales son sintetizadas a partir del colesterol, lo cual explicaría la coleresis (aumento del flujo biliar) por el aumento de entes osmóticamente activos que se produce en los animales tratados con PLc. (6).

Con respecto a los parámetros reológicos sanguíneos, el tratamiento con PLc en ratas alimentadas con dieta enriquecida en colesterol, no produjo alteraciones en la viscosidad sanguínea medida a altas velocidades de cizallamiento, ni en la deformabilidad eritrocitaria (estimada mediante su inversa, el índice de rigidez), ni en la forma eritrocitaria (estimada mediante el índice morfológico), lo cual pone de manifiesto que no provoca alteraciones en las condiciones de flujo a alta velocidades de flujo ni en la capacidad de deformarse de los eritrocitos, condición necesaria para un flujo sanguíneo adecuado a nivel de la microcirculación(6).

En este trabajo se estudió la cinética de agregación eritrocitaria, como principal determinante de la viscosidad sanguínea a baja velocidad de cizallamiento, en ratas HFD y ratas HFD tratadas con PLc durante 7 y 10 días. Los eritrocitos de las ratas HFD tratadas con PLc durante 7 y 10 días agregaron a menor velocidad y formaron agregados de menor tamaño que en las ratas controles.

Se estudiaron los factores celulares (IR, IM) y plasmáticos (PT, FB) los cuales intervienen en el proceso fisiológico de la agregación eritrocitaria en ratas HFD y tratados con PLc, para poner en evidencia si eran los responsables de los cambios observados.

No se observaron cambios significativos en la forma eritrocitaria (IM) en ratas alimentadas con HFD y tratadas con PLc durante 7 y 10 días. Tampoco se alteró la deformabilidad de los eritrocitos estimada por el índice de rigidez (IR) medido por filtración a través de membranas. Los valores de fibrinógeno (FB) y proteínas totales (PT) estudiados, no se modificaron en los grupos de ratas HFD luego del tratamiento con PLc durante 7 y 10 días.

El tratamiento con PLc durante 7 y 10 días mostró un efecto hipolipemiante. Es relevante destacar que el colesterol total disminuyó en un 44% tanto en 7 como en 10 días de tratamiento con PLc respecto de los controles, el colesterol LDL disminuyó el 13%, siendo estos valores predictivos de riesgo cardiovascular.

Con respecto a los triglicéridos, el efecto hipolipemiante es mucho más pronunciado ya que descendió en un 64% a los 7 días y en un 55% a los 10 días. El 9% de diferencia es atribuido al estrés al que estuvieron expuestos los animales debido a factores ambientales que no pudieron ser controlados experimentalmente debido a causas ajenas al bioterio donde se realizó dicho experimento. Podríamos considerar que, debido a ruidos producidos por la restauración del bioterio lindero, las ratas estuvieron estresadas por el ruido causado por la destrucción de paredes linderas y teniendo en cuenta resultados enunciados por otros autores, esto provocaría un cambio en los niveles de la hormona cortisol plasmático y llevarían a estimular la vía metabólica de la lipólisis (25) aumentando los niveles de triglicéridos.

Demostramos que el tratamiento con PLc disminuye significativamente los valores de TG y de Colesterol total y LDL, disminuyendo la velocidad en la agregación de los eritrocitos y el tamaño de los agregados, produciendo una disminución de la viscosidad sanguínea a baja velocidad de cizallamiento y aumentando la fluidez sanguínea en los sectores de la macrocirculación.

Estos efectos nos permiten sugerir que PLc podría ser una herramienta farmacológica altamente eficaz en la prevención de enfermedades cardiovasculares que cursan con dislipidemias.

Financiamiento: el presente trabajo de investigación fue realizado con Subsidio de la Secretaría de Ciencia, Tecnología e Innovación de la Universidad Nacional de Rosario.

Referencias Bibliográficas

1. Abbiatti D. Las Loranáceas Argentinas. Rev Mus La Plata (N. S.), Sec Bot. 1946; 7:1-110.
2. Wagner ML, Fernández T, Varela B, et al. Anatomical, phytochemical and immunochemical studies on *Ligaria cuneifolia* (R. et P.) Tiegh. (Loranthaceae). Pharm. Biology. 1998; 36(2):131-139.
3. Mengarelli G., Dominighini A, Ferraro M, et al. Evaluation of hemorheologic parameters and biliary secretion in *Ligaria cuneifolia* (Argentine mistltoe) extracted treated rats. Pharm Biol. 2001;39 (6): 435-439.
4. Dominighini A, Ferrero M, Crosetti D, et al. Effect of *Ligaria cuneifolia* catechin- and quercetin- enriched fractions on hemorheology and plasma cholesterol. Clin Hemorheol Microcirc. 2010; 44: 1-9.
5. Dominighini A, Ferrero M, Crosetti D, et al. Effects of proanthocyanidin enriched extract from *Ligaria cuneifolia* on plasma cholesterol and hemorheological parameters. In vivo and In vitro studies. Clin Hemorheol Microcirc. 2015; 60: 317-325.
6. González J, García G, Galliano S, et al. The enriched proanthocyanidin extract of *Ligaria cuneifolia* shows a marked hypocholesterolemic effect in rats fed with cholesterol-enriched diet. Recent Pat Endocr Metab Immune Drug Discov. 2018;11(1):47 - 53.
7. Gerschovsky N; Garcí, G; Dominighini A; et al. Effect of *Ligaria cuneifolia* (Lc) proanthocyanidine enriched fraction on plasma cholesterol levels and blood fluidity in wistar rats fed with hyperlipidemic diet. Biocell. 2015; 39 (suppl. 4): 14.
8. Pelozzi, M; Giacosa, C; Galliano, et al. Analysis of concentration of plasma lipids and hemorrheological parameters in hyperlipemic wistar rats fed with high fat diet (hfd) treated for 7 and 10 days with *Ligaria cuneifolia* (lc)-proantocianidin enriched fraction. Biocell. 2019;43 (suppl. 2): 11.
9. Irina, A; Tikhomirova, Anna, O; Svetlana, G. "Microcirculation and blood rheology in patients with cerebrovascular disorders". Clin Hemorheol Microcirc. 49 :295-305(2011).
10. Ben Ami R; Barstein G; Zeltser D; et al. "Parameters of red blood cell aggregation as correlates of the inflammatory state". Heart. Circ.Physiol. 2001;280; H1982-8.

11. Baskurt OK, Meiselman HJ. Red blood cell aggregability. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2009;43: 353-354.
12. Meiselman, H. J. Red-Blood-Cell Role in RBC Aggregation. *Clin Hemorheol Microcirc.* 1993; 13:575-592.
13. Rampling NW, Whittinghall P, Linderkamp O. The effects of fibrinogen and its plasmin degradation products on the reology of erythrocyte suspensions. *Clin Hemorheol Microcirc.* 1984; 4: 533-543.
14. Lominadze D, Dean WL. Involvement of fibrinogen specific binding in erythrocyte aggregation. *FEBS lett* 2002; 517: 41-44.
15. Gyawali P, Richards RS, Bwititi P et al. The association of dyslipidemia with erythrocyte aggregation. *Clinical Lipidology.* 2015; 10(2): 129-135.
16. SILVA RA, López de RUIZ RE, RUIZ S:O. Estudio Fitoquímico de Flores de *Geoffroea decorticans* *Acta Farm. Bonaerense.* 2004; 23 (4): 524-6.
17. National Research Council. National Academy Press, Guide to the Care and Use of Laboratory Animals. Washington D.C.:1996.
18. Ruiz-Rosso, B; Pérez-Olleros, L; Requejo, A. "El Exxenterol, un extracto de fibra vegetal con un potente efecto reductor del colesterol". *Schironia.* 2; 5-9, (2003).
19. Bessis M. Red Cell Shape: Physiology, Pathology, Ultrastructure" R.I. Weed, P.F. Leblond (Eds.);1973.
20. Reid HL,; BarnesAJ, LockPJ et al. A simple method for measuring erythrocyte deformability *J. Clin Pathol.*1976; 29:855-858.
21. Jones JG, Adams RA, Evans SA: Bulk filtration through micropore membranes for analyzing blood cell rheology in clinical research. *Clinical Hemorheology.*1994; 14:149-69.
22. International Committee for Standardization in Hematology, Expert Panel on Blood Rheology. Guidelines for measurement of blood viscosity and erythrocyte deformability. *Clinical Hemorheology.* 1986; 6: 439-453.
23. Bollini A, Rasia, M, Toro Ret al.. Instrumento para medición de agregación eritrocitaria. *Revista Argentina de Bioingeniería.* 2000; 6: 54-70
24. Bertoluzzo SM; Bollini A; Rasia, M et al. Cynetic Model of erythrocyte aggregation, *Blood Cells, Molecules and Diseases.* 1999; 25(22): 339-342.
25. Tsigos C, Chrousos GP. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors, and stress. *J Psychosom Res.* 2002; 53.:865-871.