

ÍNDICE

1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN	3
3. OBJETIVOS	5
3.1 Objetivo general	5
3.2 Objetivos específicos	5
4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	6
4.1 Aterosclerosis	6
4.1.1 Antecedentes generales de las arterias	6
4.1.2 Disfunción endotelial	7
4.2 ICAM-I	12
4.2.1 Características generales	12
4.2.2 Participación de ICAM-I en aterogénesis	15
4.2.3 Principales interacciones	17
4.3 Métodos de estudio de ICAM-I	18
4.3.1 Inmunohistoquímica	19
5. MATERIALES Y MÉTODOS	22
5.1 Materiales	22
5.1.1 Equipamiento	22
5.1.2 Reactivos	23

5.1.3 Sistemas de detección utilizados	24
5.2 Métodos	25
5.2.1 Origen de las arterias	25
5.2.2 Procesamiento de la muestra	26
5.2.2.1 Deshidratación	26
5.2.2.2 Inclusión	27
5.2.2.3 Cortes histológicos	28
5.2.2.4 Silanización de portaobjetos	29
5.2.2.5 Desparafinación e hidratación	29
5.2.2.6 Recuperación de antígenos	30
5.2.3 Estandarización de inmunohistoquímica por la técnica ABC-Peroxidasa para ICAM-I	32
5.2.3.1 Inhibición de peroxidasa endógena	34
5.2.3.2 Bloqueo de reactividad específica	35
5.2.3.3 Anticuerpo primario	35
5.2.3.4 Anticuerpo secundario	36
5.2.3.5 Streptavidina-Peroxidasa	36
5.2.3.6 Revelado con diaminobenzidina tetrahidroclorhidrica (DAB)	37
5.2.3.7 Contraste con hematoxilina de Harris	37
5.2.3.8 Deshidratación	38
5.2.3.9 Montaje de los portaobjetos	38
5.2.3.10 Lectura e interpretación	39
 6. RESULTADOS	 40
6.1 Estandarización de la técnica inmunohistoquímica para el estudio de ICAM-I en cortes de amígdala palatina	 40
6.1.1 Dilución del anticuerpo primario	41
6.1.2 Control para estandarización	45
6.2 Inmunohistoquímica en arterias sanas y con proceso aterosclerótico	46

6.2.1 Arteria aorta humana sana	46
6.2.2 Arteria poplítea humana con placa ateromárica	48
6.2.3 Arteria carótida humana con placa ateromárica	50
6.2.4 Controles para inmunohistoquímica en arterias humanas	52
7. DISCUSIÓN	54
8. CONCLUSIONES	59
9. REFERENCIAS	60

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1	Corte histológico transversal de una arteria aorta.	7
FIGURA 2	Tinción hematoxilina-eosina para arterias coronarias humanas con diferentes tipos de lesión aterosclerótica.	8
FIGURA 3	Esquema de la composición de una placa aterotrombótica con los posibles marcadores moleculares.	9
FIGURA 4	Activación de moléculas de adhesión en la superficie endotelial por la acción de diferentes citoquinas.	11
FIGURA 5	Estructura de ICAM-I con su zona de unión de LFA-1.	12
FIGURA 6	Estructura y regulación del promotor de ICAM-I.	13
FIGURA 7	Esquema de la interacción entre ICAM-I y LFA-1 ante estímulos inflamatorios.	18
FIGURA 8	Procedimiento de deshidratación de un corte histológico.	27
FIGURA 9	Proceso de corte y fijación del tejido embebido en parafina.	28
FIGURA 10	Procedimiento de desparafinación e hidratación de un corte histológico.	30
FIGURA 11	Recuperación de antígenos.	32

FIGURA 12 Conformación de los grupos de estudio para la estandarización de la inmunohistoquímica.	34
FIGURA 13 Adición del anticuerpo primario sobre el tejido y lavado posterior.	36
FIGURA 14 Preparación del cromógeno.	37
FIGURA 15 Procedimiento de deshidratación de un corte histológico.	38
FIGURA 16 Montaje de los portaobjetos en medio resinoso.	39
FIGURA 17 Cortes de amígdala palatina con tinción hematoxilina-eosina.	41
FIGURA 18 Cortes de amígdalas en aumento 10X incubadas a una dilución de anticuerpo primario 1/10.	42
FIGURA 19 Cortes de amígdalas en aumento 10X incubadas a una dilución de anticuerpo primario 1/25.	43
FIGURA 20 Cortes de amígdalas en aumento 10X incubadas a una dilución de anticuerpo primario 1/50.	44
FIGURA 21 Cortes de amígdalas en aumento 10X incubadas a una dilución de anticuerpo primario 1/100.	45
FIGURA 22 Controles negativos de amígdala utilizados en estandarización de inmunohistoquímica para ICAM-I.	46
FIGURA 23 Tinción hematoxilina-eosina en arteria humana sana.	47

FIGURA 24 Tinción inmunohistoquímica negativa para ICAM-I en arteria humana sana.	47
FIGURA 25 Tinción hematoxilina-eosina en cortes de arteria poplítea.	49
FIGURA 26 Tinción inmunohistoquímica positiva para ICAM-I en arteria poplítea con placa de ateroma.	50
FIGURA 27 Tinción hematoxilina-eosina en placa de ateroma de arteria carótida.	51
FIGURA 28 Tinción inmunohistoquímica de arteria carótida con positividad para ICAM-I por proceso ateromatoso.	52
FIGURA 29 Controles negativos utilizados en la inmunohistoquímica de arterias humanas.	53
FIGURA 30 Control positivo utilizado en la inmunohistoquímica de arterias humanas.	54

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1 Células donde se expresa ICAM-I y moléculas que inducen esta expresión.	14
---	----