

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 |
|---|----|