

ÍNDICE

1. Resumen	1
2. Introducción	2
3. Revisión Bibliográfica	3
3.1 Generalidades del Sistema Inmune	3
3.1.1 Órganos del Sistema Inmune	5
3.1.2 Células del Sistema Inmune	5
3.1.2.1 Neutrófilos	5
3.1.2.2 Monocitos y Macrófagos	6
3.1.2.3 Eosinófilos, Basófilos y Mastocitos	6
3.1.2.4 Linfocitos	7
3.1.2.4.1 Linfocitos T	7
3.1.2.4.2 Linfocitos B	7
3.1.2.4.3 Natural Killer	8
3.2 Respuesta Inmune	8
3.2.1 Respuesta Inmune Antiviral	8
3.2.2 Respuesta Inmune Antibacteriana	9
3.2.3 Respuesta Inmune Antiparasitaria	10
3.3 Inmunidad Innata	10
3.3.1 Fagocitosis	13
3.3.1.1 Mecanismos efectores intracelulares de células fagocíticas	14
3.4 Inmunidad adaptativa.....	15
3.4.1 Reconocimiento de Antígenos a través de Anticuerpos	16
3.4.2 Reconocimiento de Antígenos por Linfocitos T	16
3.4.3 Selección Clonal y Memoria Inmune	18
3.5 Frutas y Hortalizas en Chile	19
3.6 Alimentos Funcionales	20
3.7 Inmunomodulación	21
3.7.1 Clasificación de los Inmunomoduladores	22

6.2.2 Viabilidad Celular	50
6.3 Estandarización de ensayo de proliferación celular	51
6.4 Efecto en formación de ROS	55
6.5 Recuento de Leucocitos utilizado en la extracción de Macrófagos Peritoneales..	58
6.6 Estandarización para la obtención de esplenocitos	60
7. Discusión	63
7.1 Estudios de Fagocitosis <i>in vitro</i>	64
7.2 Cultivo de Mononucleares	66
7.3 Ensayo de proliferación basada en la reducción del bromuro de 3-(4,5- dimetiltiazol-2-yl)-2,5 difeniltetrazolio (MTT).....	67
7.4 Efecto en formación de ROS mediante la reducción del Nitroazul de tetrazolio (NBT).....	69
7.5 Obtención de Macrófagos Peritoneales	71
7.6 Obtención de Esplenocitos	73
8. Conclusión	75
9. Bibliografía	76
10 Anexos	82

INDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Reacción de NBT con iones superóxidos.....	26
Figura 2. Estructura química de MTT y su producto de formazan reducido	27
Figura 3. Regulación de una inflamación peritoneal aguda	28
Figura 4. Extracción de muestra sanguínea	32
Figura 5. Orden de carga de los pocillos previo a la incubación	36
Figura 6. Modelo murino utilizado en ensayo	40
Figura 7. Ratón sacrificado, fijado por sus extremidades a una zona delimitada.....	42
Figura 8. Procedimiento del ensayo de fagocitosis	44
Figura 9. Polimorfonuclear visualizado mediante microscopio óptico con lente de inmersión	45
Figura 10. Gráfico de fagocitosis porcentual de extractos de frutas y hortalizas	46
Figura 11. Gráfico de índice fagocítico de extractos de frutas y hortalizas	47
Figura 12. Procedimiento para obtención de células mononucleares	48
Figura 13 Tubos Falcon con suspensión de mononucleares	49
Figura 14. Ensayo de viabilidad celular mediante método de exclusión con azul tripán	50
Figura 15. Observación de poblaciones celulares por microscopio invertido	51
Figura 16. Formación de cristales de MTT Formazan	51
Figura 17. Gráfico de porcentaje de proliferación celular según extractos de frutas y hortalizas	52
Figura 18. Gráfico de porcentaje de proliferación en base a una curva de concentración de extractos de frutas y hortalizas	54
Figura 19. Visualización de cristales de NBT reducido	55
Figura 20. Gráfico de porcentaje de reducción de NBT según extractos de frutas y hortalizas	56
Figura 21. Gráfico de porcentaje de reducción de NBT en base a una curva de	

concentración de extractos de frutas y hortalizas	57
Figura 22. Procedimiento para obtención de macrófagos esplénicos	60
Figura 23. Diferencia entre una muestra tratada con buffer de lisis y sin buffer. 61	
Figura 24. Espectro HPLC realizado a un extracto total de frutilla.....	82
Figura 25. Espectro HPLC obtenido de un estándar de ácido cafeico (50 ppm)..	83
Figura 26. Espectro HPLC obtenido de un estándar de ácido ferúlico (50 ppm). 84	
Figura 27. Espectro HPLC obtenido de un estándar de ácido p-cumárico (50 ppm)	85
Figura 28. Espectro HPLC obtenido de un estándar de ácido clorogénico (50 ppm)	86

INDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Receptores tipo Toll y sus ligandos endógenos y microbianos	12
Tabla 2. Distintos tipos de medios para cultivo celular, ejemplos y sus respectivos usos	24
Tabla 3. Extractos metanólicos y acuosos de frutas y hortalizas utilizadas en el estudio	31
Tabla 4. Especificación de variables utilizadas por distintos autores para la obtención de macrófagos peritoneales	58
Tabla 5. Recuento celular y determinación de hemoglobina en ratones, según tipo, volumen y concentración de reactivo inoculado y tiempo de tratamiento	59
Tabla 6. Recuento celular y determinación de hemoglobina en muestra con y sin buffer de lisis Amonio-Cloruro-Potasio	62