

## TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS.....	8
ÍNDICE DE FIGURAS.....	8
1. INTRODUCCIÓN.....	10
1.1 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	12
2. OBJETIVOS.....	13
2.1 Objetivo General.....	13
2.2 Objetivos Específicos.....	13
3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	14
3.1 Biopsia.....	14
3.2 Fijación.....	15
3.2.1 Formalina 10% tamponada.....	17
3.2.1.2 Formalina 10% tamponada y macromoléculas.....	19
3.3 Proteínas y su utilidad diagnóstica.....	20
3.3.1 Citoqueratinas 5/6 como marcador epitelial.....	25
3.4 Inmunohistoquímica.....	27
3.4.1 Anticuerpos.....	29
3.4.2 Inmunohistoquímica directa.....	31
3.4.3 Inmunohistoquímica indirecta.....	32
3.4.3.1 Inmunoperoxidasa.....	33
3.5 Procesamiento histológico.....	35
3.5.1 Técnica inmunohistoquímica indirecta método estreptavidina-biotina.....	36
3.6 Inmunohistoquímica y formalina.....	38
3.7 Análisis en inmunohistoquímica.....	41
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	43

4.1	Muestras .....	43
4.2	Eutanasia .....	43
4.3	Diseño experimental.....	44
4.4	Tinción inmunohistoquímica para citoqueratina 5/6.....	46
4.5	Análisis de las muestras .....	47
4.6	Análisis estadístico.....	50
5.	RESULTADOS .....	51
5.1	Determinación de la expresión de citoqueratina 5/6 en lenguas de ratones Balb-c mediante inmunohistoquímica .....	51
5.2	Cuantificación de la expresión de citoqueratina 5/6 en lenguas de ratones Balb-c mediante software Image J.....	52
5.3	Determinación del mayor tiempo de inmunoexpresión para CKs 5/6 en lenguas de ratones Balb-c.....	54
6.	DISCUSIÓN .....	59
7.	CONCLUSIÓN.....	67
8.	RESUMEN .....	68
9.	BIBLIOGRAFÍA .....	70

## ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO 1. CONSENSO EN GRADOS DE INMUNORREACTIVIDAD PARA CADA ANTICUERPO Y CADA TIEMPO. ADAPTADO DE WEBSTER ET AL., 2009. CK: CITOQUERATINA; SEM: SEMANA.....	40
CUADRO 2: TIEMPOS DE FIJACIÓN EN FORMALINA 10% TAMPONADA DE LAS MUESTRAS DE LENGUA DE RATONES BALB-C.....	45
CONTINUACIÓN CUADRO 2: TIEMPOS DE FIJACIÓN EN FORMALINA 10% TAMPONADA DE LAS MUESTRAS DE LENGUA DE RATONES BALB-C.....	46
CUADRO 3. DATOS DE DENSIDAD Y ÁREA DE LAS MUESTRAS ANALIZADAS, CON SU CORRESPONDIENTE ÍNDICE.....	53
CONTINUACIÓN CUADRO 3. DATOS DE DENSIDAD Y ÁREA DE LAS MUESTRAS ANALIZADAS, CON SU CORRESPONDIENTE ÍNDICE.....	54
CUADRO 4. COMPARACIONES POSTERIORES. TEST ESTADÍSTICO KRUSKAL WALLIS.....	55
CUADRO 5. MEDIAS Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR SEGÚN TIEMPO DE FIJACIÓN.....	56

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. FORMACIÓN DE PUENTES METILENO ENTRE PROTEÍNAS Y FORMALINA.....	18
FIGURA 2. ALGORITMO INMUNOHISTOQUÍMICO DE TUMORES MALIGNOS INDIFERENCIADOS DE CÉLULAS GRANDES. ADAPTADO DE WICK 2008 .....	22

FIGURA 3. ALGORITMO INMUNOHISTOQUÍMICO DE NEOPLASIAS INDIFERENCIADAS DE CÉLULAS FUSIFORMES. ADAPTADO DE WICK 2008....	23
FIGURA 4. ALGORITMO INMUNOHISTOQUÍMICO DE TUMORES INDIFERENCIADOS CON CARACTERÍSTICAS SUPERPUESTAS. ADAPTADO DE CARBONE, ET AL., 2008. ....	24
FIGURA 5. INMUNOHISTOQUÍMICA INDIRECTA CON MÉTODO ESTREPTAVIDINA-BIOTINA-PEROXIDASA. ADAPTADO TAYLOR ET AL., 2013. .....	34
FIGURA 6. FORMACIÓN DE POLÍGONO DE ESTUDIO EN SOFTWARE AXIONVS40X64 V 4.8.3.0. ....	48
FIGURA 7. MUESTRA PROCESADA A PARTIR DE SOFTWARE IMAGE J 1.50i, A PARTIR DE EXTENSIÓN DECONVOLUCIÓN DE COLOR. ....	49
FIGURA 8. COMPARACIÓN ENTRE MUESTRAS INMUNOTEÑIDAS LUEGO DE 7 HORAS DE FIJACIÓN EN FORMALINA 10% TAMPONADA (A) Y DE 2 DÍAS DE FIJACIÓN (B).....	52
FIGURA 9. GRÁFICO CON COMPARACIONES POSTERIORES POR RANGOS UTILIZANDO EL TEST ESTADÍSTICO KRUSKAL WALLIS. ....	57
FIGURA 10. DESPRENDIMIENTO PARCIAL DE MUESTRAS TRAS 2 MESES DE FIJACIÓN CON FORMALINA 10% TAMPONADA.....	58
FIGURA 11: FRECUENCIA DE RUPTURA DE MUESTRA HISTOLÓGICA DURANTE PROCESAMIENTO HISTOLÓGICO.....	65