

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

ÍNDICE DE CONTENIDOS.....	1
ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS .....	4
RESUMEN .....	5
INTRODUCCIÓN .....	6
MARCO TEÓRICO.....	8
1. APARATO CARDIOVASCULAR.....	8
2. ENDOTELIO.....	10
2.1. FUNCIÓN ENDOTELIAL .....	11
2.2. DISFUNCIÓN ENDOTELIAL .....	12
3. INFLAMACIÓN.....	13
4. MIGRACIÓN TRANSENDOTELIAL DE LEUCOCITOS.....	15
5. UNIONES INTERCELULARES ENDOTELIALES.....	19
5.1 UNIONES ADHERENTES.....	22
5.2 CONEXINAS .....	24
5.3 UNIONES ESTRECHAS.....	25
HIPÓTESIS .....	29
OBJETIVO GENERAL .....	29
OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	29
MATERIALES Y MÉTODOS.....	30
1. LÍNEAS CELULARES EMPLEADAS.....	30

2. PROCEDIMIENTO PARA TRABAJAR CON CÉLULAS HUMANAS EN CULTIVO.....	31
2.1 PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO.....	31
2.2 DESCONGELAMIENTO DE LAS CÉLULAS.....	32
2.3 MANTENCIÓN DE LAS CÉLULAS CULTIVADAS.....	32
2.3.1.LÍNEAS CELULARES NO ADHERENTES.....	32
2.3.2.LÍNEAS CEULARES ADHERENTES.....	33
3. PREPARACIÓN DE PLAQUETAS LAVADAS.....	34
4. ENSAYO DE TRANSMIGRACIÓN DE MONOCITOS Y PLAQUETAS.....	34
4.1 ACONDICIONAMIENTO DE LA MEMBRANA TRANSWELL.....	35
4.2 FORMACIÓN DE LA MONOCAPA ENDOTELIAL.....	35
4.3 DETERMINACIÓN DE LA INTEGRIDAD DE LA MONOCAPA ENDOTELIAL.....	35
4.4 MIGRACIÓN CELULAR Y OBTENCIÓN DE MEDIOS CONDICIONADOS.....	36
5. DETERMINACIÓN DE CONDICIONES IDEALES PARA qPCR.....	38
5.1 DISEÑO DE PRIMERS.....	38
5.2 EVALUACIÓN DE PRODUCTO ÚNICO.....	39
5.3 EFICIENCIA DE LOS PRIMERS.....	40
6. EXPOSICIÓN DE LA MONOCAPA ENDOTELIAL A MEDIOS CONDICIONADOS.....	40
7. EXTRACCIÓN DE RNA TOTAL.....	41
8. TRATAMIENTO CON DNASA Y GENERACIÓN DE ADN COMPLEMENTARIO.....	41
9. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.....	42
RESULTADOS.....	43
1. SELECCIÓN DE PRIMERS.....	43

2.	DETERMINACIÓN DE PRODUCTO ÚNICO .....	43
3.	DETERMINACIÓN DE LA EFICIENCIA DE LOS PRIMERS .....	48
	DISCUSIÓN.....	51
	CONCLUSIÓN.....	58
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	59

## ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

### TABLAS

Tabla 1: Secuencias de partidores utilizados para qPCR. ....	44
Tabla 2: Selección de primers según Ct y amplificación de producto único .....	48
Tabla 3: Eficiencia de los primers de Claudina-5 y Ocludina .....	50

### FIGURAS

Figura 1: Corte transversal de una arteria de grueso calibr .....	10
Figura 2: Etapas de la extravasación endotelial de leucocitos .....	16
Figura 3: Moléculas participantes en la migración celular.....	18
Figura 4: Proteínas de unión intercelular endotelial .....	21
Figura 5: Estructura de la ocludina humana asociada a la membrana plasmática.....	26
Figura 6: Medios de cultivo celular .....	31
Figura 7: Distribución de líneas celulares en las membranas de Transwell.....	37
Figura 8: Esquema de pocillo de transmigración celular o cámara de Boyden.....	37
Figura 9: Curva de melting primers ZO-1 .....	45
Figura 10: Electroforesis producto ZO-1 .....	46
Figura 11: Curva de melting primers Claudina-5 .....	46
Figura 12: Curva de melting primers Ocludina .....	47
Figura 13: Gráficos eficiencia primers de Claudina 5 opción uno.....	49
Figura 14: Gráficos eficiencia primers de Ocludina opción uno.....	49