

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

	Página
1. Resumen	1
2. Introducción	2
3. Revisión bibliográfica	4
3.1. Fisiopatología de la aterotrombosis	4
3.2. Participación de las plaquetas y la integrina $\beta 3$ en la adhesión y agregación plaquetaria	7
3.2.1. Glicoproteína IIb/IIIa: Integrina $\beta 3$	8
3.3. Modelo apoE knock out	10
3.4. Efecto de los productos orgánicos	12
3.4.1. Manzanas	13
4. Objetivos	15
4.1. Objetivo general	15
4.2. Objetivos específicos	15
5. Materiales y Métodos	17
5.1. Grupos experimentales y condiciones de experimentación	17
5.1.1. Grupos experimentales	17
5.1.2. Condiciones de mantención	18

5.2. Alimentación	18
5.2.1. Dieta Normal	19
5.2.2. Dietas Experimentales	19
a) Dieta Grasa	19
b) Dieta Grasa con Piel de Manzana	20
5.3. Información Nutricional de las Dietas	22
a) Determinación de la grasa	22
b) Determinación proteica	22
c) Determinación de fibra	23
d) Determinación de ceniza	23
e) Determinación de agua	23
f) Determinación de hidratos de carbono	23
5.4. Procedimientos Experimentales	24
5.4.1. Animales de experimentación: anestesia y sacrificio de los animales	24
5.4.2. Fijación de la arteria aorta	25
5.4.3. Procesamiento previo a las tinciones histoquímicas	26
e inmunohistoquímicas	
a) Fijación de las arterias	26
b) Deshidratación	27
c) Aclaramiento, inclusión en parafina y corte histológico	27

d) Desparafinación e hidratación de los cortes	28
5.5. Tinción Oil Red	29
5.6. Tinciones Histoquímicas	30
5.6.1. Tinción hematoxilina eosina	30
5.6.2. Tinción tricrómico de Masson	32
5.7. Tinción Inmunohistoquímica	33
5.7.1. Recuperación antigénica	34
5.7.2. Bloqueo de peroxidasa endógena	35
5.7.3. Bloqueo específico: Inmunoglobulina G endógena	35
5.7.4. Bloqueo inespecífico y uso de anticuerpos	36
a) Bloqueo inespecífico	36
b) Anticuerpo primario	36
c) Anticuerpo secundario	37
5.7.5. Complejo estreptavidina peroxidasa y revelado de la enzima	37
5.7.6. Revelado con el cromógeno apropiado	38
6. Resultados	40
6.1. Análisis nutricional de las dietas experimentales	40
6.2. Peso corporal de los grupos experimentales	41
6.2.1. Peso inicial y final de los grupos experimentales	41
6.2.2. Comparación del peso corporal entre los grupos experimentales	42

6.3 Análisis Bioquímico	43
6.3.1. Colesterol total	43
6.3.2. Comparación bioquímica entre los grupos experimentales	44
6.4. Tinciones	44
6.4.1. Tinción oil red	45
6.4.2. Tinción hematoxilina eosina	46
a) Grupo C57BL6WT	46
b) Grupo dieta normal	46
c) Grupo dieta grasa	47
d) Grupo dieta grasa piel de manzana	48
6.4.3. Tinción tricrómico de Masson	48
a) Grupo C57BL6WT	48
b) Grupo dieta normal	49
c) Grupo dieta grasa	50
d) Grupo dieta grasa piel de manzana	51
6.4.4. Tinción Inmunohistoquímica	51
a) Grupo C57BL6WT	51
b) Grupo dieta normal	52
c) Grupo dieta grasa	52
d) Grupo dieta grasa piel de manzana	53

e) Controles tinción inmunohistoquímica	54
7. Discusión	56
8. Conclusiones	63
9. Bibliografía	64

## ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Hidratación de las muestras a concentraciones decrecientes de alcohol.	28
Tabla 2. Deshidratación de las muestras a concentraciones crecientes de alcohol	31
Tabla 3. Protocolo resumen de la tinción inmunohistoquímica	39
Tabla 4. Informe nutricional porcentual de las dietas administradas	40

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Progreso de la lesión aterombótica.	6
Figura 2. Heterodímero de la integrina transmembrana	9
Figura 3. Concentraciones de colesterol en fracciones de lipoproteínas en el ratón normal y deficiente de ApoE	11
Figura 4. Compuestos fenólicos que posee la manzana Granny Smith.	13
Figura 5. Preparación de la dieta grasa	20
Figura 6. Manzana Granny Smith	21
Figura 7. Sacrificio de animales en experimentación	25
Figura 8. Arterias aorta recién extraídas en hielo	26
Figura 9. Tratamiento de las arterias para tinción Oil Red	30
Figura 10. Gráfico del peso corporal inicial y final de los grupos dieta normal, dieta grasa y dieta grasa con piel de manzana	41
Figura. 11: Gráfico del peso corporal final de los ratones apoE knock-out	42
Figura 12: Gráfico del colesterol total de los grupos en estudio	43

Figura 13: Gráfico de comparación de los parámetros bioquímicos entre los grupos experimentales.	44
Figura 14. Arterias aorta de los grupos experimentales teñidas con Oil Red.	45
Figura 15. Tinción hematoxilina eosina del grupo C57BL6WT.	46
Figura 16. Tinción hematoxilina eosina del grupo dieta normal.	46
Figura 17. Tinción hematoxilina eosina del grupo dieta grasa	47
Figura 18. Tinción hematoxilina eosina del grupo dieta grasa	48
Figura 19. Tinción tricrómica de Masson del grupo C57BL6WT	48
Figura 20. Tinción tricrómica de Masson del grupo dieta normal	49
Figura 21. Tinción tricrómica de Masson del grupo dieta grasa	50
Figura 22. Tinción tricrómica de Masson del grupo dieta grasa piel de manzana.	51
Figura 23. Tinción Inmunihistoquímica del antígeno CD61 en el grupo C57BL6WT.	51
Figura 24. Tinción Inmunihistoquímica del antígeno CD61 en el grupo dieta normal	52
Figura 25. Tinción Inmunihistoquímica del antígeno CD61 en el grupo dieta grasa	53
Figura 26. Tinción Inmunohistoquímica del antígeno CD61 en el grupo dieta grasa piel de manzana.	53

Figura 27. Control positivo de la tinción inmunohistoquímica del antígeno CD61.	54
Figura 28. Control negativo de la tinción inmunohistoquímica del antígeno CD61.	54
Figura 29. Compendio de las tinciones realizadas a los grupos en experimentación	55