

Patología I

UNACH
DOCTORA. ELDA VALDÉS

Unidad:INTRODUCCIÓN A LA PATOLOGÍA - RESPUESTAS CELULARES AL ESTRÉS Y LAS AGRESIONES TÓXICAS: ADAPTACIÓN, LESIÓN Y MUERTE.

Sumario:

- Técnicas generales de laboratorio
- Definición de técnica histológicas
- Pasos de la técnica histológica.

Bibliografía Básica:

Kumar V, Abbas Abul K, Fausto N, Mitchel Richard N.
Robbins Patología estructural y funcional. 9va. Ed.
Elsevier. Barcelona. España. 2015.

Técnicas generales de laboratorio de la Anatomía Patológica

Se denomina TÉCNICA HISTOLOGICA al conjunto de procedimientos aplicados a un material biológico (animal o vegetal) con la finalidad de prepararlo y conferirle las condiciones óptimas para poder observar, examinar y analizar sus componentes morfológicos a través de los microscopios fotónicos y electrónicos.



De manera general, para alcanzar este objetivo es necesario realizar los siguientes pasos:

- Toma de la muestra

- Fijación

- Inclusión

- Microtomía

- Coloración o tinción

- Montaje

A) TOMA DE LA MUESTRA

La calidad y la fidelidad con que una célula o un tejido muestren una imagen al microscopio, dependen esencialmente de la prontitud y el cuidado que se aplicó para obtener la muestra

Existen diversos procedimientos que permiten obtener muestras de tejidos y órganos

a) Mediante la biopsia: la toma de un fragmento de tejido u órgano de un ser vivo.

- incisional
- excisional
- por sacabocados
- por punción y absorción
- por raspado
- por trepanación

b) mediante la necropsia, las muestras se obtienen de seres muertos.

B) FIJACION

Es un procedimiento cuya finalidad es detener la vida de las células e impedir las modificaciones post mortem (procesos autolíticos), manteniendo así la integridad de las células y tejidos.

Esta acción se efectúa por medio de agentes químicos denominados fijadores.

El tiempo de fijación de las muestras, dependiendo del tamaño de ellas, debe ser de 24 a 48 horas como mínimo y si es posible, en refrigeración.

Los fijadores pueden ser:

a) Gaseosos como el formaldehído

b) Líquidos como el ácido acético, el alcohol etílico, la acetona, etc.

c) Sólidos como el bicloruro de mercurio, el bicromato de potasio, etc.

Las soluciones fijadoras suelen ser *fijadores simples*, o *fijadores compuestos* en las que utilizan más de una sustancia fijadora.

Ejemplo de fijador simple: Formol o formalina. La sustancia fijadora de mayor uso en los laboratorios que realizan técnica histológica.

Se presenta como un líquido claro, incoloro, que emite vapores sumamente irritantes para la conjuntivas y la mucosa respiratoria.

Su acción fijadora se ejerce coagulando las proteínas. Mantiene de manera adecuada la estructura y facilita la coloración posterior de los componentes celulares y tisulares. Endurece bien las muestras. Conserva bastante bien a las grasas.

Se le emplea en una solución al 10% (10 del formol comercial y 90 partes de agua)

C) INCLUSION

Los tejidos fijados adquieren cierta consistencia y dureza, pero no la suficiente para que se obtengan secciones delgadas, del orden de algunas milésimas de milímetro. Por lo que los tejidos deben infiltrarse con sustancias denominadas “de inclusión” con la finalidad de servirles de soporte.

Existen una serie de sustancias de inclusión que se utilizan actualmente. Unas son solubles en agua (gelatina, glicol metacrilato) otras son solubles en solventes orgánicos (*parafina*, celoidina, resinas epóxicas).

El proceso para la inclusión de un tejido con parafina es:

- Primero una vez que ya está fijada la muestra se procede a deshidratarla.
- Después se coloca el tejido en un recipiente para poder llenarlo con parafina.
- Se procede a esperar que se forme el bloque.
- Una vez formado el bloque se encuentra listo para proceder a cortar el tejido en el micrótopo



D) MICROTOMIA (OBTENCIÓN DE LOS CORTES)

Los tejidos y la parafina integran un solo bloque que posee la dureza y la consistencia suficientes para obtener secciones delgadas y transparentes.

Se utilizan instrumentos mecánicos diseñados para que en forma mas o menos automática, seccionen el bloque de parafina en cortes delgados y de grosor uniforme.

Los instrumentos se denominan “micrótomos.

- El objetivo de realizar cortes tan delgados es para que estos puedan ser atravesados por la luz del microscopio.



E) COLORACIÓN O TINCIÓN

Los cortes de los tejidos adheridos a los portaobjetos están listos para ser coloreados.

El procedimiento consiste en que una estructura celular o tisular adquiere un color bajo la acción de una sustancia colorante.

Se considera que una estructura se ha coloreado o teñido cuando al ser lavada con el líquido que disuelve al colorante no se decolora.

El proporcionar color a las estructuras que constituyen un tejido o un órgano se hace con la finalidad de distinguirlas entre sí y facilitar su observación.

Si se examina al microscopio una sección de tejido sin colorear, ya adherida al portaobjetos, se podrá constatar que no es fácil discernir sus componentes.

teñido con Sudán

Tejido adiposo



COLORACION DE HEMATOXILINA - EOSINA (H&E)

La coloración de hematoxilina - eosina se considera como la técnica de tinción de uso más frecuente en el estudio de células y tejidos, a través del microscopio fotónico.

Consiste en la tinción de:

a) los núcleos mediante hematoxilina se colorean de azul, azul morado, violeta, pardo oscuro o negro.

b) el citoplasma y material extracelular utilizando la eosina que les confiere diversos grados de color rosado.



Gamas de color del método de tinción H&E



Figura 3. Procedimiento de tinción del tejido por hematoxilina-eosina.

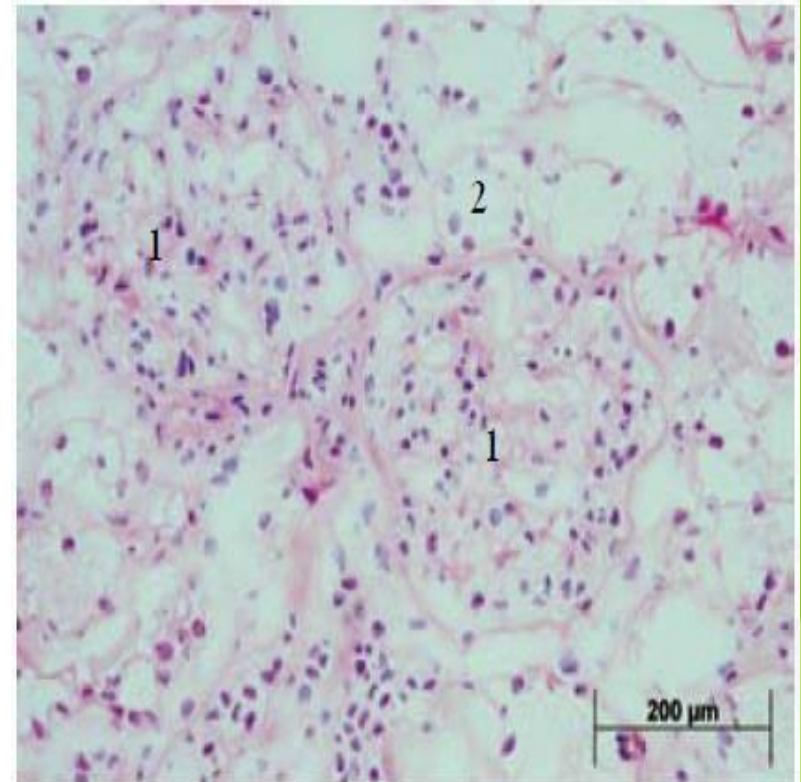
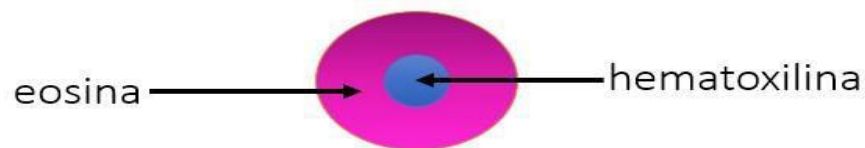


Figura 4. Corte histológico de un riñón. Biopsia por congelación, coloreada con hematoxilina-eosina. Se observan algunos glomerulos (1) y túbulos (2) con detalle citológico escaso y con alteración de la arquitectura. 200X.



F) MONTAJE

Concluido el proceso de la tinción de los cortes, éstos se deben colocar en condiciones de protección y de poderlos utilizar infinidad de veces sin que se deterioren.

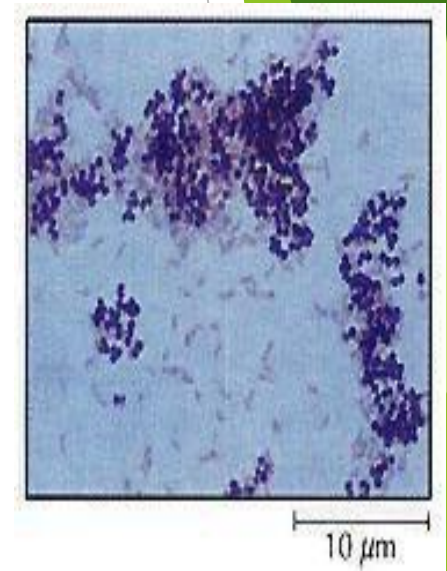
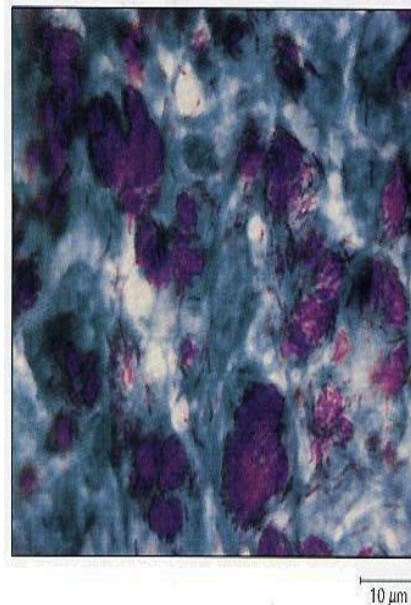
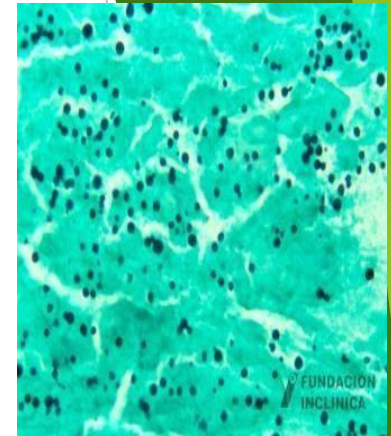
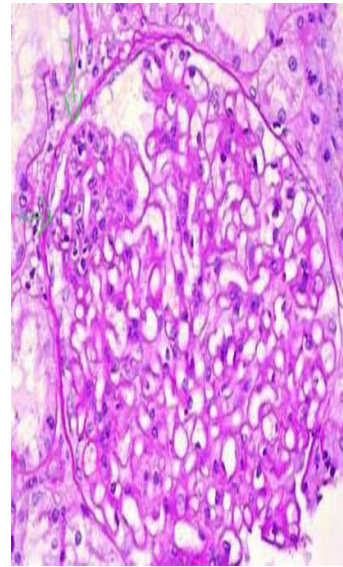
Este procedimiento consiste en colocar encima del corte coloreado una gota de una sustancia adherente, cuyos índices de refracción son similares a los del vidrio) y encima una laminilla cubreobjetos, cuidando que no queden burbujas de aire entre la resina.

A continuación se deja que la resina adquiera solidez suficiente; para ello las láminas se colocan en una platina caliente durante 24 a 48 horas y estarán listas para ser observadas.

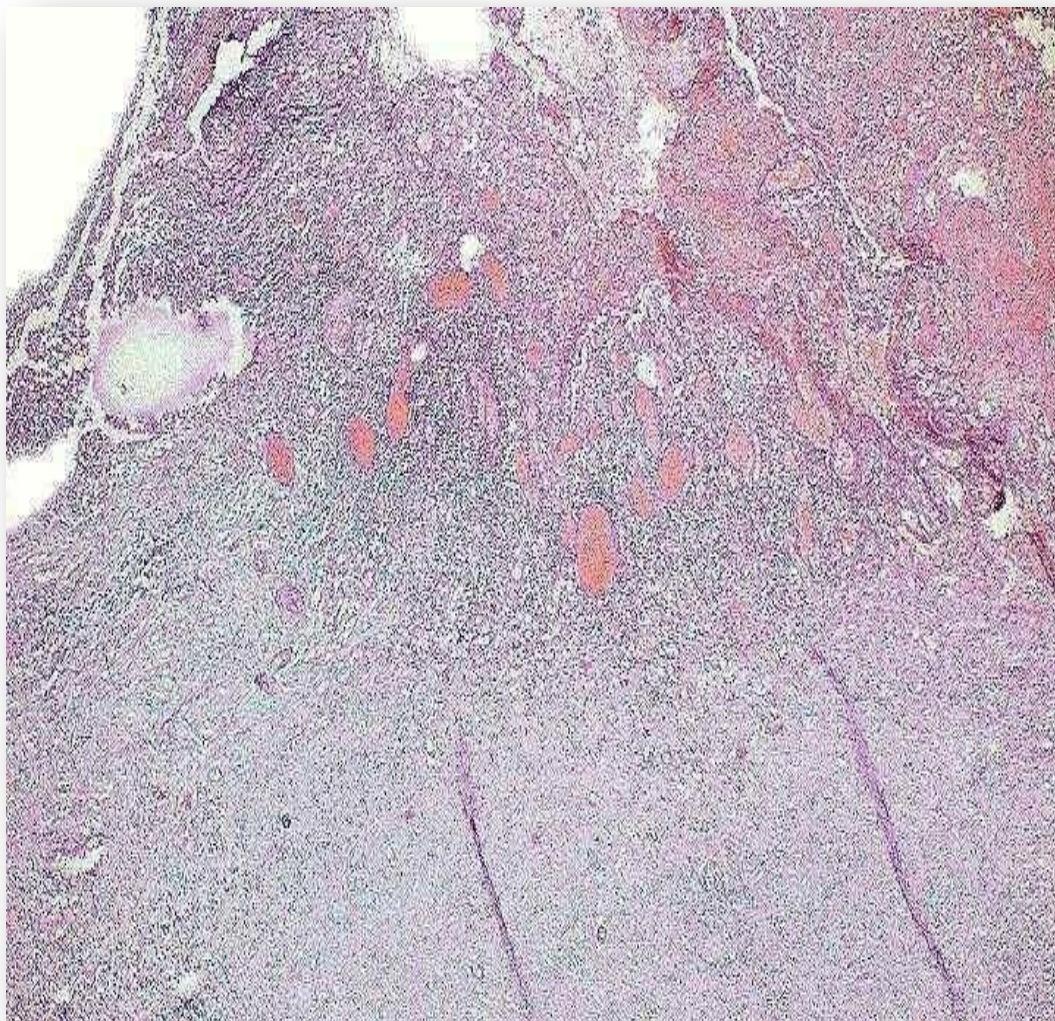
El diagnóstico histopatológico muchas veces precede y determina la actitud terapéutica en un caso dado.

Por consiguiente, el diagnóstico de la biopsia es siempre URGENTE.

Esto es importante no sólo por la decisión terapéutica, sino que también porque significa reducir gastos de hospitalización, ahorro de tiempo, entre otros.



Colecistitis crónica con reagudización
hemorrágica en granulación.



Para la adecuada recolección, conservación y envío de las muestras, es indispensable tener presentes las siguientes normas:

1. Las muestras se obtienen de pacientes vivos o de una necropsia.
2. Para la recolección de cualquier otro tipo de muestra, utilizar material limpio y seco.
3. Los envases utilizados para el envío de muestras deben ser en lo posible irrompibles, herméticos y de dimensiones adecuadas.
4. Toda muestra debe ser perfectamente identificada.
5. La muestra debe acompañarse de un formulario en el que se consigne el nombre completo y edad del paciente, órgano de donde se obtuvo, diagnóstico, antecedentes clínicos y médico que envía.

Prueba de Inmunofluorescencia directa

