

## CAPÍTULO 2. Métodos e instrumentos empleados en microscopía fotónica para el estudio de la histología.

La histología requiere el aprendizaje de la citomorfología de los tejidos y por ende de los órganos. Resulta difícil entender la estructura de células y tejidos sin antes no conocer cuáles son las técnicas y herramientas que usan los histólogos (son delgadas y transparentes)

Técnicas de inclusión en parafina. Técnica más utilizada en el departamento de histología. Se requiere:

→ **OBTENCIÓN DEL TEJIDO**: De animales de experimentación o de material humano / formas:

- **Biopsia**: Examen u obtención del tejido de un organismo vivo. (Incisional, excisional, sacabocado y por punción).
- **Necropsia**: Examen u obtención de un tejido de un organismo muerto.

→ **FIJACIÓN**: Primer paso en la preparación de la muestra. (tratamiento con sustancias químicas) Proceso inmediato / **Objetivos**:

- Conservar los tejidos de forma que muestren el mayor parecido a su estado natural.
- Aumentar ligeramente la dureza del tejido para que no se fragmente y facilitar la preparación de finas películas.
- Impedir los procesos celulares dinámicos que ocurren con la muerte de la célula (Evitar la "autólisis" y llevarla a la degeneración post mortem).

(El fijador se selecciona formando en cuenta el tejido que se quiere conservar. Los más usados solos o combinados son alcohol, cetona, formalina. **LOS MÁS USADOS**: formaldehído al 10% - preserva el número más grande de estructuras, puede preservar

tejido) y el glutaraldehído al 3% (mantiene las estructuras de la célula, penetra más lentamente)

→ **PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA**: Prepare el tejido para que pueda ser manipulado, previo a la deshidratación es necesario bujarla con agua al sacarla de la solución fijadora

→ **DESHIDRATACIÓN**: (gran parte del tejido está constituido con agua). Se aplican soluciones de menor a mayor concentración (alcohol etílico 50% - luego sucesivamente hasta el 100%)  
(Si no se hace gradualmente el agua saldrá del tejido muy rápido y se deformará)

→ **CLARIFICACIÓN**: la sustancia empleada con mayor frecuencia es xileno o xilol. Se coloca en un recipiente junto con la muestra, el tejido se torna transparente o claro al entrar en contacto con el xileno porque cambia su índice de refracción (se puede usar también tolueno, benceno o cloroformo)

→ **EMBEBIDA**: Se filtra la parafina líquida que ocupará los espacios que antes de la deshidratación eran de agua. Por el calor el xilol se evapora y la parafina ocupa los espacios

→ **INCLUSIÓN**: Con la parafina los tejidos son incluidos y cubiertos para poder obtener cortes finos, formando un bloque sólido de parafina con el fragmento del tejido, se le llama "cubo"

→ **CORTE**: Tienen el grosor de 3-7  $\mu\text{m}$  (delgados para permitir el paso del haz de luz) se realiza con un microtomo. Se coloca en el portaobjetos con albúmina (así no se desprenden del portaobjetos al ténirlo)

→ **TINCIÓN**: los tejidos no están listos para su examen en el microscopio, dado que los tejidos se encuentran infiltrados en parafina y carecen de color. Se colocan en xilol para eliminar la parafina, se debe rehidratar pasando por una serie de alcoholes de graduación decreciente

Anuelec Aguilar Mónica Moberat 1º A

02-09-21

hasta llegar a una solución 100% de agua. La función más usada es la de hematoxilina y eosina.

→ **MONTAJE**: Se deshidrata de nuevo para fijar permanentemente en el portaobjetos. Los medios de montaje pueden ser miscibles (ya no es necesario deshidratar después de teñir) o no en agua.

→ **TECNICA DE CONGELACIÓN PARA BIOPSIA TRANSCOPERATORIA**:

Usada para cuando el objeto de estudio son grasas o lípidos que son eliminados en el proceso de coloramiento o enzimas que quedan inactivas por el calentamiento durante la inclusión. Se coloca la muestra de tejido en **nitrogeno líquido**, se corta con el microtomo de congelación o con el criostat (más eficiente).

- **Ventajas**: los cortes se obtienen más rápido, se puede utilizar en el diagnóstico de material patológico tomado en interconsulta nequirúrgicos.