



**Encuentro
de JÓVENES
INVESTIGADORES**

**OPTIMIZACIÓN DE TÉCNICAS DE
COLORACIONES HISTOLÓGICAS PARA EL ESTUDIO DE PIEL HUMANA
NORMAL, PARA LA ENSEÑANZA DE CIENCIAS MORFOLÓGICAS**
Molino, Débora

Cátedra de Morfología Normal – FBCB – UNL

Directora: Bertona, Lilian

Codirectora: Díaz, Yamila

Área: Ciencias Biológicas

Palabras claves: piel, coloración histológica, método tricrómico.

INTRODUCCIÓN

La piel (cutis, tegumento) y sus derivados (anexos cutáneos) constituyen el sistema tegumentario. La piel forma la cubierta externa del cuerpo y es su órgano más grande, cumpliendo funciones esenciales: actúa como barrera, provee información inmunitaria, participa en la homeostasis y transmite información sensitiva del medio externo al sistema nervioso (Pawlina, W. & Ross, M. H., 2016). Son por estas razones que el estudio de cortes histológicos de piel es fundamental.

Los tejidos de origen animal son incoloros, pero tienen la propiedad de incorporar y fijar distintos tipos de colorantes, dependiendo de la naturaleza en la vinculación entre los mismos (García del Moral, R., 1993). En el caso de las tinciones tricrómicas, éstas se componen de colorantes con afinidad a los núcleos celulares (colorantes nucleares); colorantes citoplasmáticos, y colorantes de conjuntivo (principalmente a las fibras de colágeno).

Teniendo en cuenta la composición de la piel y su presencia de abundantes fibras de colágeno, esta AFE lyD investigó, aplicó y analizó tres tinciones tricrómicas en distintos cortes histológicos provenientes de distintas zonas de la piel humana normal.

Título del proyecto: OPTIMIZACIÓN DE TÉCNICAS DE COLORACIONES HISTOLÓGICAS PARA EL ESTUDIO DE PIEL HUMANA NORMAL, PARA LA ENSEÑANZA DE CIENCIAS MORFOLÓGICAS.

Instrumento: Actividad de Formación Extracurricular en Investigación y Desarrollo (AFE lyD).

Año convocatoria: 2022

Organismo financiador: UNL

Directora: Bertona, María Lilian

OBJETIVOS

- Investigar y seleccionar distintas técnicas de coloraciones histológicas que pongan en evidencia estructuras específicas de la piel humana.
- Aplicar las coloraciones seleccionadas en cortes histológicos de piel humana.
- Analizar e interpretar las muestras procesadas mediante observación microscópica y capturas fotográficas.

METODOLOGÍA

Para poder conseguir los objetivos propuestos, se han propuesto 4 pasos:

Investigación bibliográfica

Búsqueda sobre aquellas tinciones que puedan ayudar a mejorar el estudio de la piel humana normal dentro de la bibliografía básica.

Puesta a punto de técnicas de coloraciones histológicas para piel.

Se seleccionaron tres coloraciones tricrómicas: coloración Tricrómica de Gomori (verde y azul), coloración Tricrómica de Masson y método del Rojo Sirio para amiloide.

Se redactó un documento considerando las soluciones a utilizar, el procedimiento y posibles resultados con respecto a los colores que deben ser identificados al momento de observar dichas tinciones en el microscopio.

Procesamiento y coloración de las muestras.

Para el procesamiento, la Cátedra contaba con cortes histológicos sin teñir de piel proveniente de la región del tórax y de la rodilla. Se han utilizado un total de 16 cortes histológicos para las 3 tinciones tricrómicas.

Análisis e interpretación de las muestras procesadas.

Se realizó un análisis de las muestras procesadas y teñidas con el objetivo de comparar los resultados teóricos de los obtenidos experimentalmente, así como también destacar las ventajas y desventajas de las tinciones seleccionadas para piel.

Para el análisis se utilizaron dos herramientas: la observación microscópica (individual) y capturas fotográficas de las muestras de piel en zonas que destaquen tanto las características de las distintas tinciones como las características de cada región de la piel. Dichas capturas fotográficas fueron realizadas con el microscopio digital DM750 de la marca Leica y cámara Mshot MSX1.

RESULTADOS Y CONCLUSIONES

A partir de la **Tabla 1**, podemos observar los resultados de las distintas tinciones (**Figuras 1-4**) y compararlas con la tinción de rutina que posee la Cátedra para todos los tejidos: la tinción de Hematoxilina y Eosina (H&E) (**Figuras 5 y 6**).

Tabla 1: Comparación visual de las distintas tinciones

Gomori Verde

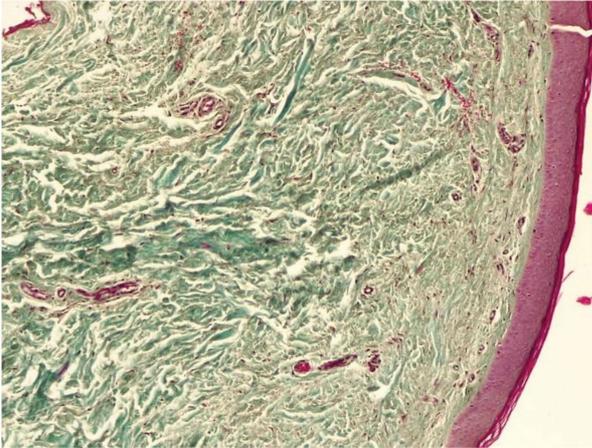


Figura 1: Piel de rodilla. Coloración Tricrómica de Gomori verde. 10X.

Masson

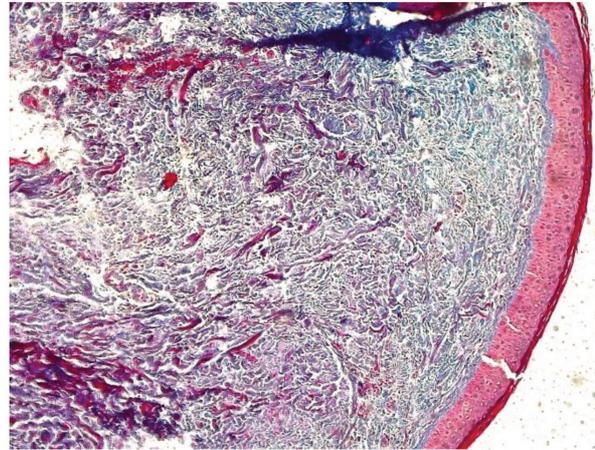


Figura 2: Piel de Rodilla. Coloración Tricrómica de Masson, 10X.

Gomori Azul

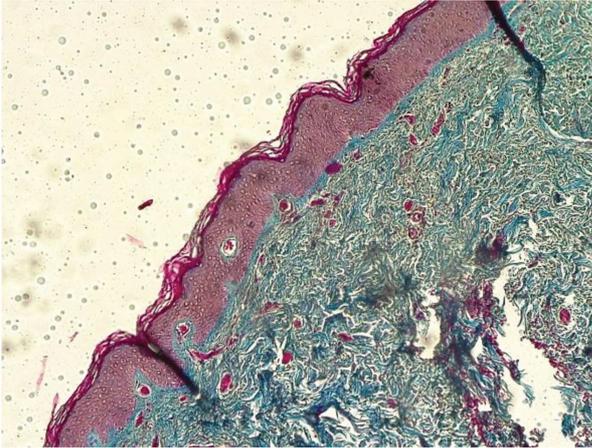


Figura 3: Piel de rodilla. Coloración Tricrómica de Gomori azul. 10X.

Rojo Sirio

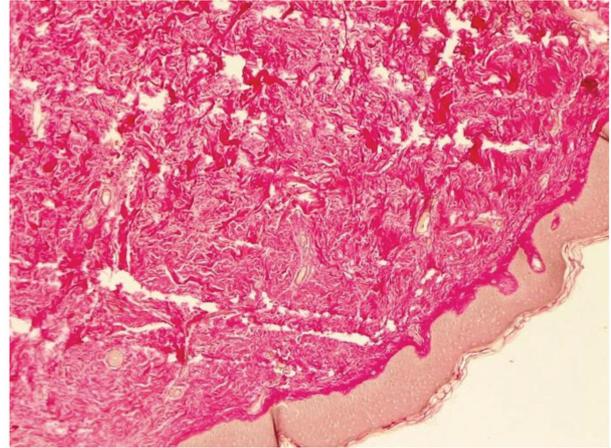


Figura 4: Piel de Rodilla. Método del Rojo Sirio. 10X.

H&E

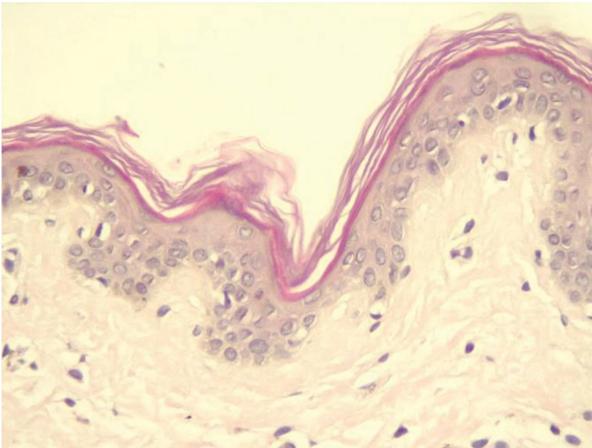


Figura 5: Piel de tórax. Tinción H&E de Harris. 40X.

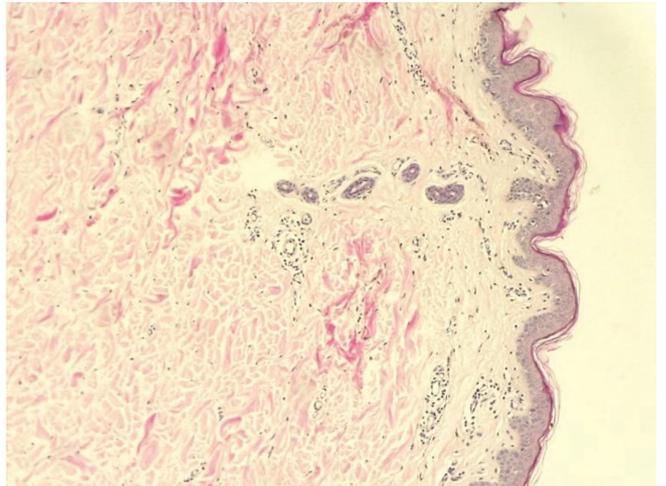


Figura 6: Piel de Tórax. Tinción H&E de Harris. 10X

A partir de la observación microscópica de los cortes histológicos teñidos con los métodos tricrómicos, y teniendo en cuenta la bibliografía consultada y los resultados esperados, se puede decir que las tinciones tricrómicas son las más adecuadas para el estudio de la piel humana debido a la inclusión de colorantes que tiñen específicamente y exclusivamente las fibras de colágeno (elemento fundamental de la dermis y perteneciente al tejido conjuntivo), colorantes que tiñen exclusivamente núcleos y citoplasmas (los cuales nos permiten diferenciar los diferentes estratos de la epidermis, por ejemplo), y colorantes que tiñen exclusivamente los citoplasmas (lo cual genera un contraste de colores muy llamativo). Se puede decir que las tinciones tricrómicas permiten un mejor análisis y observación en el microscopio para el estudio de la piel humana.

A partir de la comparación de las tinciones tricrómicas con la tinción de rutina de H&E, uno de los aspectos que impacta visualmente es la forma en que aquellos permiten destacar el entramado de red de fibras de colágeno. Estos haces de fibras de colágeno han sido teñidos de colores como verde, azul o rojo intenso que han permitido dimensionar la magnitud de tejido conjuntivo que se encuentra en la piel.

Finalmente, a futuro sería interesante implementar estas tinciones en cortes histológicos con lesiones cutáneas, y ampliar el panorama hacia la investigación de tejidos patológicos.

BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

García del Moral, R., 1993. Interamericana Mc Graw Hill, ed. Laboratorio de anatomía patológica (1 Ed edición).

Pawlina, W. & Ross, M. H., 2016. Histología. Texto y Atlas Color con Biología Celular y Molecular. 7ª ed. Buenos Aires, Médica Panamericana.

Prophet, E. B., et al., 1995. Métodos Histotecnológicos. Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos de América (AFIP), Washington, D.C. Registro de Patología de los Estados Unidos de América (ARP), Washington D.C.