

Método de Apagamiento de la Autofluorescencia inducida por formaldehído sobre piel.

Cárdenas Vega, Roberto S.^{1,2}, López Altamirano, Daniel F.^{1,2}, de Hoyos Vega, José M.², Segoviano Ramírez, Juan C.^{1,2*}
¹Departamento de Histología, Facultad de Medicina, UANL. ²Unidad de Bioimagen, Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencias de la Salud, CIDICS, UANL.
juan.segovianor@uanl.mx

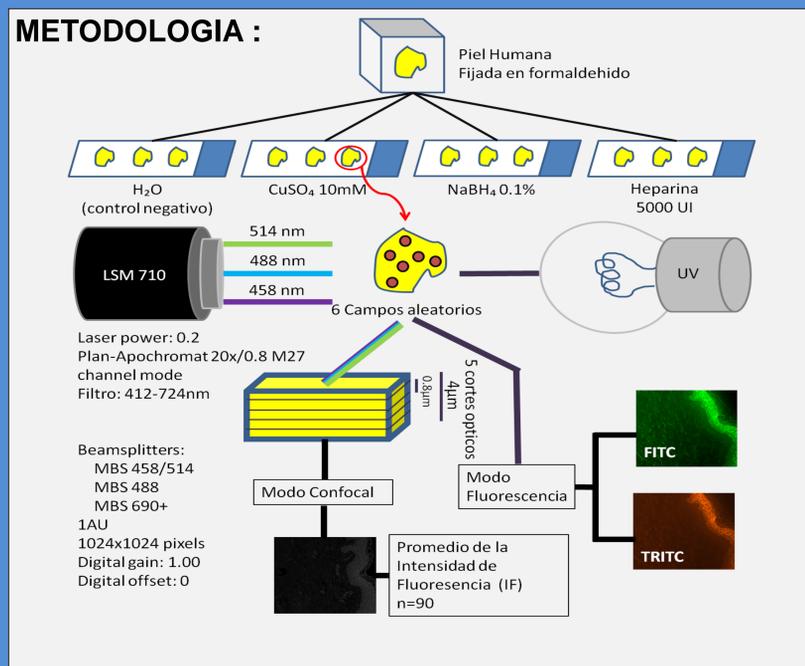
INTRODUCCIÓN:

La fluorescencia es un fenómeno físico presente en algunas moléculas, las cuales tras la excitación por una fuente de energía externa, llevan acabo el fenómeno de Stokes. El formaldehído es un fijador comúnmente usado en estudios de microscopia; su grupo aldehído forma enlaces cruzados en la estructura de las proteínas y estos, a su vez, tienden a crear anillos aromáticos, los cuales son los responsables del fenómeno de autofluorescencia inducida por el fijador¹. Esto constituye un problema muy común en la microscopia confocal, pues el espectro de emisión de las moléculas autofluorescentes, puede interferir con la señal que emite el fluorocromo empleado para estudiar la proteína de interés, fenómeno conocido como cross-talk. Se han reportado estudios donde se utilizan diferentes productos químicos como el sulfato de cobre y de borohidruro de sodio para blanquear la autofluorescencia inducida por el fijador y a su vez eliminar el cross-talk^{2,3}. En algunos laboratorios el uso empírico de la heparina se ha venido convirtiendo en la regla para disminuir esta tipo de autofluorescencia.

OBJETIVOS GENERALES:

Comparar la efectividad de diferentes métodos químicos, para disminuir la autofluorescencia inducida por formaldehído, en biopsias de piel humana.

METODOLOGIA :



RESULTADOS:

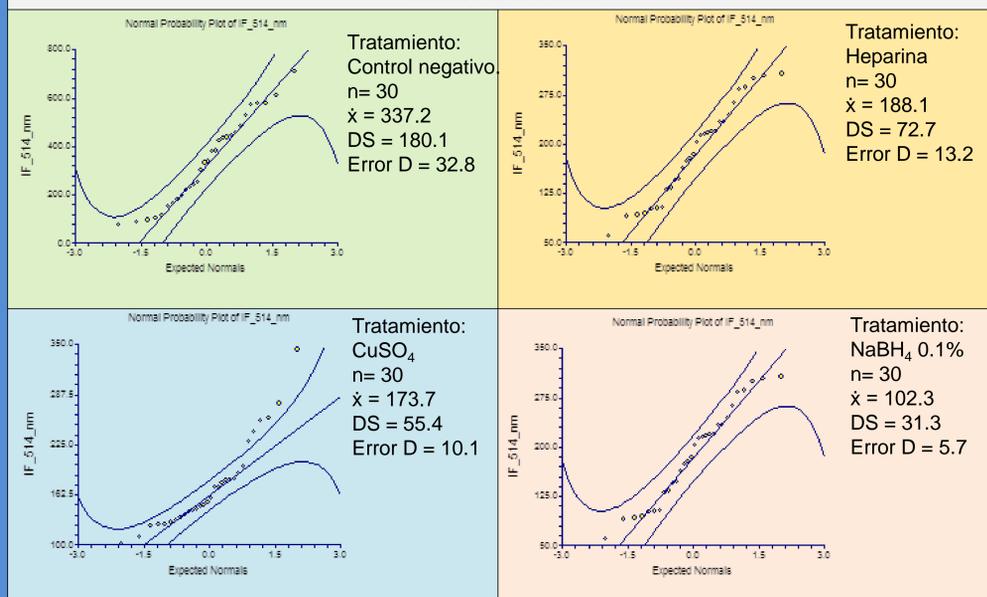
BLANQUEAMIENTO QUIMICO ALCANZADO POR LAS DIFERENTES SUBSTANCIAS PROBADAS

Tratamiento	458nm	488nm	514nm	Filtro FITC	Filtro TRITC
Control negativo					
Sulfato de cobre 10mM					
Heparina 5000U					
Borohidruro de sodio 0.1%					

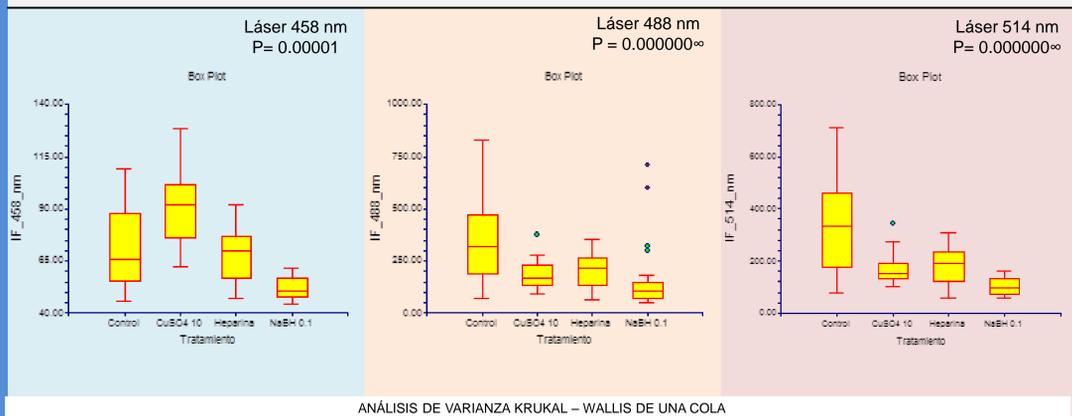
Señal de autofluorescencia de la piel detectada por el fotomultiplicador y cámara fotográfica.

ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LA INTENSIDAD DE FLUORESCENCIA

Láser 514 nm



NIVEL DE APAGAMIENTO DE LA AUTOFLUORESCENCIA INDUCIDA



REFERENCIAS:

- Leischner, U., et al. "Formalin-Induced Fluorescence Reveals Cell Shape and Morphology in Biological Tissue Samples." *PLoS One*. 5, 4 (2010): e10391.
- Baschong, Werner., Suetterlin, Rosmarie., and Laeng, R. Hubert. "Control of Autofluorescence of Archival Formaldehyde-Fixed, Paraffin-Embedded Tissue in Confocal Laser Scanning Microscopy (Clsm)" *The Journal of Histochemistry & Cytochemistry*. 49, 12 (2001): 1565–71.
- Schnell, Stephen A., William, A. Staines., and Wessendorf, Martin W.. "Reduction of Lipofuscin-Like Autofluorescence in Fluorescently Labeled Tissue" *The Journal of Histochemistry & Cytochemistry*. 47, 6 (1999): 719–30.

CONCLUSIÓN:

- El mejor tratamiento para apagar la autofluorescencia de la piel, inducida por formaldehído, es el NaBH₄ 0.1%.
- La disminución de la autofluorescencia lograda fue de 70% aproximadamente.
- Bajo las mismas condiciones, el apagamiento de la autofluorescencia producido con Heparina es igual al apagamiento observado en el grupo control.

PERSPECTIVAS:

Es necesario determinar la concentración adecuada para lograr el apagamiento total (100%) de la autofluorescencia.

Es necesario determinar si el apagamiento químico de la autofluorescencia no afecta la estructura molecular de las proteínas de interés