



PRESERVACIÓN DEL TEJIDO SANGUINEO PARA ESTUDIOS MORFOPATOLÓGICOS.

Garrido-Fariña German Isauro¹ y Cortés Ortiz Teresa¹.

OBJETIVO GENERAL. Se propone una metodología para conservación de sangre, con la finalidad de preservar muestras valiosas y de difícil obtención, manteniendo condiciones óptimas (morfológicas y de apetencia tintorial) para la observación mediante contraste de fase, campo oscuro y campo claro.

El contraste de fase y el campo oscuro permiten la observación de células sanguíneas sin fijar o colorear, la microscopía electrónica permite observar las características morfológicas más delicadas en las células sanguíneas. La fijación ha sido de especial importancia para la observación de las muestras hematológicas, de particular importancia ha sido el alcohol metílico para todas las mezclas colorantes tipo Romanowsky y los aldehídos para la observación en muestras de citología exfoliativa y mediante microscopía electrónica.

METODOLOGÍA. Se obtuvo sangre por venipunción de un donador humano, adulto y clínicamente sano. 5 ml de la muestra fueron depositados en un tubo con 0.5 ml de solución de EDTA al 1%. En un agitador horizontal se homogenizó durante 10 min a velocidad media, se agregaron 5 ml de paraformaldehído en amortiguador de fosfatos al 4%. Se homogenizó durante 10 min. Se hicieron alícuotas de 2 ml cada una y se mantuvieron en refrigeración a 4 °C. El día de la toma y conservación se realizó la primera extensión con 10 µl, se fijó con alcohol metílico absoluto 5 min y se tiñó con Giemsa (1 gota de sol madre en 1 ml de agua destilada) 30 min, y hematoxilina-eosina. A lo largo de 8 meses se obtuvieron 16 diferentes muestras de la sangre conservada. Las muestras fueron resuspendidas mediante agitación a velocidad media durante 10 min., se realizaron las extensiones y se aplicó la coloración de rutina. Se hicieron permanentes con resina sintética. Las extensiones se observaron con un microscopio Carl Zeiss modelo Axio Lab A1, antes de ser teñidas mediante contraste de fase y campo oscuro, después de ser teñidas se observaron en campo claro. Con el lente objetivo de 40 X, se fotografiaron campos y células representativas, con una cámara digital de 10 megapíxeles Canon EOS 1000-D.

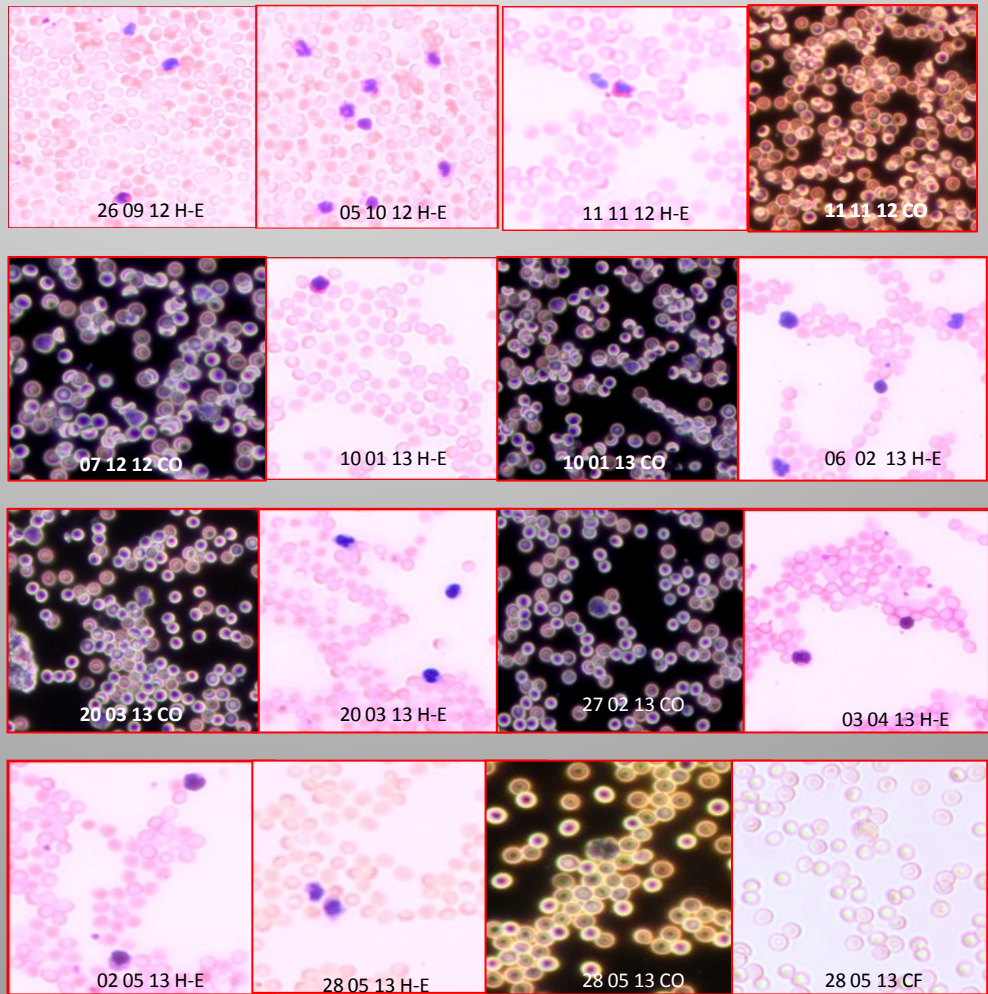


Figura. Fecha de observación. Técnica se: H-E hematoxilina-eosina, CF contraste de fase, CO campo

RESULTADOS Y DISCUSIÓN. La morfología de las células sanguíneas en las alícuotas es parecida, se mantienen las condiciones físicas y tintoriales necesarias para realizar un examen hematológico de rutina. El porcentaje en el conteo de células blancas se mantiene a lo largo del tiempo. Los glóbulos rojos mantienen su forma y tamaño. Su apetencia por los colorantes se mantiene dentro de los rangos requeridos para la tinción con Giemsa y H-E. Conforme el tiempo avanzó se observó una mayor apetencia por los colorantes, particularmente leucocitos, por lo cual se disminuyó el tiempo de tinción con Giemsa hasta 5 minutos, obteniendo coloraciones adecuadas para la observación o diagnóstico. Las muestras observadas en campo oscuro y contraste de fase antes de ser extendidas mantienen una morfología muy parecida a sangre de reciente obtención. Las células blancas se ven modificadas en su forma conforme pasa el tiempo, posiblemente por la agregación de las células durante el tiempo de refrigeración.

¹Laboratorio de Apoyo a Histología y Biología, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM, Km. 2.5 Carretera Cuautitlán-Teoloyucan, San Sebastián Xhala Cuautitlán Izcalli, Edo de Méx CP 54740, México.

isaurogafa@yahoo.com.mx, teresacortsortiz@yahoo.com.mx.

