

29.1 Métodos para la identificación y tinción de pigmentos e iones metálicos.

Un pigmento es una sustancia que tiene color por ella misma o sea coloreada. Existen varios pigmentos:

- **Artefactuales:** aparecen por una aplicación incorrecta de algunas técnicas, y como efecto secundario a dichas técnicas como:
 - Depósitos de plata.
 - Depósitos de sales mercuriales.
 - Pigmentos formólicos.
- **Exógenos:** penetran en el organismo y proceden del medio ambiente, pueden causar o no-patología como:
 - Pigmentos por inhalación de humo (tabaco).
 - Pigmentos antracóticos por inhalación del carbón o sílice.
 - Pigmentos por ingestión masiva de vitamina A.
 - Pigmentos que no producen enfermedad como los tatuajes.
- **Endógenos:** están presentes en los tejidos y son elaborados por el propio organismo, a partir de materiales como:
 - Pigmentos hemoglobínogenos, proceden de la destrucción de la molécula de hemoglobina y pueden ser patológicos o fisiológicos.
 - Hemoglobina.
 - Hemosiderina.
 - Hemofucsina.
 - Hematoidina.
 - Bilirrubina.
 - Pigmentos no hemoglobínogenos: su origen es distinto a la molécula de la hemoglobina y pueden ser:
 - Melanina.
 - Lipofucsina.
 - Pigmento cerioide.
 - Cobre.

29.2 Técnicas para la determinación de bilirrubina.

29.2.1 Técnica de Hall.

Fijación en formol al 10%.

Reactivos:

Solución de:

- Reactivo de Fouchet (Ac. Tricloroacetico-cloruro férrico al10%)
- Picrofucsina de Van Giemson.

Resultados:

- Bilirrubina verde
- Colágena rojo.
- Núcleos en rojo.

29.3 Técnica para detectar el hierro.

29.3.1 Técnica de Perls.

Es la técnica más importante para determinar el ión férrico, está basada en la propiedad del ferrocianuro potásico (prusiato amarillo) para transformarse en presencia de cloruro férrico (el ácido clorhídrico desencadena la reacción) en ferrocianuro férrico o azul prusia.

Reactivo:

- Ferrocianuro potásico: Solución acuosa al 10%.
- Ácido Clorhídrico: Solución acuosa al 20%.

Antes del uso, mezclar a partes iguales la solución 1 y 2.

Método:

- Desparafinar e Hidratar.
- Llevar los cortes a la solución a partes iguales durante 20min.
- Lavar con Ácido Clorhídrico al 10%.
- Lavar con agua abundante.
- Teñir con Rojo Nuclear 5min. -Deshidratar, aclarar y montar.

Cuando se emplea el Reactivo de Perls comercial:

- Desparafinar e Hidratar.
- Poner los cortes en Solución de Tinción número 1 y 2, recién preparada a partes iguales, durante 20 min.
- Lavar bien en agua destilada.
- Teñir con Rojo Nuclear o Reactivo no 3, durante 5 min.

- Lavar con agua destilada. -Deshidratar, aclarar y montar.

Resultados:

- Hierro férrico, hemosiderina en azul.
- Núcleo en rojo.

29.4 Técnicas para determinación de la Melanina.

Para teñirla existen dos métodos.

29.4.1 Técnica de Argentafinidad (Masson Fontana).

Decoloración o blanqueamiento de Melanina.

La técnica de Masson-Fontana (esta descrita en el tema de las técnicas de impregnación argéntica).

29.4.2 Técnica de decoloración de melanina.

Con esta técnica, la melanina no se tiñe sino que se blanquea, utiliza agentes oxidantes como:

- Agua oxigenada, al 10-15%, después se lava en agua y se contrasta con Hx. el agua oxigenada blanquea a la vez que decolore la melanina.
- Permanganato potásico, lavando y blanqueando con ácido oxálico.

29.4.3 Métodos histoenzimáticos.

Estos métodos determinan Dopa-oxidasa, o enzima característica de los melanocitos y autofluorescencia.

29.5 Métodos para identificación de iones (calcio).

Normalmente el calcio lo encontramos en huesos y dientes, aunque algunas veces pueden aparecer en tejidos que no lo poseen.

En general, las sales que con mayor frecuencia se depositan son, fosfatos, carbonatos y oxalatos, teniendo como característica común su apetencia por los hemalumbres que los colorea de azul.

Los métodos que se utilizan para la detección de los iones de calcio son de dos tipos:

- Sustitución del ion cálcico intratisular en forma de fosfatos o carbonatos por otros iones metálicos como plata y cobalto.
- Por coloraciones selectivas como la del rojo de alizarina S.

29.5.1 Métodos para identificar el calcio. Método de Von Kossa.

Por sustitución de ion cálcico tenemos el método de Von Kossa: Los iones cálcicos se pueden sustituir por incubación con solución de plata acuosa, sometidos a un proceso simultáneo de exposición de luz solar, o sustituirse por incubación con solución de plata en la oscuridad realizando después una reducción externa con un agente químico de forma que se deposita gran cantidad de plata sobre los núcleos de precipitación, donde los iones argénticos han sustituido el calcio, por este motivo los iones de calcio son coloreados de negro.

Existen modificaciones de la técnica:

- Método original de Von Kossa: colorea tejido óseo sin descalcificar.
- Método de Von Kossa en oscuridad; es más sensible, detecta las microcalcificaciones.

La técnica de Von Kossa detecta los iones fosfatos y carbonatos que se encuentran en el organismo ligados casi exclusivamente al calcio.

29.5.2 Método original de Von Kossa (2 tiempos).

Reactivos:

- Solución acuosa de nitrato de plata.
- Solución tiosulfato sódico (fijador).
- Rojo neutro. (contraste nuclear).
- Como reductor la luz solar.

Resultados:

- Hueso mineralizado y calcificaciones en negro.
- Osteoide y núcleos en rojo.

29.5.3 Método de Von Kossa en oscuridad (1 tiempo).

Reactivos:

- Solución acuosa de nitrato de plata.
- Solución acuosa de Pirogarol (reductor)
- Tiosulfato sódico.
- Rojo neutro.

Resultados:

- Depósito de calcio en negro.
- Resto del tejido en amarillo dorado.

Cuando tratamos de demostrar carbonato cálcico, el tiempo de exposición debe prolongarse.

29.5.4 Otros métodos.

Existen otras coloraciones selectivas como el Rojo de Alizarina S, que detecta los depósitos de calcio, coloreándolos en Naranja- rojizo.

29.6 Métodos para identificar iones (cobre).

El cobre es un pigmento que aparece en determinadas ocasiones, fundamentalmente en:

- Hígado cuando existe cirrosis biliar primaria.
- En la enfermedad de Wilson, es importante su detección pues estos pigmentos se producen en hígado, cornea y ganglios nerviosos en la base del encéfalo.

29.6.1 El método del Ácido Rubeánico.

El cobre puede determinarse a través del ácido rubeánico por el cual tiene mucha aptencia.

Reactivos:

- Solución (A), madre de ácido rubeánico.
- Solución (B), de acetato sodico.
- Solución de trabajo: se mezclan A+B en proporción 1/20.

Resultados:

- Depósitos de cobre: granulaciones verdes o negras.