

ISTOLOGIA

Lo studio **morfologico**, **biochimico**, **funzionale** **microscopico** dei tessuti

→ 4 tessuti fondamentali:

- **EPITELIALE** - superficie esterna del corpo + rivestire le cavità.
- **CONNETTIVO** - propriamente detto specializzati → con caratteristiche specifiche x ogni tipo (sangue, cartilagine, ossa)
- **MUSCOLARE**
- **NERVOLO**

→ COMPOSIZIONE

i tessuti sono fatti da cellule e matrice extracellulare.
Il rapporto tra cellule e tessuti definiscono il tessuto specifico

→ ANALISI MORFOLOGICA o STRUTTURALE

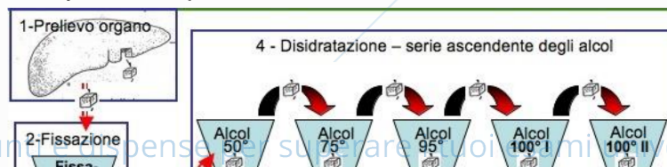
- si studia
- I la **FORMA** della cellula, i suoi componenti e la matrice extracellulare
 - II le **DIMENSIONI**
 - III la **DISTRIBUZIONE**
 - IV i **RAPPORTI**
 - V l' **ULTRASTRUTTURA**

→ PREPARATO ISTOLOGICO

prelievo: deve essere fatto molto velocemente, altrimenti il tessuto va incontro a processi degenerativi che lo alterano profondamente

Fissazione: fornisce un'immagine statica (costantemente riproducibile) processo che impedisce la degenerazione del campione per autolisi, assicura e preserva la sua morfologia di base, mantenendo integra la sua struttura antigenica

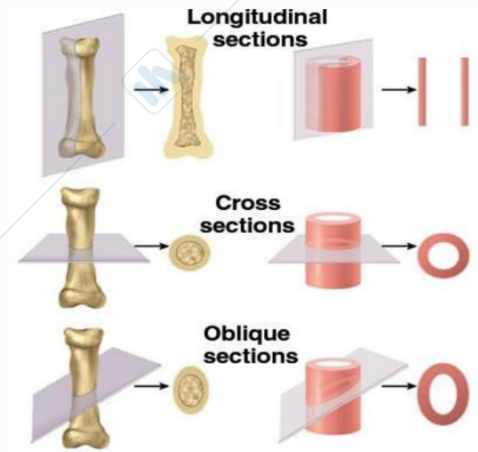
Disidratazione: necessario per far sì che il tessuto poi si indurisca. Processo durante il quale il campione va gradualmente passato in concentrazioni crescenti di alcool





Inclusione: la maggior parte dei tessuti sono molli, vanno quindi induriti immergendoli nella paraffina o resine, o utilizzando azoto-liquido (**CONGELAMENTO**)

Taglio: la luce del microscopio attraversa solo materiale molto sottile → si usano i microtomi x sezionare il tessuto in fette spesse 3-10 μm



Colorazione: i tessuti sono quasi tutti trasparenti o incolore e privi di contrasto, vanno quindi colorati
 I coloranti sono in soluzione acquosa, le sezioni quindi devono essere:
 • **sparaffinate** in xilolo (solvente della paraffina)
 • **reidratate** con scala decrescente di alcool (100%, 90%, 80%, 70%, 50%, H₂O)

I coloranti sono sostanze che si legano a componenti cellulari/tessutali aumentandone il contrasto ottenendo una colorazione policroma

variano in base alle caratteristiche delle strutture che li compongono:

ACIDI → reagiscono con componenti basici delle cellule → proteine e componenti citoplasmatici → **ACIDOFILI**

BASICI → reagiscono con componenti acidi delle cellule → DNA e nucleo → **BASOFILI**

NEUTRI → unione tra ACIDI e BASICI

Per facilitare la fissazione del colorante si usa una sostanza detta **MORDENZANTE**, quasi sempre ioni metallici.

→ **EMATOSSILINA - EOSINA (EE)**

colorazione bicromica basata sul diverso valore di pH dei tessuti e degli organelli della cellula

EMATOSSILINA → colorante basico che colora di viola le componenti acide del citoplasma (ribosomi, secreti acidi) e il nucleo

EOSINA → colorante acido che colora di rosa i tessuti basici (muscolare, connettivo, osseo)

→ **ALCIAN BLUE**

Colorante carico positivamente che forma legami elettrostatici con alcuni tessuti legando o il gruppo carbossilico o quello solforico. Viene usato x evidenziare le mucine acide.

È blu grazie al rame ferrocianina

→ NEURONE

è estremamente difficile ottenere preparati di qualità
si possono utilizzare 2 metodi:

- I METODO DI GOLGI-CAJAL → impregnazione cromo-argentina che utilizza la precipitazione elettiva di cromato di argento sulle cellule nervose, preventivamente fissate con tetraossido di osmio e bicromato di potassio

- II METODO DI NISSL → colorazione x il sist. nervoso centrale usato su sezioni in paraffina da 10µm di spessore colora di blu la sostanza grigia (citoplasma dei neuroni)

→ COLORAZIONI ELETIVE PER IL TESSUTO CONNETTIVO

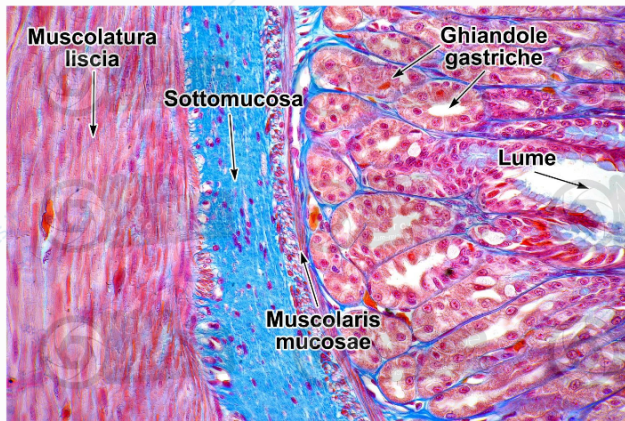
sezioni di 10-12 µm x seguire il decorso delle fibre colorate x tratti ampi

- I GOMORI → colorazione x le fibre connettivali reticolari, basata sulla affinità dell'argento per le proteine che costituiscono le fibre (la luce attiva la reazione - catalizzatore)
- II RESORCINA-FUCSINA DI WEIGERT → specifica x le fibre elastiche

→ COLORAZIONI TRICROMICHE

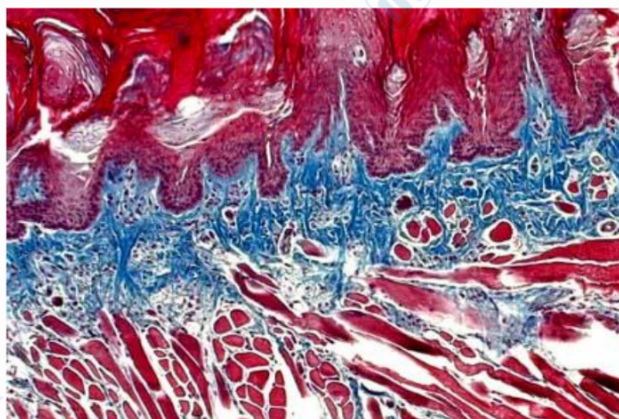
si utilizzano 2 o + coloranti acidi e un poliacido.

Il primo protocollo di colorazione tricromica → Azan-Mallory



- Nuclei
- Citoplasma
- Collagene
- Cellule del sangue
- Tessuto muscolare

Il secondo protocollo di colorazione tricromica → Masson



- Nuclei
- Fibre collagene
- Fibre muscolari e cheratina
- Citoplasma

→ COLORAZIONI ELETIVE PER IL SANGUE

I si stacca una goccia di sangue tra due vetrini, uno a 45° gradi rispetto all'altro (non c'è taglio)

II si lascia essiccare.

III si fissa rapidamente con $\left(\begin{array}{l} \text{citofix} \\ \text{altro fissativo} \end{array} \right.$

IV si colorano con eosina-emarossilina

metodica panottica di Pappenheim

↳ si realizza con 2 miscele di coloranti:

I **May-Grunwald** → blu di metilene + eosina in alcool metilico
→ fissatore
→ colora le strutture acidofile e granulazioni neutrofile dei leucociti

II **Giemsa** → soluzione di glicerina + alcool metilico di eosina + blu di metilene / Azur II
→ colora i nuclei e le strutture azzurrofile

Chiusura: il preparato istologico può essere chiuso in vari modi:

- a **COVERSLIP e MOUNTING MEDIUM** (balsamo, non miscibile in acqua)
- b **DISIDRATAZIONE** (in alcool crescente)
- c **CHIARIFICAZIONE** (in xilolo).
- d **BALSAMO DEL CANADA** o resine artificiali (Eukitt/DPX)

