



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMÉDICAS Y TECNOLÓGICAS
T.S.U EN HISTOTECNOLOGÍA
TRABAJO MONOGRAFICO



ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS MÉTODOS DE BENHOLD Y LIEB
MEDIANTE INVESTIGACION DOCUMENTADA PARA LA DEMOSTRACIÓN DE
AMILOIDE EN HISTOTECNOLOGÍA

AUTORES:

NINOSKA TORCATT

NERSY VELÁSQUEZ

TUTOR:

HT. JOSÉ LUIS ALLES URIZAR.

VALENCIA, 24 OCTUBRE DE 2013



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE BIOMÉDICAS Y TECNOLÓGICAS
T.S.U. EN HISTOTECNOLOGIA
TRABAJO MONOGRAFICO



**ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS MÉTODOS DE BENHOLD Y LIEB
MEDIANTE INVESTIGACION DOCUMENTADA PARA LA DEMOSTRACIÓN DE
AMILOIDE EN HISTOTECNOLOGÍA**

Trabajo de Grado presentado como requisito parcial para la
obtención del Título T.S.U Histotecnología

AUTORES:

NINOSKA TORCATT

NERSY VELÁSQUEZ

TUTOR:

HT. JOSÉ LUIS ALLES URIZAR.

VALENCIA, 24 OCTUBRE DE 2013



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMÉDICAS Y TECNOLÓGICAS
T.S.U EN HISTOTECNOLOGÍA
TRABAJO MONOGRÁFICO



CONSTANCIA DE ENTREGA

La presente es con la finalidad de hacer constar que el Informe Monográfico titulado:

**ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS MÉTODOS DE BENNHOLD Y LIEB
MEDIANTE INVESTIGACION DOCUMENTADA PARA LA DEMOSTRACIÓN DE
AMILOIDE EN HISTOTECNOLOGÍA.**

Presentado por los bachilleres:

NINOSKA TORCATT CI: 21.139.584

NERSY VELÁSQUEZ CI: 19.524.151

Fue leído el trabajo monográfico y se considera que cumple con los parámetros metodológicos exigidos para su aprobación. Sin más a que hacer referencia, se firma a los 15 días del mes de octubre del año 2013.

JOSÉ LUIS ALLES URIZAR:

C. I. N°: 5.414.653

Firma



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMÉDICAS Y TECNOLÓGICAS
DIRECCION DE ESCUELA
COMITÉ DE INVESTIGACION Y PRODUCCION INTELECTUAL



CONSTANCIA DE APROBACION

Quienes suscribimos, Prof. Lisbeth Loaiza, Directora de Escuela; y Prof. Maira Carrizales, Coordinadora del Comité de Investigación y Producción Intelectual de la Escuela. Hacemos constar que una vez obtenidas las evaluaciones del tutor, jurado evaluador del trabajo en la presentación escrita y jurado del trabajo final de grado titulado: **ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS MÉTODOS DE BENNHOLD Y LIEB MEDIANTE INVESTIGACION DOCUMENTADA PARA LA DEMOSTRACIÓN DE AMILOIDE EN HISTOTECNOLOGÍA**, presentado como requisito para obtener el título de Técnico Superior Universitario en Histotecnología, el mismo se considera Aprobado.

En Valencia, a los veintiún días del mes de Octubre del año dos mil trece.

Prof. Lisbeth Loaiza

Directora

Prof. Maira Carrizales

Coordinadora

ÍNDICE DE CONTENIDO

CONTENIDO	p.p
Constancia de Entrega	iii
Constancia de Aprobación	iv
Índice de Contenido	v
Resumen	vi
Abstract	vii
introducción	8
Desarrollo del Cuerpo de Investigación	11
Amiloidosis	11
Teoría B-Amiloide	11
Rojo Congo de Benhold	12
crystal violeta de Lieb	14
los métodos de tención aplicados para determinar si un material es amiloide o algo más	15
Antecedentes de La Investigación	16
Conclusión	18
Recomendaciones	18
Referencias Bibliográficas	20



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMÉDICAS Y TECNOLÓGICAS
INFORME MONOGRÁFICO



**ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS MÉTODOS DE BENNHOLD Y LIEB PARA
LA DEMOSTRACIÓN DE AMILOIDE EN HISTOTECNOLOGÍA**

AUTORES:
NINOSKA TORCATT
NERSY VELÁSQUEZ
TUTOR:
HT. JOSÉ LUIS ALLES URIZAR

Año: 2013

Resumen

La amiloidosis es una enfermedad de etiología desconocida, considerada como un vector o indicador de tumor o infecciones, que se caracteriza por un depósito de cúmulos de proteínas llamadas amiloides, en los tejidos y órganos corporales, estas proteínas reemplazan lentamente al tejido normal llevando a insuficiencia del órgano comprometido. Esta sustancia es insoluble al agua, alcohol, ácidos diluidos y se conserva en la mayoría de los fijadores usuales. Alrededor del 75% de los pacientes que la padecen tienen una amiloidosis primaria, el 5% del total presenta amiloidosis secundaria, y menos del 5% desarrolla una amiloidosis familiar. Con el propósito de conocer el criterio histológico más adecuado para demostrar la amiloidosis, hacemos especial énfasis en comparar los métodos de Rojo Congo de Bennhold y Cristal Violeta Lieb para la demostración de amiloide en Histotecnología, se realizó una investigación descriptiva documental de fuentes impresas y electrónicas, mediante la revisión de publicaciones no periódicas tipo tesis de grados y publicaciones de grado tipo revista científicas. El materia amiloide, es versátil por el cual no puede ser teñido con métodos rutinarios (H.E) porque el grado de amiloide queda en duda, este solo demuestra sustancia amorfa (sin núcleos), esta coloración no tiene certeza por tener ese carácter habitual. Se concluye que las técnicas Rogo Congo de Benhold y Cristal Violeta de Lieb se postulan como herramientas útiles para demostrar hallazgos de los depósitos de amiloides. Sin embargo aun existen controversias y deben estar atentos a nuevos estudios que permitan resolverlas.

Palabra clave: Amiloide, Amiloidosis, Benhold, Lieb.



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMÉDICAS Y TECNOLÓGICAS
INFORME MONOGRÁFICO**



**ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS MÉTODOS DE BENNHOLD Y LIEB PARA
LA DEMOSTRACIÓN DE AMILOIDE EN HISTOTECNOLOGÍA**

AUTORES: NINOSKA TORCATT, NERSY VELÁSQUEZ

TUTOR: HT. JOSÉ LUIS ALLES URIZAR

Año: 2013

Abstract

Amyloidosis is a disease of unknown etiology, considered as a vector or indicator of tumor or infections, characterized by a deposit of protein cumulus called amyloids, in tissues and corporal organs, these proteins replace slowly to the normal tissue leading to insufficiency of the organ involved. This substance is insoluble in water, alcohol, diluted acids and conserved in the majority of usual fixators. About 75% of patients who suffer from it have a primary amyloidosis, 5% of the total presents secondary amyloidosis, and less than 5% develop familiar amyloidosis. In order to know the most appropriate histologic criteria to demonstrate amyloidosis, we especially emphasize in comparing the methods of Rojo Congo de Bennhold and Cristal Violeta Lieb for demonstration of amyloid in Histotechnology, a documental descriptive investigation of print and electronic sources was carried, by reviewing non-periodical publications type degree thesis and grade publications type scientific magazines. The amyloid material, is versatile by which cannot be dyed with routine methods (H.E.) because the level of amyloid remains in doubt, this just shows amorphous substance (coreless), this coloration is not certain to have that usual character. We conclude that the techniques Rogo Congo de Bennhold and Cristal Violeta de Lieb are postulated as useful tools to demonstrate findings of amyloid deposits. However, controversies still exist and must be alert to new studies that allow solve them.

Keywords: Amiloide, Amiloidosis ,Benhold, Lieb

INTRODUCCIÓN

La amiloidosis es una enfermedad de etiología desconocida, considerada como un vector o indicador de tumor o infecciones, que se caracteriza por un depósito de cúmulos de proteína llamada amiloide, en los tejidos y órganos corporales, estas proteínas reemplazan lentamente al tejido normal llevando a insuficiencia del órgano comprometido ocasionando, alteraciones funcionales diversas según la localización e intensidad del depósito. Algunos investigadores como Pearse y Lillie, la consideraron como un complejo de mucopolisacáridos ácidos del tipo del acidocondroitín sulfúrico con proteínas, insoluble en el agua, en el alcohol, ácidos diluidos y se conserva en la mayoría de los fijadores usuales.

Por lo antes expuesto, el método de Rojo Congo de Benhold, es una coloración que se considera soluble en agua, produciendo un color rojo, su solubilidad es mejor en disolventes orgánicos tales como etanol. Tiene una fuerte afinidad para detectar la presencia de amiloide sus procedimientos consisten principalmente en realizar procesos previos tras la coloración; desparafinizar la lamina hasta llegar al agua destilada, para colorear la lamina debe ser en una solución filtrada de rojo Congo durante media hora, para quitar exceso de colorante debe enjuagarse con agua destilada para poder diferenciar rápidamente en una solución alcohólica alcalina, luego se debe pasar por agua corriente para poder contrastar con la solución de hematoxilina de Mayer, después se procede otra vez al paso de agua corriente para quitar el exceso de colorante, se deshidrata y se aclara la lamina a través de alcoholes y Xilol en varias concentraciones para después ser montadas con medio resinoso.

De igual modo, el método Cristal Violeta de Lieb o Metil Violeta, es una coloración metacromática con colorante básico, también considerada con fuerte afinidad para demostrar depósitos de amiloide, en la cual también sus procedimientos consisten en realizar, procesos previos tras la coloración; desparafinar la lámina hasta llegar al agua destilada, se colorea la lámina con la solución diaria de cristal violeta durante cinco minutos, se lava con agua corriente para quitar exceso de colorante, se desciende a montar con un medio acuoso tal como el medio de "APATHY'S" o

bien secar las selecciones a temperatura ambiente durante cinco minutos o más, sumergir la lámina en xileno y montar con un medio resinoso, se debe examinar sin demorar pues la tinción tiende a descolorar.

De allí que, se pretende realizar esta investigación con el objetivo de estudiar comparativamente los métodos Rojo Congo de Benhold y Cristal Violeta de Lieb por medio de investigaciones documentales con el fin de saber cuál es más específica para la demostración de amiloide en Histotecnología.

Siguiendo el mismo orden de ideas, en las últimas décadas se han desarrollado importantes avances tecnológicos con la finalidad de mejorar la efectividad diagnóstica, en busca de una técnica ideal que permita conocer el criterio histológico más adecuado para demostrar la amiloidosis, ya que este material es versátil por lo cual no puede ser teñido con métodos rutinarios como hematoxilina eosina (H.E), que generalmente son métodos utilizados para algunos diagnósticos común sin mayor grado de complejidad, En la mayoría de los casos los depósitos de amiloidosis son teñidos con algunos de los métodos de coloración especial como: Rojo Congo Benhold y Cristal Violeta de Lieb.

Esta investigación fue considerada descriptiva, documental de fuentes impresas y electrónicas, mediante la revisión de publicaciones no periódicas tipo tesis de grado y publicaciones periódicas tipo revista científica, ya que está orientado a la descripción del estudio comparativo del método de Rojo Congo de Benhold y Cristal Violeta de Lieb, pretendiendo que este aporte teórico eleve el nivel de conocimiento proporcionándoles una información sólida y coherente a los estudiantes y profesionales del área de Histotecnología y que este aporte también sirva de base a futuras investigaciones.

A su vez, el problema parte, de cuál de las dos coloraciones es más específica para estudiar la estructura de la proteína. En vista de que, algunas de estas coloraciones utilizadas para la demostración de amiloidosis son un poco costosas, con sustancias nocivas y preparaciones complejas en los que algunos laboratorios de anatomía patológicas de nuestro país no se han enfocado en conocer cuál sería la técnica o método histológico más adecuado para la demostrar la

amiloidosis y debido a la carencia de estudios con respecto al tema por parte de las instituciones se hace necesario plantearse el siguientes interrogantes.

¿El método Rojo Congo de Benhold y Cristal Violeta de Lieb, cuál de estas dos será la técnica más idónea para demostrar con mayor eficacia los depósitos de amiloide?

¿Qué sucede al aplicar la hematoxilina eosina en los casos sospechoso con amiloidosis?

DESARROLLO DEL CUERPO DE INVESTIGACIÓN

Amiloidosis

La amiloidosis es una enfermedad de etiología desconocida, considerada como un vector o indicador de tumor o infecciones, que se caracteriza por un depósito de cúmulos de proteínas llamadas amiloides, en los tejidos y órganos corporales, estas proteínas reemplazan lentamente al tejido normal llevando a insuficiencia del órgano comprometido ocasionando, alteraciones funcionales diversas según la localización e intensidad del depósito. Algunos investigadores como Pearse y Lillie, la consideraron como un complejo de mucopolisacáridos ácidos del tipo del ácidocondroitín sulfúrico con proteínas, insoluble en el agua, en el alcohol, ácidos diluidos y se conserva en la mayoría de los fijadores usuales ⁽¹⁾.

Teoría B-amiloide

Se describe que las placas seniles son lesiones del neurópilo, de estructura esferoide que se encuentran en el espacio extraneuronal y están constituidas principalmente por una proteína llamada b-amiloide, la cual es un péptido de longitud variable de 39 a 43 aminoácidos y de un tamaño de 4-6 kDa. Esta proteína es un producto natural del metabolismo de la proteína precursora del amiloide, la cual posee características estructurales de una proteína de membrana⁽²⁾

Cabe destacar, que los perros al igual que en humanos las paredes de los vasos sanguíneos son otro punto de acumulación de b-amiloide), este fenómeno se denomina Angiopatía Amiloide. Otros aspecto a referir, este tipo de lesiones es una neuropatología característica de la enfermedad de Alzheimer, la cual posee depósitos de b-amiloide principalmente en las paredes de los vasos sanguíneos corticales y de las leptomeninges estos aspectos anteriormente descritos fueron señalados por Prior (1996); Weigel (1995). Estos postulados conllevan a mantener la percepción de la b-amiloide como producto natural de la proteína precursora del amiloide donde además el b-amiloide sirve de ayuda ante estudios relacionados con el Alzheimer⁽²⁾.

Por lo que la amiloidosis constituye un grupo heterogéneo de enfermedades puesto que las cadenas polipeptídicas del amiloide tienen diversa composición de amino-ácidos. Sin embargo, la estructura física del amiloide, es similar en todas las sustancias amiloideas conocidas. Su componente principal es la fibrilla amiloidea, que está formada por dos filamentos helicoidales y que tiene 7 a 10 nm de diámetro. Las fibrillas amiloideas son visibles fácilmente al microscopio electrónico y aparecen dispuestas desordenadamente. El amiloide tiene, además, el componente P, que es una glicoproteína, y el componente C, matriz amiloidea químicamente heterogénea⁽³⁾.

En tal sentido, la clasificación de amiloidosis es propuesta en 1990 por el Nomenclature Committee Of The International Society For Amyloidosis (NCISA), indica que los depósitos de amiloide se deben clasificar utilizando la mayúscula A de amiloide, como primera letra de designación seguida por la denominación de la proteína. La amiloidosis se puede clasificar entonces, de acuerdo a dos criterios: a) por la distribución de los depósitos amiloide, en formas localizadas o sistémicas, y b) por la proteína fibrilar constituyente, específica de cada variedad. Entre las formas sistémicas principales se encuentran: Amiloidosis primaria (AL), Amiloidosis secundaria (AA), y (ATTR) Amiloide transtiretina ⁽⁴⁾.

En cuanto a la incidencia y prevalencia la amiloidosis es una enfermedad infrecuente; alrededor del 75% de los pacientes, tienen una AL, el 5% del total de los individuos afectados padecen AA, y menos del 5% desarrollan una (AF) amiloidosis familiar ⁽⁴⁾.

Rojo Congo de Bennhold

Los métodos más comunes para la demostración de amiloide es el Rojo Congo (CI 22120). Este es un colorante ácido que tiñe de rojizo el citoplasma. Pertenece a una clase de colorantes aniónicos con nombre colorantes directos o, más a colorantes directos de algodón, ya que pueden teñir algodón "directamente" en uso textil, es decir, sin necesidad de utilizar un mordiente ⁽⁵⁾.

Bennhold en 1923 introduce la prueba del rojo Congo para detectar la presencia de amiloide, por razones no conocidas observo que tenía una afinidad con el Rojo Congo ⁽⁶⁾. Esta tinción fue el primer tinte del algodón directo utilizado para

demostrar el amiloide y se ha convertido en una referencia para el propósito. Otros colorantes directos algodón han sido propuestos como sustitutos pero el rojo Congo sigue siendo el más popular. La alternativa más común es la del rojo sirius F3B (CI 35780), que es un rojo algo más oscuro que el rojo congo, y en algunos casos es más fáciles de ver. También hay benzo escarlata 4BNS (CI 29200), que se vende bajo el nombre de "amiloide rojo" por Anatech y es similar en color a rojo sirius F3B, y sirius escarlata GG (CI 40270), que tiene un tono ligeramente más amarillo ⁽⁷⁾.

Es importante expresar que, una de las características de rojo Congo es que el amiloide teñido muestra "birrefringencia Verde". Esto también se conoce como "birrefringencia dicroico", dicroico que significa "dos Colores", y se utiliza a menudo como una característica de identificación de amiloide. Otro elemento a referir es que este tipo de tinción son altamente contaminantes y fueron utilizadas para teñir telas y actualidad se utiliza para el despistaje de esta proteína ⁽⁸⁾.

En la práctica de diagnóstico de patología dicroísmo no se emplea mucho, pero, se considera birrefringencia a la observación de dicroico o verde es necesaria para confirmar la identificación de amiloide con estos tintes. Es lamentable que los términos sean tan similares, y tal vez, es aconsejable consultar birrefringencia verde en lugar de birrefringencia dicroica con el fin de evitar confusiones ⁽⁸⁾.

Es oportuno señalar, que el rojo Congo se tiñe en dos colores dando una tonalidad verde manzana, dependiendo del plano de luz donde está se logre observar se va ver una u otra tonalidad. En el caso de Dicroico, o verde, birrefringencia requiere dos polarizadores, uno por debajo de la sección y uno por encima, y los colores que se muestran son de color rojo con los polarizadores no cruzado y verde cuando se cruzan, es decir, el filtro de polarización por encima de la muestra detecta cambios en el plano de polarización provocado por el rayos que pasan a través de la amiloide teñido. A veces, se puede llegar a observar una birrefringencia amarilla, esto es debido al retraso de los rayos de luz, pero no está relacionada con la amiloide. Debe ser ignorada ⁽⁸⁾.

CRISTAL VIOLETA DE LIEB

El amiloide se colorea de rojo con cristal violeta, observándose en este caso que la metacromasia producida por un pH 1,6 y desaparece si se pre-tratan los tejidos con fenol en frío. Este hecho indujo a pensar en la presencia de mucopolisacáridos ácidos (NOORMANN, 1.961 - 1.964) sin embargo, se ha postulado que la fijación debe alterar la reactividad de los grupos ácidos del amiloide y que la metacromasia del cristal violeta se debe a un mecanismo diferente al que desencadena el azul de toluidina en los mucopolisacáridos ácidos ⁽⁹⁾.

Para todo efecto práctico la ecuación de la metacromasia ($M = SC+CM$) debe estar siempre presente cuando combinamos el cristal violeta con su protocolo histotecnológicos original o modificado frente a una sustancia amiloidea.

M= Metacromasia

SC= Sustancia Cromotropa (amiloide)

CM= Colorante Metacromático (Cristal Violeta)

La Metacromasia, es un fenómeno en el cual algunos elementos (cromotrópo) toman un color diferente a la del colorante llamado metacromático, es decir, capaces de determinar en los tejidos un color diferente a su color; por esta razón no hay sustancias tisulares metacromática sino colorantes metacromáticos. Asimismo, la sustancia Cromotropa es aquella que vira el color de un colorante metacromático mediante un fenómeno físico-químico no aclarado, complicado. Se acepta que los cuerpos que tienen el grupo químico sulfúrico posee esta propiedad ⁽⁹⁾.

Por otra parte, el cristal violeta o metil violeta se obtiene por reacción de la condensación de la Cetona de Michler (4´4 bis-dimetilamino - benzofenona) con N,N - dimetilamina en presencia del clorato de fosforilo. Siendo, según su uso, una mezcla de N-tetra, N penta y N hexametil -p- rosanilina (este último usado para la demostración del amiloide)

Ahora bien, en cuando másmetilado está el Cristal Violeta su color será más oscuro.

El tetrametilo es conocido como Cristal Violeta 2B.

El pentametilo es conocido como Cristal Violeta 6B

El Hexametilo (utilizado para amiliodosis) es conocido como 10B" ⁽⁹⁾.

A veces se afirma que los métodos de cristal violeta han quedado obsoletos, ya que otros métodos de tinción son fáciles de conseguir. El problema, repitiendo una vez más, es que los métodos para amiloide no son completamente fiables, ya que en sí amiloide es tan variable, y, a veces estos métodos fallan no llegan a teñir adecuadamente En esas ocasiones cristal violeta metacromasia puede resultar muy útil. Sin embargo, como con todos los métodos para amiloide, debe tenerse en cuenta que algunos amiloide también puede fallar al teñir con esta técnica.

LOS MÉTODOS DE TINCIÓN APLICADOS PARA DETERMINAR SI UN MATERIAL ES AMILOIDE O ALGO MÁS.

Hay un cierto desacuerdo. Drury y Wallington describen amiloide como eosinófilos, moderadamente con PAS positivo, variable con Van Gieson y azul o verde con un tipo de tricrómico de Masson, en desacuerdo con Wolman, quien dijo que el amiloide no se tiñe como el colágeno (es decir, azul o verde) con un tricrómico. Otros intiman diferentes resultados de la tinción para una identificación positiva, tales como una tinción positiva con Rojo Congo dando birrefringencia verde, o Cristal violeta dando metacromasia. Estas diferencias de opinión en cuanto a lo que constituye resultados de la tinción definitiva de amiloide están enraizadas en la variabilidad inherente del propio material ⁽¹⁰⁾.

El punto es que el amiloide es un material variable y la tinción puede ser variable también. La amiloides puede teñirse con métodos particulares o no, y el fracaso para teñir no puede significar que un material particular no es definitivamente amiloide. En la actualidad cada laboratorio debe poner a disposición varios métodos de tinción por lo que los resultados negativos que se esperaban para demostrar amiloide se puede comprobar con los procedimientos alternativos, o, como último recurso, enviados por microscopía electrónica ⁽¹⁰⁾.

El método rutinario de hematoxilina eosina (H.E) los depósitos de amiloides aparecen como acumuló amorfo rosados depositado en el tejido conjuntivo intercelular, o en la pared de los vasos sanguíneos entre sus células, engrosando su pared, colocando en duda grado de amiloide. No obstante, el patólogo manda a realizar coloraciones especiales porque existe otra sustancia especialmente el colágeno, que parece no son Cromotropa. La presencia de una coloración metacromática nos da el diagnóstico de la amiloidosis.⁽¹⁰⁾.

Hay que indicar que, el uso del método Rojo Congo de Benhold; se caracteriza por que al efectuarse el proceso de tinción, el amiloide se observa con una tonalidad rosa a rojo y verde manzana bajo luz polarizada y a diferencia del Cristal Violetas de Lieb; el amiloide se va a tener de violeta o purpura confirmando eficazmente amiloide . Lo que cierto que ambas formas de tinción permite el despigamiento de esta proteína⁽¹⁰⁾.

Un aspecto que es propicio indicar, son algunas investigaciones relacionadas a esta coloración donde una hizo referencia a la “Amiloidosis Oral nodular”, la cual tuvo como propósito evidenciar la amiloidosis como enfermedad a nivel oral en un estudio de descriptivo, con un diseño campo en la cual la muestra quedo conformada por paciente varón de 57 años que ingresa a consulta por varias lesiones en lengua y labio inferior izquierdo de 2 meses de evolución que le producían importante escozor. Se realizó un total de 3 biopsias, una de labio y dos de las lesiones linguales. Los resultados determinaron que los nódulos amiloideos en la cavidad oral contribuyen a una amiloidosis sistémica que hay que sospecharla ante la aparición de dichos nódulos, donde la tinción más utilizada es la del Rojo Congo y que existen otras técnicas histoquímicas que permiten diferenciar el amiloide de otras sustancias como el Cristal Violeta⁽¹¹⁾.

Esta investigación guarda relación con el presente, ya que busca describir que tanto la coloración del Rojo Congo como el Cristal Violeta permiten evidenciar la existencia del amiloide con mayor eficacia ante la necesidad de un diagnóstico. Son evidentes los aportes, aun cuando la diferencia radica en que ella busca analizar la amiloidosis ante un caso de paciente con antecedentes clínicos,

basándose en las técnicas antes mencionadas. En ésta, su esencia es reflejar cuál de las dos tinciones es más útil para la demostración del amiloide.

Otro estudio se tituló como: “Biopsia de Riñón. Indicaciones y resultados”, donde tuvo como finalidad indagar acerca de la Biopsia de riñon a diferentes pacientes del Hospital Rawson entre ellos Hipertensos, Diabéticos, Síndrome Nefrótico y lupus. Donde concluyeron que la Biopsia Renal es un procedimiento diario que cuando se realiza correctamente suele ser útil y que en algunos de los pacientes puede revelar el estado renal y en otros diagnostica las lesiones renales. Donde la coloración se realizó con Hematoxilina de Harris para estudio general, dando así como objetivo la tinción de Cristal violeta al 0.1 % para la coloración de la sustancia Amiloide, que la demostró en rojo purpura sobre un fondo azulado, resulto una herramienta útil para establecer un diagnóstico correcto y la especificidad de la coloración es decisiva para confirmar los hallazgos de la clínica

(12).

Este antecedente es de suma importancia referencial ya que se adecua en cuanto a la investigación de la Biopsia de Riñón para el diagnóstico de amiloide, buscando la relación mediante la coloración de Hematoxilina para el estudio en general y ante la presencia de amiloide, realizaron un estudio con la coloración de Cristal Violeta dando metacromasia, demostrándola en rojo purpura sobre un fondo azulado. Además, las herramientas y estrategias que ofrecen, sirvieron de guía en el desarrollo de la propuesta de evidenciar cual sería la técnica más adecuada para la demostración de amiloidosis.

CONCLUSIONES

Las técnicas Rogo Congo de Benhold y Cristal Violeta de Lieb se postulan como herramientas útiles para demostrar hallazgos de los depósitos de amiloide. Aun cuando su tonalidad varía dependiendo cuál de las dos sea empleada para la detección de dicha proteína.

Otro aspecto a concluir es que es un material versátil, por el cual no puede ser teñido con métodos básicos rutinarios como la coloración de hematoxilina eosina (H.E) ya que este no demuestra con certeza el grado de amiloide y la manifestación histológica de este colorante solo demuestra una sustancia amorfa (sin núcleos), no dando con certeza el grado de amiloide en el órgano comprometido.

En tal sentido, los estudios consultados sugieren que las técnicas; Rogo Congo de Benhold y Cristal Violeta de Lieb, son los métodos más específicos utilizados en la Histotecnología para demostrar los depósitos de amiloide, y debido a que las dos coloraciones son usadas por el Histotecnólogo, aun cuando algunos prefieren irse por el Rojo Congo y otros por el crista Violeta, en caso de que haya un cumulo muy pequeño de amiloide no se puede visualizar con la tinción de Rojo Congo dado que la birrefringencia no se observa, es por ello que se requiere la tinción de Cristal Violeta que mediante la metacromasia se observa dicha proteína eficazmente, aunque el Rojo Congo es utilizado en investigaciones anteriores para la detección temprana del Alzheimer, no lo hace menos útil, debido a que forma parte de una importante investigación, la cual pasa a ser en la actualidad un problema de mayor grado que avanza cada día y afecta aún más al adulto mayor.

A su vez algunos estudios arrojaron resultados controversiales con otras coloraciones, por lo que se hace necesario continuar investigando y estar atento a otros métodos que también sirvan de uso para evidenciar la amiloidosis y que permitan definir mejor los casos dudosos.

RECOMENDACIONES

Sin embargo se recomienda que en caso sospechoso de amiloide las selecciones de 12 micras puedan ser más beneficiosas para la demostración de pequeños

depósitos de amiloide, sabiendo que ninguna de las dos afecta en cuanto a diagnóstico, ya que las dos son efectivas;

Estas coloraciones nocivas para el ser humano debido a sus componentes, de igual manera son costosas por lo que laboratorios de anatomía patológica con el pasar de los años han dejado de utilizar. La se sugiere que sean empleados con tapa boca, guantes, campanas o extractores a fin de evitar el desarrollo de enfermedades profesionales que comprometan la salud de los profesionales en Histotecnología.

Otro aspecto es, la suma importancia que tienen estas coloraciones para la detección de cualquier enfermedad que requiera dicha tinción, y debido a que algunos laboratorios han dejado de trabajar con ellas por falta de reactivo, siendo uno de los problemas la falta de divisas para poder adquirirlos, el estado debería dotar a los centros asistenciales los insumos suficientes para que no cese la elaboración de estos estudios, de allí que puedan dar un diagnóstico rápido, ante la necesidad del mismo cuando hablamos de la salud de un inmunosuprimido.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Syong h, Pérez J. Afectación sistemática de la amiloidosis en imágenes. Archivo de medicina. [revista de internet]. 2006 [Acceso 13 de julio 2013];2(001):1-7. Disponible en: [Http://archivosdemedicina.com](http://archivosdemedicina.com)
2. Flavio BS. Tamara CD y Marcia JF. Int. J. Morphol [revista de internet]. 2010 [Acceso 20 agosto 2013];28(4):1255-1261. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S071795022010000400043&script=sci_arttext&tlng=e
3. Pozo LY, Rodríguez SL, Becerril B. las amiloidosis humanas: cuando las proteínas muestran su lado oscuro. Mensaje Bioquímico. [revista de internet]. 2008 [Acceso 29 agosto 2013];XXXII:1-16. Disponible en: http://bq.unam.mx/wikidep/uploads/MensajeBioquimico/Mensaje_Bioq08v32p79_94_Becerril.pdf
4. Arroita G, Gorra O, Corcuera J. Amiloidosis renal. Osasunaz. su lado oscuro. Mensaje Bioquímico. 2009;10:7-17.
5. Putschler h, Sudor F, Levine M. unión del rojo congo y amiloide. Journal of histoquímica-citoquímica. 1962;10:355. Disponible en: <http://stainsfile.info/StainsFile/stain/amyloid/directdye.htm>
6. Putschler h, Sudor F, Kuhns J. unión de colorantes directos al algodón y amiloide. Diario de histoquímica-citoquímica. [revista de internet].1964 [Acceso 29 agosto 2013];12:900. Disponible en: <http://stainsfile.info/StainsFile/stain/amyloid/directdye.htm>
7. Putschler h, Sudor F. demostración de amiloides con colorantes directos algodón. Archivo de patología. [revista de internet]. 1965 [Acceso 29 agosto 2013];8:613. Disponible en: <http://stainsfile.info/StainsFile/stain/amyloid/directdye.htm>
8. Carnes WH, Forker BR. Metachromasy de amiloide: un estudio espectrofotométrico con especial referencia a la unión chromotrope. Laboratorio-investigación. 1956;5:21 disponible en: <http://stainsfile.info/StainsFile/stain/amyloid/cvmetachromasia.htm>

9. Lieb E. permanent stain for amyloid. Amer J ClinPathol. 1947;17:413.
10. Montero C. Aspecto histoquímico del amiloide en un caso de amiloidosis secundaria. Rev. Med. Hondur. [revista de internet]. 1969 [Acceso 29 agosto 2013];37(1):1-8. Disponible en:
<http://cidbimena.desastres.hn/RMH/pdf/1969/pdf/Vol37-2-1969-6.pdf>
11. Pérez S, Mancha M, Reina T, Gómez R, Gías N. Amiloidosis Oral Nodular. Rev. EspCirug Oral Maxilofac [revista de internet]. 2008 [Acceso 01 septiembre 2013];30(1):35-40. Disponible en:
http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S113005582008000100005&script=sci_arttext
12. Trabuco O, Carreño RJ, Borzone V. Punción Biopsia de Riñon. Rev Argurol [revista de internet]. 2012 [Acceso 02 septiembre 2013];27(1-3):81-82. Disponible en:
http://scholar.google.es/scholar?q=puncion+de+biposia+de+roñon&btnG=&hl=es&as_sdt=0%2C5