



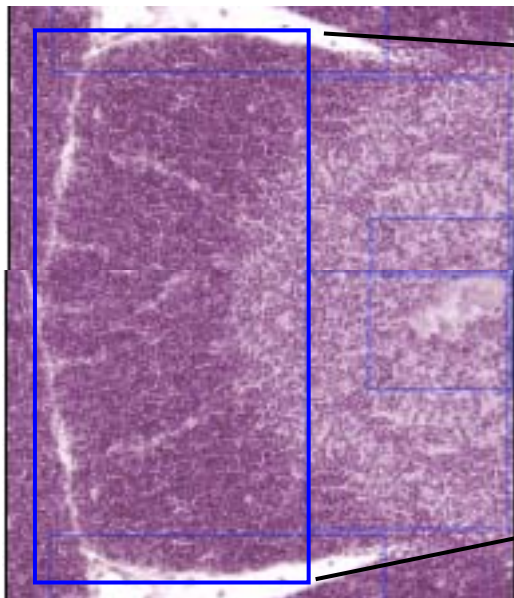
FACULTAT DE VETERINÀRIA DE BARCELONA

LLICENCIATURA VETERINÀRIA
Curs 2007-2008

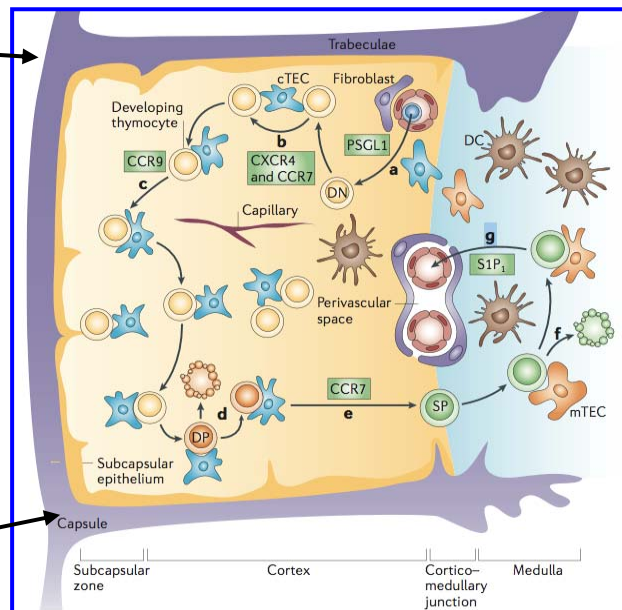
PRÀCTIQUES DE DOCÈNCIA INTEGRADA

HISTOLOGIA / IMMUNOLOGIA

De la Morfologia



a la Funció



Departament de Biologia Cel·lular, Fisiologia i Immunologia
Departament de Medicina i Cirurgia Animals

Professors:

Rosa M. Rabanal
Martí Pumarola

Mercè Martí
José R. Palacio

PRÀCTICA 3 i 4

INTRODUCCIÓ

Els òrgans limfoides es divideixen en dos tipus segons la seva funció:

- primaris: són els òrgans limfoides on es dona lloc la maduració dels limfòcits

TIMUS: on maduren els limfòcits T

MEDULLA ÒSSIA: on maduren els limfòcits B

BURSA DE FABRICI: on maduren els limfòcits B en aus

- secundaris: són els òrgans on s'acumula l'antigen per tal que els limfòcits madurs interaccionin amb aquest i s'iniciï una resposta immune adaptativa

LIMFONODES

MELSA

TONSIL·LES

MALT (*Mucose Associated Lymphoid Tissues*)

BALT (*Bronchial Associated Lymphoid Tissues*)

L'estructura i organització d'un òrgan es pot estudiar en seccions histològiques tenyides amb Hematoxilina/Eosina: aquesta tinció marca en color rosat (eosina) el citoplasma cel·lular i en color blau fosc (hematoxilina) els nuclis. Els limfòcits, al tenir poc citoplasma respecte a la mida del nucli, s'observen pràcticament de color blau. Amb aquest tipus de tinció no es pot analitzar la distribució o localització d'un determinat tipus cel·lular en el tall histològic.

Aquest problema va quedar resolt a partir de l'ús d'anticossos marcats amb diferents enzims reveladors o fluorocroms. La tècnica d'immunohistologia té com a objectiu la detecció, identificació i localització de molècules (marcadors específics), que sovint caracteritzen a una estirp cel·lular, en seccions de teixits, al ser reconegudes per anticossos específics (monoclonals o policlonals). Aquesta unió es visualitza mitjançant una reacció immunohistoquímica enzimàtica (color) o bé amb fluorocroms (fluorescència).

En aquesta pràctica observarem seccions tenyides amb hematoxilina/eosina per recordar la morfologia i aquestes mateixes seccions tenyides amb anticossos monoclonals específics contra molècules de membrana que expressen, de forma exclusiva, els limfòcits T, CD3, i els limfòcits B, CD79. La interacció d'aquests anticossos monoclonals contra CD3 i CD79, sobre el respectiu tall de teixit, s'ha visualitzat fent una segona incubació amb anticossos marcats amb l'enzim peroxidasa, que han reaccionat amb la fracció constant dels anticossos monoclonals usats en la primera incubació. La reacció de l'enzim amb el substrat cromogen produirà un precipitat de color marró en el lloc on està el complex antigen -anticòs.

OBJECTIUS DE LA PRÀCTICA

1. Objectius d'aprenentatge cognitiu

Al finalitzar la pràctica has de ser capaç de:

- Explicar les diferents parts estructurals dels òrgans limfoides primaris i secundaris
- Analitzar la distribució dels diferents elements cel·lulars segons el tipus de tinció H/E que mostren
- Diferenciar la funció dels òrgans limfoides primaris i secundaris estructuralment i funcional
- Explicar els processos funcionals de selecció de limfòcits T a partir de la visualització d'elements estructurals d'un tall histològic de timus
- Analitzar els processos funcionals de selecció de limfòcits B a partir de la visualització d'elements estructurals d'un tall histològic de limfonode com a òrgan representatiu d'òrgan limfoide secundari

2. Objectius d'anàlisi i aplicació

Al finalitzar la pràctica has de ser capaç de:

- Raonar sobre un tall tenyit amb H/E d'un òrgan limfoide quina és la localització de les cèl·lules T i B segons la distribució característica difusa i nodular d'aquestes poblacions cel·lulars i relacionar-ho amb el mecanisme de la resposta immunitària

AVALUACIÓ DE LA PRÀCTICA INTEGRADA

Avaluació de les pràctiques (Integrades Histo-Immuno): S'avaluarà el contingut impartit a la pràctica 30 minuts abans de la seva finalització. Aquesta avaluació constarà de 2 preguntes que tindran una puntuació màxima de 1 punt.

L'entrega del dossier de la pràctica integrada de l'assignatura es farà als professors d'Histologia i serà OPTATIVA. NO PUNTUARÀ per a la nota final de l'assignatura d'Immunologia.

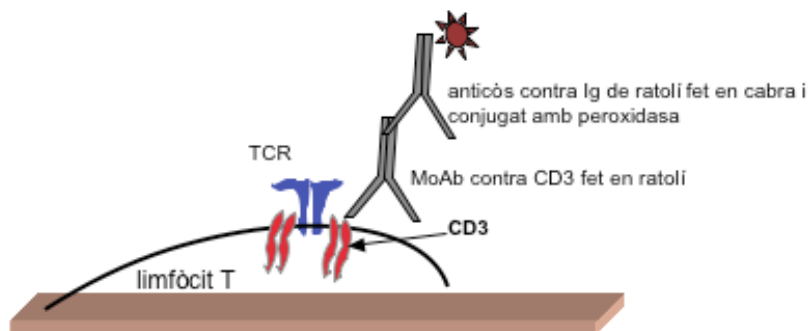
Aquesta pràctica serà OBLIGATORIA per als repetidors.

MATERIAL

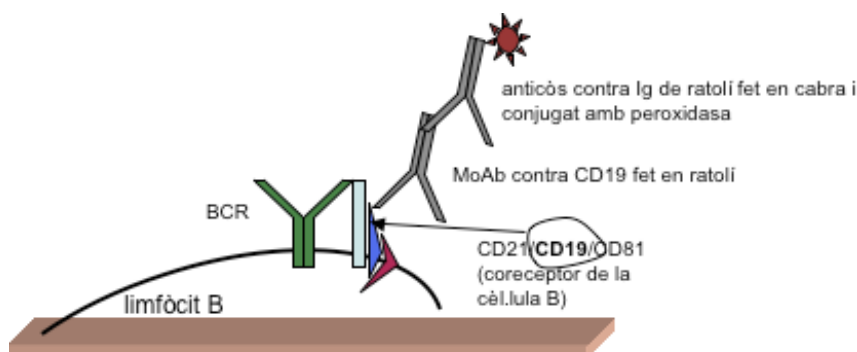
Preparacions de què disposa l'alumne:

1. Timus de gat:
 - Tinció del tall amb hematoxilina/eosina (H/E)
 - Tinció immunohistoquímica (IHQ) amb anticòs policlonal contra les cinc cadenes que formen la molècula de CD3
 - Tinció (IHQ) amb anticòs policlonal contra la molècula de CD79
 - Tinció (IHQ) amb anticòs policlonal contra la molècula de citoqueratina
2. Bursa de Fabrici: tinció hematoxilina/eosina
3. Limfonode de gat:
 - Tinció del tall amb hematoxilina/eosina (H/E)
 - Tinció IHQ amb anticòs policlonal contra les cinc cadenes que formen la molècula de CD3
 - Tinció IHQ amb anticòs policlonal contra la molècula de CD79
4. Melsa de gos: tinció del tall amb hematoxilina/eosina (H/E)
5. Òrgans limfoides associat a mucoses (MALT): tonsil·la palatina. H/E, IHQ anti CD3, IHQ per CD79 i IMH per laminina: detecció de la làmina basal.

Tinció immunohistoquímica per CD3



Tinció immunohistoquímica per CD79



MORFOLOGIA I FUNCIO DELS ÒRGANS LIMFOIDES:

1. Timus. H/E.

- Estroma:
 - .. Càpsula i trabècules.
 - .. Estructura reticular (Cèl·lules epitelials).
- Parènquima:
 - .. Còrtex: limfòcits i macròfags corticals.
 - .. Medul·la: limfòcits i corpuscles de Hassall.

2. Bursa de Fabrici. H/E.

- Epiteli pseudoestratificat.
- Fol·licles limfoides.

3. Limfonode o nòdul limfàtic. H/E.

- Estroma:
 - .. Càpsula i trabècules: teixit conjuntiu dens.
 - .. Estructura reticular: cèl·lules reticulars + fibres de reticulina.
- Parènquima:
 - .. Còrtex: sinus corticals.
fol·licles limfoides i còrtex interfol·licular.
 - .. Paracòrtex
 - .. Medul·la: sinus i cordons medul·lars.
Hili (vasos sanguinis i limfàtics).

4. Melsa. H/E.

- Estroma:
 - .. Càpsula i trabècules.
- Parènquima:
 - .. Polpa blanca: beina limfoide periarteriolar (PALS).
fol·licles limfoides amb arteriola.
 - .. Zona marginal: sinus marginals.
 - .. Polpa vermella: sinusoides venosos.
cordons esplènics o de Billroth.

5. Òrgans limfoides associat a mucoses: tonsil·la palatina. H/E.

- Epiteli de la cavitat oral i criptes tonsil·lars.
- Fol·licles limfoides i teixit limfoide difús.
- Vasos limfàtics

PRÀCTICA 3 i 4. ÒRGANS LIMFOIDES: MORFOLOGIA

1. Timus. H/E. Fixa't amb un lòbul tímic. Observa la diferència de color entre escorça i medul·la. Relaciona el color del marcatge amb el tipus i densitat de les cèl·lules que formen principalment aquestes dues parts.
S'observen vècules d'endoteli alt al timus?

Quines àrees de timus es tenyeixen amb anti-CD3, amb anti-CD79 i amb citoqueratina. Relaciona aquests elements amb la maduració tímica de les cèl·lules T

Quin és el camí que segueixen els timòcits des de que entren com a precursors del moll de l'ós fins a que surten a la circulació? Qins elements estructurals són importants.

2. Bursa de Fabrici. H/E. Dibuixa a x10 aquest òrgan indicant el tipus d'epiteli al qual està associat

3.Limfonode o nòdul limfàtic. H/E.

Observa la preparació 10x. Dibuixa el limfonode representant els components del seu estroma (càpsula i trabècules) i del seu parènquima (còrtex, paracòrtex i medul·la). Localitza els fol·licles limfoides.

Què formen les cèl·lules reticulars i les fibres de reticulina?

Quins elements formen els cordons medul·lars?

Fes un dibuix paral·lel on s'indiqui la distribució de les cèl·lules T i B en el limfonode. Com és un fol·licle secundari?

4. Melsa. H/E. Dibuixa a x10 una àrea de la melsa que inclogui els elements del seu estroma (càpsula i trabècules) i del seu parènquima (polpes blanca i vermella) indicant com es disposen els elements cel·lulars que els formen (PALS, fol·licles, cordons esplènics). Què són els sinusoides esplènics?

5 Òrgans limfoides associat a mucoses (MALT): tonsil·la palatina. H/E. Dibuixa a x4 els elements constitutius de la tonsil·la
Com és l'epiteli de la cavitat oral?
Com s'organitzen les cèl·lules limfoides?

Una de les conclusions a la que has d'arribar en observar a pocs augments les preparacions d'immunohistoquímica és que els òrgans limfoides secundaris en general tenen àrees nodulars riques en cèl·lules B i àrees difoses riques en cèl·lules T.

Analitza si existeix una raó funcional per aquesta distribució.

Un limfonode te més d'un vas aferent però només un vas eferent. Quina relació tindria aquesta disposició anatòmico-estructural amb l'eficiència de la resposta immunitària?.