

Ottimizzazione del metodo di Swiss-rolling per la preparazione e l'analisi istologica del tessuto colico murino

A.A. 2021/2022

Cacciagrano E.¹, Del Fine P.², Lattanzio R.¹

1. C.A.S.T. (Center for Advanced Studies and Technologies), Dipartimento di Scienze mediche, orali e biotecnologiche.
2. Patologia Clinica, ASL 02 Abruzzo.

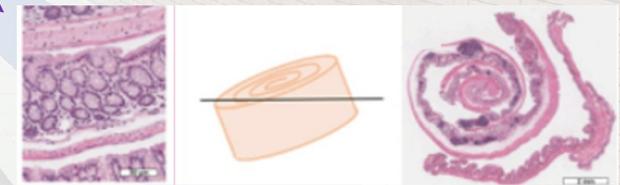
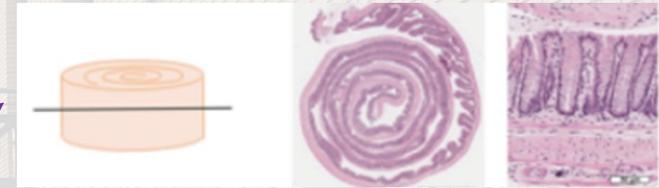
Introduzione

La tecnica di Swiss-rolling consente una valutazione istologica completa dell'intestino e una mucosa ben orientata, con cripte tagliate longitudinalmente. Un orientamento adeguato delle cripte intestinali è fondamentale per la valutazione delle lesioni intestinali dovute a malattie infiammatorie intestinali (IBD) e cancro associato alla colite (CAC).

Con il protocollo di Swiss-rolling precedentemente in uso nel nostro laboratorio, si ottenevano delle sezioni tangenziali delle cripte. Questo risultato era frutto di un orientamento obliquo dell'intestino rispetto al piano di taglio.

Obiettivi

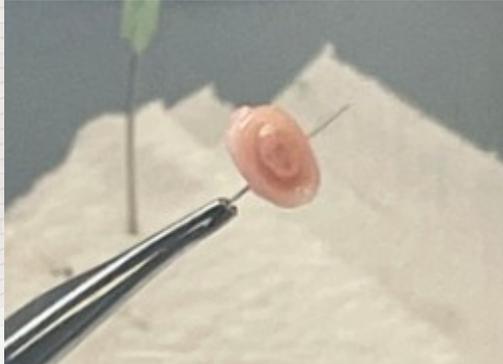
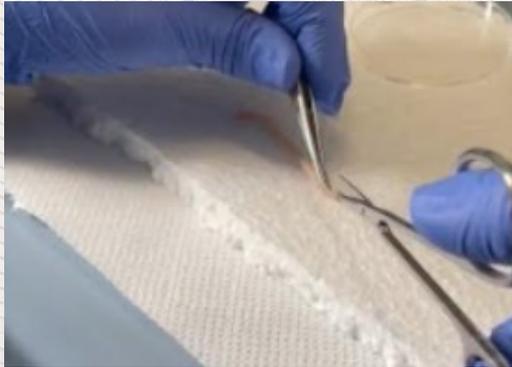
L'obiettivo di questo lavoro è di ottimizzare la tecnica di Swiss-rolling in uso nel nostro laboratorio, la quale non ci consentiva di valutare l'intestino nella sua intera lunghezza e di avere un corretto orientamento tissutale.





Il Convegno Nazionale SITLab
Chieti 10-11 giugno 2023

SITLab - Società Scientifica Italiana dei TSLB



Materiali e Metodi

Sono stati messi a confronto tre protocolli sperimentali con il protocollo standard in uso nel nostro laboratorio. Con il protocollo standard, l'interno del colon veniva pulito con PBS, aperto, arrotolato e fatto adagiare sul fondo di una falcon.

Nel protocollo sperimentale 1 è stata utilizzata formalina tamponata neutra al 10% per prefissare la superficie luminale del tessuto.

Con il protocollo sperimentale 2 l'interno del colon è stato pulito con un fissativo di Bouin modificato (i.e., acido acetico, etanolo).

Questo fissativo è stato utilizzato anche nel protocollo sperimentale 3, questa volta per la prefissazione della superficie luminale.

Gli Swiss-roll realizzati con i tre protocolli sperimentali sono stati fermati con un ago ed hanno subito le fasi di fissazione, processazione ed inclusione. I blocchetti di paraffina sono stati tagliati attraverso l'utilizzo di un microtomo rotativo e le sezioni ottenute sono state poi colorate con una colorazione di Ematossilina/Eosina. Infine i vetrini sono stati scansionati per ottenere delle acquisizioni digitali.

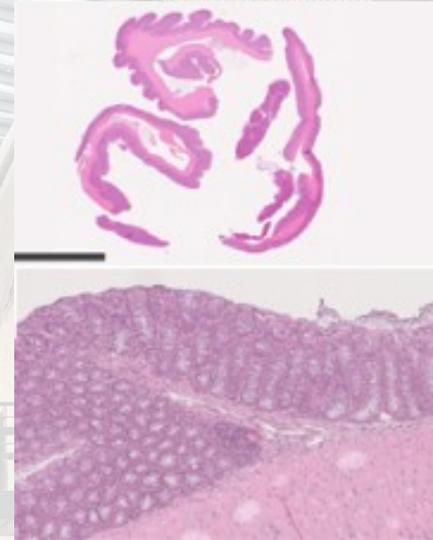
Risultati

Con il protocollo standard, lo Swiss-roll assumeva una forma 'conica' dovuta al fondo della falcon dove veniva adagiato l'intestino.

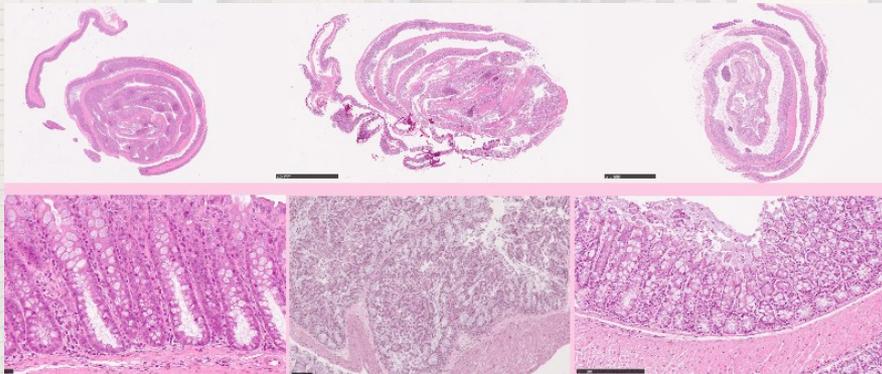
Con il protocollo sperimentale 1 sono stati ottenuti ottimi risultati grazie all'utilizzo della formalina tamponata neutra al 10% per la prefissazione.

Attraverso la prefissazione con il fissativo di Bouin modificato, nel protocollo sperimentale 3, sono stati ottenuti buoni risultati.

Ciò non è stato riscontrato nel protocollo sperimentale 2, in cui questo fissativo è stato utilizzato per il lavaggio dell'interno del colon.



Protocollo standard



Protocollo 1

Protocollo 2

Protocollo 3

Conclusioni

L'ottimizzata procedura sperimentale di Swiss-rolling con prefissazione della superficie luminale con formalina tamponata neutra al 10% garantisce una velocità e una facilità di preparazione degli Swiss-roll notevolmente migliorate. L'utilizzo dell'ago ci consente di fermare lo Swiss-roll e di mantenere un corretto orientamento nelle fasi successive.