

TINCIÓN DE HISTOQUÍMICA DE LÍPIDOS (OIL RED O).

Se utiliza comúnmente para identificar esteatosis hepática y adipocitos. También para la detección de grasas neutras o gránulos de polietileno en tejidos histológicos, en la patología articular, así como en material de muestra citológico.

Las secciones son previamente fijadas con aldehídos, lavados en tampón y crioprotegidas en tampón sacarosa 30%, los cortes se realizan en el criostato.

Protocolo:

1. Atemperar los cortes congelados a RT de 10 min a 2 h.
2. Post-fijación de los cortes: PFA al 4% 10 min a RT.
Lavar con H₂O 5 min.
!!!! Estos dos pasos SOLO hacer si NO HAN SIDO FIJADOS al cortarse!!!! **
3. Lavar con PBS 1X 5 min.
4. Tinción grasa: incubar con la solución de trabajo de Oil Red O durante 15 min.
5. Lavar con PBS 1X 2 min. Repetir este paso.
6. Contratinción de núcleos: Hematoxilina de Carazzi (sin diluir) 2min30seg.
7. Lavar con agua de grifo 2 min. Repetir este paso.
8. Lavar con PBS 1X 2 min.
9. Montaje:
 - a. Montar con glicerol 50% en PBS 1X (no usar medios a base de solventes orgánicos para evitar disolver la grasa).
 - b. Sellar con laca de uñas. Dejar secar O/N.
10. Limpiar con mucho cuidado con EtOH 70%, porque tiene tendencia a moverse el cubre.

Preparación Oil Red O:

- Solución Stock: 0,5g Oil Red O + 100ml Alcohol Isopropílico 99% (2-Propanol). Dejar en agitación O/N.
- Solución de trabajo de Oil Red O: 27ml de la solución de STOCK + 18ml agua destilada. Dejar reposar durante 10 minutos y filtrar con jeringa y filtro de 0.22um.

** El Fijador recomendado es Formalina salina (formaldehído al 10%) o fijador de Baker (formol-calcio) para hacer los fosfolípidos menos solubles. Pero con el PFA 4% nos funciona.

Referencias:

HE Carazzi (Panreac): ref 2.552.981.610

Oil Red O (Sigma-Aldrich): ref O-0625-25G

Resultados:

- ✓ Lípidos (grasas): rojo intenso (Oli Red O).
- ✓ Núcleos: azul-morado (HE).