

**ASIGNATURA: TÉCNICAS DE HISTOPATOLOGÍA.**

Coordinador/es	José García Valero y Gustavo Egea Guri
Profesorado	Mercè Durfort i Coll, Gustavo Egea Guri, José Garcia Valero, Joaquim Majó Masferrer, Juan Francisco Montes Castillo, José Francisco Ramírez Ruiz y Elena Sagristà Mateo

JUSTIFICACIÓN DE LA ASIGNATURA

El avance espectacular en el conocimiento biomédico básico tiene una repercusión inmediata en la caracterización de las disfunciones a nivel molecular, celular y tisular. Este hecho comporta el diseño de herramientas moleculares, la adecuación de los protocolos experimentales y el progreso en la instrumentación científica aplicados a la investigación y el diagnóstico.

Estos conocimientos son necesarios para el postgraduado en Biomedicina tanto en la práctica profesional de la medicina o la farmacia (anatomía patológica, análisis clínicos, métodos diagnósticos y estrategias terapéuticas, entre otras), como en la investigación básica (estudios de doctorado, por ejemplo) y la aplicada (industria farmacéutica, investigación clínica, etc.).

OBJETIVOS

Una vez finalizada la asignatura, el alumno deberá conocer:

- Les bases conceptuales de las técnicas aplicadas al estudio de la histopatología.
- Las estrategias metodológicas aplicadas a la caracterización de los patrones patológicos a nivel molecular, celular y tisular.
- Caracterización a nivel molecular, celular y tisular de diferentes modelos experimentales (in vivo e in vitro) para el estudio de las patologías.
- Las bases conceptuales, funcionamiento, aplicabilidad y resultados del equipamiento de utilización en histopatología.
- Las principales fuentes de información histopatológica.

CONTENIDOS Y TEMARIO**Contenidos y temario de las sesiones presenciales de teoría**

Las sesiones teóricas, con un total de 20 horas, se distribuyen entre 10 temas de información básica y 2 seminarios impartidos por especialistas en metodologías histológicas aplicadas a la patología.

TEMA 1. Procesamiento de muestras

Características del material biológico. Metodologías de obtención de muestras. Estabilización de las muestras: fijación, congelación, inclusión, englobación, matrices titulares (Tissue microarrays). Métodos preparativos: seccionamiento, homogeneización, matrices de crecimiento celular.

TEMA 2. Tinciones topográficas

Estrategias de tinción. Diferenciación óptica de compartimentos celulares y titulares. Aplicaciones.

TEMA 3. Técnicas histoquímicas

Dianas celulares y titulares. Procesamiento de muestras. Métodos para tejidos conjuntivos, amiloide y fibrina. Histoquímica de glúcidos, proteínas y lípidos. Detección de microorganismos. Histoquímica de pigmentos y minerales. Detección de gránulos de neurosecreción.

TEMA 4. Métodos de estudio de sistemas y órganos

Sistema nervioso. Sistema cardiovascular y respiratorio. Sistema urogenital. Sistema endocrino. Aparato digestivo. Piel. Aparato locomotor. Sistema hemopoético y linfoide.

TEMA 5. Técnicas inmune/histoquímicas

Antígenos y anticuerpos. Control de calidad. Preparación de las muestras. Técnicas pre-inclusión. Amplificación y revelado: fluorocromos, enzimas, metales pesados, biotina. Autofluorescencia. Espectro de marcadores fluorescentes. Instrumentación microscópica: de luz visible, de epifluorescencia, confocal, electrónicos de transmisión y rastreo. Citofluorímetro. Artefactos más frecuentes. Interpretación de resultados. Aplicaciones de la microscopía óptica y electrónica en el estudio y diagnóstico de tumores. Marcadores inmunohistoquímicos. Marcaje con otras proteínas de alta afinidad: lectinas, enzimas.

TEMA 6. CR i PCR en tiempo real (RT-PCR)

Fundamentos de amplificación de ADN y RNA. Parámetros que afectan al desarrollo de los protocolos de la técnica PCR. Instrumentación PCR. Interpretación de los resultados. Fundamentos de la técnica RT-PCR. Instrumentación, monitorización, fuentes de error y interpretación de los resultados. RT-PCR competitiva. RT-PCR cuantitativa. RT-PCR semicuantitativa.

TEMA 7. Técnicas de hibridación *in situ*

Fundamentos de las técnicas de hibridación: obtención y uso de sondas, procesamiento de las muestras, detección de productos hibridados. Fuentes de error y interpretación de los resultados. Técnica de hibridación *in situ* (ISH): sondas, protocolos, instrumentación y resultados. Técnica de hibridación *in situ* fluorescente (FISH): sondas, protocolos, instrumentación y resultados. Técnica de PCR *in situ*: sondas, protocolos, instrumentación y resultados. Bancos de datos, software y principales fuentes de comercialización.

TEMA 8. Biochips (Microarrays)

Fundamentos de las técnicas en biochips. Biochips de expresión génica: construcción de las matrices, protocolos e instrumentación y resultados. Biochips de expresión proteica: tipos de matrices, protocolos, instrumentación y resultados.

TEMA 9. Microdissección láser

Fundamentos de la técnica. Tipos de instrumentación. Obtención de las muestras. Protocolos de extracción de proteínas y ácidos nucleicos. Ventajas y limitaciones de la técnica.

TEMA 10. Análisis de imágenes (histomorfometría) y equipamiento básico en Histología y Anatomía Patológica

SEMINARIO 1. A concretar.

SEMINARIO 2. A concretar.

Contenidos y temario de las sesiones presenciales prácticas

Dos sesiones prácticas con un total de 10 horas.

PRÁCTICA 1. Procesamiento de una muestra de tejido por cualquiera de las técnicas descritas en las sesiones teóricas. Posteriormente, tinción topográfica por tejido conjuntivo. Tinción específica por elastina (diagnóstico histopatológico del síndrome de Marfan).

PRÁCTICA 2. Diagnóstico inmunohistoquímico: utilización de anticuerpos poli y monoclonales y marcadores de visualización microscópica más habituales (fluorescencia y HRP).

METODOLOGÍA Y ORGANIZACIÓN DE LA ASIGNATURA

Enseñanza presencial

- **Clases teóricas.** Las clases teóricas, con una duración de 50 minutos por sesión, se impartirán en aulas dotadas de herramientas de protección para poder usar presentaciones, imágenes o vídeo digitalizados como soporte a la transmisión de información presencial.

- **Clases prácticas.** Las sesiones prácticas se llevarán a cabo en el Laboratorio nº 22 de la Facultad de Biología, dotado de la infraestructura necesaria para llevar a cabo los protocolos propuestos, así como los recursos pedagógicos para alcanzar los objetivos propuestos.

Trabajo no presencial

- **Tareas a desarrollar**
 - a. Resolución de caso práctico en grupos de 2 a 4 alumnos autorizados por alguno de los profesores de la asignatura.
 - b. Búsqueda de recursos de información sobre un aspecto específico comprendido en el temario de la asignatura. Esta se realizará de forma individualizada y autorizada por uno de los profesores de la asignatura.
- **Estudio por parte del alumno.** El alumno deberá:
 - a. Preparar con antelación suficiente las sesiones presenciales a partir del material que encontrará a su disposición en el dossier electrónico de la asignatura o aportado directamente por los profesores de la asignatura.
 - b. Preparar las estrategias y metodologías que haya utilizado en tareas no presenciales desarrolladas.

EVALUACIÓN

Criterios de evaluación

Serán evaluados los conocimientos tanto teóricos como prácticos adquiridos. También se evaluará el trabajo no presencial tanto individual como colectivo realizado por los alumnos.

Procedimientos de evaluación

El 60% de la NOTA FINAL corresponderá a la obtenida en la realización de un test de 25 preguntas con respuesta múltiple (4 opciones). Las preguntas contestadas erróneamente no computarán ninguna puntuación negativa. Para superar la asignatura será necesario contestar correctamente 15 preguntas de este test.

El 40% de la NOTA FINAL se obtendrá de la evaluación del trabajo no presencial (resolución de casos prácticos de búsqueda de información).

BIBLIOGRAFÍA

Libros y revisiones

- Bancroft, J. D.; Gambl, M.(2002) Theory and Practice of Histological Techniques. 5th ed. Churchill Livingstone.
- Burgemeister R. (2005) New aspects of laser microdissection in research and routine. J Histochem Cytochem. 53(3): 409-12.
- Dabbs, D.J.. (2002) Diagnostic Immunohistochemistry . 1st ed._Churchill Livingstone.
- Edwards, K., Logan, J.; Saunders, N. (2004) Real-Time Pcr: An Essential Guide. BIOS Scientific Publishers.