

20/189



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

ELABORACION DE MATERIALES DE APOYO
PARA LA ENSEÑANZA DE LA BIOLOGIA
CELULAR A NIVEL DE EDUCACION
MEDIA SUPERIOR

T E S I S

Que para obtener el título de

B I O L O G O

P r e s e n t a

MARIA MAGDALENA DE LA VEGA FUENTES

MEXICO, D. F.

1981



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

R E S U M E N

En este trabajo se elaboraron materiales de apoyo para la enseñanza de la "Biología Celular", a nivel de educación media superior para lo cual los modelos celulares se obtuvieron de células vivas en cultivo de tejidos.

Se revisa y comenta la importancia de los métodos audiovisuales en la enseñanza.

Se describe la importancia de las técnicas de cultivo, de la cinematografía espaciada y el empleo de la microscopía de contraste de fases, de esta manera se obtuvo una película de la célula viva donde se registraron algunas funciones como la pinocitosis, movimientos de membrana y de algunos organoides como el núcleo y mitocondrias.

La observación de los organoides celulares "in vitro" y de algunas de sus funciones por medio de diapositivas y películas, motivarán más al alumno para el entendimiento de la dinámica y estructura celulares.

CONTENIDO

RESUMEN

1.- INTRODUCCION:

- 1.1.- Importancia de los métodos de enseñanza audiovisual.
- 1.2.- Percepción, visión y la ayuda visual.
- 1.3.- Importancia de los métodos de cultivo de tejidos.
- 1.4.- Descripción de la célula viva con microscopio de contraste de fases.

2.- OBJETIVO.

3.- MATERIALES Y METODOS.

- 3.1.- Material biológico.
- 3.2.- Instrumental.
 - 3.2.1.- Elaboración de una cámara de parafina, para la microfilmación .
- 3.3.- Aparatos.

4.- RESULTADOS.

- 4.1.- Fotomicrografia.
- 4.2.- Cinematografia.
 - 4.2.1.- Primera parte: Células en cultivo.
 - I.- Células HeLa.
 - II.- Células ameboides, Leucocitos de ave.
 - 4.2.2.- Segunda parte: Estructura de las células vivas.
 - I.- Mitocondrias. HeLa.
 - II.- Centro celular. Bazo de ajolote.
 - III.- Núcleo. HeLa.

IV.- Nucléolo. HeLa.

4.2.3.- Tercera Parte. Fisiología.

- I.- Movimiento de membrana. Bazo de ajolote.
- II.- Movimiento de mitocondrias. F.L. amnios.
- III.- Rotación de núcleo. Células H.E P. # 2.

5.- LAMINAS.

6.- DISCUSION.

7.- REFERENCIAS.

1.- INTRODUCCION.

1.1. Importancia de los métodos de enseñanza audiovisual.

"El estudio de la ciencia adquiere cada día mayor importancia porque es un medio para comprender por qué los hechos suceden como suceden, además el hombre ha encontrado en la ciencia un procedimiento mediante el cual puede llegar a encontrar respuesta a sus preguntas si las busca en forma sistemática".

"El enorme avance del conocimiento científico y de los medios de divulgación es un antecedente de la necesidad de que las verdades científicas deben ser transmitidas a los diferentes niveles de educación". (36)

La enseñanza de la ciencia no se reduce a la simple transmisión verbal de conocimientos, sino que el profesor puede auxiliarse de medios audiovisuales educativos que despierten el interés al alumno.

En la actualidad el maestro puede disponer de ayudas visuales para un propósito específico. Estos auxiliares visuales educativos deben ser seleccionados y preparados de antemano por el profesor, para que se logren los objetivos que el curso pretenda.

"Se reunen bajo el nombre de técnicas audiovisuales, todos los procedimientos de educación y de información fundados sobre los descubrimientos modernos de reproducción de imágenes y sonidos, más particularmente el cine, la televisión, el magnetófono y la radio". Pierson, (1957). (7).

La comunicación es la producción de señales y símbolos que tiene significado para el espectador.

Con propósitos de educación, el sentido de la visión es el canal de comunicación más altamente desarrollado.

Los auxiliares visuales son muy útiles en la enseñanza debido a que:

- I. Presentan mensajes al sentido más altamente desarrollado.
- II) Concentran el interés y la atención.
- III) Pueden relacionar principios abstractos con objetos concretos.
- IV) Pueden ilustrar claramente las interrelaciones.
- V) Pueden comunicar mensajes difíciles o imposibles de expresar con palabras.
- VI) Pueden prepararse tanto en forma realista como en forma abstracta.

1.2. Percepción, visión y la ayuda visual.

La percepción significa darnos cuenta de lo que nos rodea.

La percepción nos permite discriminar los distintos mensajes enviados a nuestros ojos. Nosotros aceptamos aquellos mensajes que consideramos importantes y rechazamos los que nos parecen triviales.

La percepción es la clave del interés y la atención. No hay dos personas que vean el mismo suceso de manera exactamente igual como se puede demostrar al comparar las relaciones de varios testigos del mismo suceso.

Factores que influyen en nuestra percepción.

A.- Antecedentes del individuo: La experiencia previa del individuo influye en la percepción de tres maneras.

- I) En primer lugar un individuo ignora un estímulo dado hasta que sabe cual significado asignarle.
- II) Cuando carece por completo de significado, el estímulo será pasado por alto.
- III) Si el individuo tiene unicamente un significado parcial o incorrecto de un estímulo, este estímulo será percibido solo a la luz de los significados con que el individuo los asocia.
Cuando se introduce un nuevo estímulo en una ayuda visual educativa es necesario darle un significado mediante experiencias suplementarias.

B.- La forma en que percibimos un estímulo es influida por la satisfacción o insatisfacción que experimentamos la última vez que confrontamos ese estímulo en particular.

Los maestros deben evitar el empleo de ayudas visuales que producen poca o ninguna satisfacción en el estudiante.

La satisfacción que cada estudiante deriva de ayudas visuales previas debe utilizarse como guía, al diseñar los materiales que se usarán en el futuro.

C.- Se debe evitar usar las técnicas visuales que no interesan a los estudiantes debido a su empleo excesivo.

Los diseñadores de materiales visuales deben ser cuidadosos de no caer en el hábito de emplear un solo estilo de visualización.

El estudiante captará mejor los materiales novedosos e interesantes preparados de manera variada, que un material aburrido y rutinario.

Elementos esenciales de la comunicación aplicada a las ayudas educativas.

- I) Los objetivos que la ayuda visual pretende lograr deben ser observables y los medios de evaluación deben estar presentes.
- II) El mensaje debe ser adecuado y capaz de producir el efecto deseado, debe codificarse en señales y símbolos que tengan significado para el receptor.
- III) El mensaje se debe transmitir eficientemente, y este debe ser recibido por su destinatario. La ayuda visual debe superar los problemas físicos de transmisión y debe ser transmitido por estímulos que sean aceptados por la conciencia del individuo.
- IV) Se debe evaluar el sistema de comunicación. El maestro debe utilizar la retrocomunicación procedente del estudiante para estar seguro que la ayuda visual educativa produce el efecto deseado en dicho estudiante.
- V) Se deben enviar mensajes suplementarios para asegurar que se produce la respuesta deseada. (32)

1.3. Importancia de los métodos de cultivo de tejidos.

La obtención de modelos celulares vivos ha sido posible gracias a las técnicas de cultivo de tejidos con la aplicación de la cinematografía espaciada con sistema de contraste de fases.

Las técnicas de cultivo de tejidos fueron establecidas por Harrison (1912), Burrows (1912), Carrel y colaboradores (1912-1922). (22,43).

Los trabajos de Carrel (1912), demostraron sin duda que las células animales podían crecer indefinidamente "in vitro". (42,43).

Unos de los principales logros de la escuela de Carrel fué el rápido crecimiento y división de células durante largos períodos de tiempo. - (42,43).

Warren y Lewis en 1911-1912, llevaron a cabo investigaciones acerca del conocimiento de la naturaleza del medio nutritivo necesario para el crecimiento y supervivencia de células animales en cultivo de tejidos. - (42,43).

En 1928, Strangeways y Fell, dieron un enfoque embriogénico al cultivo de tejidos. Al cultivar pequeños fragmentos de tejidos en un estado lo más cercano a su estado viviente. (43).

En 1947 el grupo de Wilton Earle en el Instituto Nacional de Cáncer en los Estados Unidos, perfeccionaron los actuales métodos de cultivo de tejidos. Este grupo fué el primero en hacer crecer células directamente en vidrio, en preparar cultivos de células aisladas y los primeros en propagar células intencionalmente en suspensión. (42,43).

Un gran grupo en diversos centros siguieron perfeccionando los medios necesarios para un buen crecimiento de las células y a la vez esto trajo como consecuencia el desarrollo de nuevas técnicas de cultivo. White en 1949, 1954, 1957., Pomerat C.M. en 1951., Evans en 1951-1956., Sanford y colaboradores en 1950, 1954, 1956., Morgan en 1950., 1958, Waymonth en 1958.,

Parker en 1950, 1956, 1959, y Eagle en 1955, 1957, 1959, 1962. (9, 42, - 43, 57, 58).

El cultivo de células ha tenido un gran impacto en diferentes disciplinas como en la Virología, Endocrinología, Cancerología, Bioquímica, - etc. (42, 43, 57).

La aplicación de estos métodos en biología celular ha contribuido - a su desarrollo pues por medio de estas técnicas se puede disponer de líneas celulares cultivadas en monocapas lo cual facilita la observación de la morfología celular y de diversos aspectos dinámicos de la célula como la actividad y funcionamiento celular, la entrada y salida de fluidos o - sustancias particulares y todo esto se puede aprovechar para registrarlo fotocinematográficamente. (12)

De las líneas celulares mejor conocidas están las células L (fibro-- blastos de ratón) aislada por Sanford, Earle y Likely en 1951. (42, 51, - 52).

Células H. Ep. # 1, H. Ep. # 2, H. Ep. # 3 (carcinoma epidermoide-- de la laringe establecida por Fjelde, Norryd y Toolan en 1951. (39,56), y las células HeLa, línea celular derivada de un carcinoma cérvico uterino -- humano, establecida por Gey, Caffman y Kubicek en 1951. (2, 13).

González-Ramírez y Col. del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la U.N.A.M., han hecho constantes y cuidadosos estudios en citología to-- mando como modelos celulares a las células HeLa, células F.L. amnios (célu las epitelioides del amnios), células Epitelioides de bazo de ajolote y - células de bazo de conejo. En especial se pueden mencionar diversos estu-- dios sobre fisiología nucleolar. (15, 16, 17, 18, 19, 20).

Trabajos que mencionan las rutinas que se emplean en el laboratorio de citología y que sirvieron como base para la elaboración de este trabajo.

1.4. Descripción de la célula viva con microscopio de contraste de fases.

Las células vivas son entidades dinámicas que cambian y se mueven constantemente, las cuales son susceptibles de estudiarse más fácilmente con microscopio de contraste de fases y de interferencia.

Cuando la célula viva, se halla en el período de interfase, se recurre a este tipo de observaciones identificándose las siguientes estructuras:

Un núcleo claro, que posee uno o más nucléolos y un límite definido con el citoplasma que constituye la membrana nuclear o carioteca. (6, 8).

Cuando las células se van a dividir, el núcleo revela varios cuerpos refringentes o cromosomas. El citoplasma presenta el aspecto de una sustancia amorfa en el cual se encuentran corpúsculos refringentes de diverso tamaño como el condrioma, granos de glicogeno, gotas de grasa, sustancias alimenticias, pigmentos y gránulos de secreción. (6, 8).

En algunas células animales se puede observar el aparato de Golgi, lisosomas y el centro celular; pero esta última estructura se observa más claramente en células en mitosis. (6, 8).

Hay organoides que están por debajo del poder de resolución del microscopio de contraste de fases y sólo pueden observarse con microscopía electrónica.

En este trabajo se describen solo algunas de las estructuras que se

observan con microscopía de contraste de fases: citoplasma, condrioma, -- núcleo, centro celular y membrana plasmática.

Citoplasma

El citoplasma, recibe también el término de hialoplasma (matriz). -- Con frecuencia se denomina a la capa más periférica ectoplasma o corteza, -- de consistencia menos rígida y carente de gránulos, al citoplasma interior se le denomina endoplasma, es de mayor viscosidad y contiene diferentes -- gránulos. (8).

La matriz citoplásmica es una sustancia amorfa, está formada de proteínas, hidratos de carbono, grasas, algunas sales y pequeñas cantidades -- de sustancias orgánicas especiales por ejemplo vitaminas, el componente -- más abundante es el agua, en él se encuentran también corpúsculos refringentes como el condrioma, lisosomas, partículas de diversos tamaños como pigmentos, gránulos de secreción y sustancias alimenticias. (6).

Aspectos y caracteres sobre células vivas en contraste de fases.

En una célula viva la sustancia fundamental o hialoplasma aparece -- como un sistema ópticamente homogéneo que tiene vacuolas, condriosomas, -- lisosomas, gotas lipídicas que se distinguen claramente. (W. Lewis) (6).

Propiedades de la matriz citoplásmica.

En observaciones de protozoarios y células vivas de cultivos de tejidos, la consistencia de la sustancia fundamental del citoplasma es de un líquido gelatinoso.

En los trabajos de Fauré-Frémiet, A. Mayer y Schaffer, lo describen como un estado físico especial que ellos califican de hidrogel fluido. - Un hidrogel particular muy rico en agua sin embargo no miscible en ésta. (6).

Esta concepción da cuenta de sus propiedades generales, como la imbibición, la elasticidad, la coagulación. (6).

La viscosidad es relativamente cambiante, según el estado funcional - de las células y por el efecto de sustancias químicas. (6).

Las transformaciones de sol a gel, cambios en viscosidad, el movimiento intracelular (ciclosis, movimiento ameboide) la formación del huso y la división se realizan en la matriz citoplásmica. (6).

Se han podido adquirir diversas informaciones sobre los caracteres - de la sustancia fundamental, es posible desde luego que esta no sea idéntica en todas las células pero se puede pensar que posee caracteres semejantes en la generalidad de las células exceptuando en células que son muy diferenciadas. (8).

Mitocondrias.

Lehninger (1964), nos proporciona algunos datos históricos. No es - posible especificar quien descubrió las mitocondrias como organoides característicos del citoplasma. Sin embargo, en los años de 1850-1890, muchos - citólogos observaron elementos granulares e inclusiones en el citoplasma - de diferentes células, algunos eran sin duda artefactos a los cuales se -- les asignó diferentes nombres y funciones. (31).

Kblliker en 1850, mencionó y describió gránulos en el sarcoplasma de músculo estriado. En 1880 Fleming reconoció estructuras filamentosas - características del citoplasma. Retzius en 1890, llamó a estas estructuras gránulos o "sarcomas". (31).

En 1890 Altmann, con técnicas específicas observó estos gránulos y - las describió como estructuras autónomas elementales vivas., a los cuales llamó bioblastos., intuyó también la relación de estas estructuras en las oxidaciones celulares. Benda (1898), denominó a estos gránulos como mitocondrias., Michaelis, en particular observó a las mitocondrias en células - vivas, realizando reacciones de óxido reducción. Lewis y Lewis en 1914, estudiaron la relación de la mitocondria en células vivas en cultivo de te jidos y observaron los cambios que sufren en tamaño, forma y localización. (31).

En 1934, Bensley y Hoerr aislaron por primera vez mitocondrias hepáticas, lo cual hizo posible el estudio directo por métodos bioquímicos. (31).

La demostración final del papel de las mitocondrias en la respiración celular fue realizada por Hogeboon y Col. en 1948. (31).

Las mitocondrias son parte esencial de la célula y se encuentran durante toda la vida celular en los animales y vegetales, son de importancia primordial para el metabolismo, gracias a su riqueza en enzimas se les - considera los centros de la respiración celular y de la fosforilación oxi dativa. (6).

Caracteres Generales.

Observaciones en células vivas.

Aunque el examen de las mitocondrias en las células vivas ofrece ciertas dificultades a causa de su bajo índice de refracción, pueden observarse fácilmente en células cultivadas "in vitro", en especial en campo obscuro y con contraste de fases. (6).

La observación en vivo es de particular interés cuando se complementa con cinematografía, lo cual nos permite analizar su comportamiento de una manera profunda. (6).

I. Morfología.

En condiciones habituales las mitocondrias de células cultivadas "in vitro" o aisladas por centrifugación fraccionada son en general opacas y no muestran estructura. (6).

La forma de la mitocondria es variable, pero en general se presentan en forma de filamentos delgados, granos o de bastoncillos; su conjunto es llamado condrioma. (Lewis, Levi, Ralph, Pomerat, Zollinger, Chévremont, Gey, etc.). (6).

El cuerpo de este organoide recibe el nombre de condriosoma o de mitocondria. (6).

II. Tamaño.

Su longitud es variable de 0, 2 micras a 8 micras o más, el ancho permanece relativamente constante alrededor de 0, 5 micras. (6).

La cinematografía microscópica hace resaltar hechos como el movimiento y el comportamiento. Canti (1928), Fell y Hughes (1949), Frederic y Chévremont (1951) (6).

Las mitocondrias se desplazan, se deforman, se ramifican o forman agrupaciones temporales que pueden desaparecer y formarse de nuevo, a partir de componentes más simples, invisibles a la escala microscópica. (6).

En las células sin actividad glandular se pueden ver diversas formas de movimiento en serpentina, oscilatorios, de torción y circulares, con cambios continuos de forma con o sin modificación aparente de volumen, presentan acortamientos o por el contrario alargamientos. Pueden también cambiar de volumen además pueden fragmentarse en bastoncillos muy cortos o al contrario los bastoncillos pueden agruparse para formar especies de ramas. (6).

En ciertas células una o muchas mitocondrias filamentosas pueden todas, estando en buen estado presentar un aspecto de rosario. (6).

Gracias a las numerosas observaciones de células cultivadas "in vitro", Levi propuso que existe dependencia entre la actividad celular y la forma de este organoide. (6).

IV. Localización.

La localización y orientación de la mitocondria es diferente en los distintos tipos celulares. Cowdry en 1918, observó en células tubulares de riñón que estas estructuras se disponen en dirección de sitios activos de secreción. También se pueden encontrar alrededor del núcleo o cerca de un sustrato determinado, como en células acinares pancreáticas de animales en ayuno, las mitocondrias se acumulan alrededor de gotas lipídicas forman

do una cubierta. (31).

En células en mitosis, se agrupan cerca del huso, y al dividirse la célula se distribuyen en cantidad aproximadamente igual entre las células hijas. (6).

La localización de esta estructura en el citoplasma debe ser considerada en relación con su función de provisión de energía.

Se encuentran frecuentemente en sitios del citoplasma, en donde se sabe que el ATP es requerido, como en las miofibrillas de músculo, es muy clara su localización pues frecuentemente están en contacto con la porción contráctil. (31).

En células exocrinas de páncreas, las cuales sintetizan y secretan enzimas digestivas, las mitocondrias están íntimamente asociadas a la superficie del retículo endoplásmico, ellas proveen el ATP para todos los procesos metabólicos. (31).

V. Número.

Es difícil establecer el número de mitocondrias por célula, en general varía con el tipo celular y el estado funcional. (8).

En hepatocitos de rata se ha reportado de 500 a 2500 mitocondrias, las células del tubo renal de mamíferos contienen 300 mitocondrias. En células espermáticas de 20 a 24 por célula. (31).

Andressen, encontró 500 000 en la ameba Chaos Chaos. (31). Se ha reportado que en hepatocitos de tejido canceroso, disminuye el número de mitocondrias se plantea que esta disminución se debe al aumento de la glucólisis anaerobia y a la disminución de la fosforilación oxidativa. (8).

VI. Composición química.

El uso de la centrifugación fraccionada, así como del análisis bioquímico ha demostrado, que esta estructura está formada por proteínas, lípidos, vitaminas, ARN y enzimas. (8, 6).

VII. Diversas categorías de mitocondrias.

Desde hace mucho tiempo las observaciones citológicas han mostrado que las mitocondrias no son idénticas en los diferentes tipos celulares, por ejemplo, las mitocondrias de los fibroblastos no son idénticas a las de las células hepáticas o como en tubos contorneados del riñón o en las de la retina. (6).

Las células que participan en funciones celulares generales y en el metabolismo contienen particularmente las enzimas que intervienen en el ciclo de Krebs. Otras mitocondrias al contrario son especializadas, tienen una composición, una función y una morfología en relación con la especialización de la célula donde se encuentra. (6).

VIII. Relación de la mitocondria con el núcleo.

El uso de la cinematografía microscópica en células vivas, ha mostrado que las mitocondrias se reúnen alrededor del núcleo por uno o muchos puntos de contacto, lo cual sugiere que hay un intercambio de sustancias entre núcleo y estas estructuras, o el paso directo de sustancias del núcleo a estos organoides. (6).

IX. Funciones de las mitocondrias.

Son los sitios del metabolismo aeróbico de los carbohidratos, lípidos y proteínas para producir moléculas de ATP, ricas en energía, liberando --

CO_2 y H_2O como productos de deshecho. Esta energía es empleada por la célula en el desempeño de sus actividades como el crecimiento, reproducción, transporte de sustancias, movimiento, etc. (31).

Lehninger demostró que las mitocondrias de las células animales constituyen el sitio exclusivo para la fosforilación oxidativa, el ciclo del ácido tricarboxílico y la oxidación de los ácidos grasos. (31).

Núcleo.

El núcleo es una de las partes fundamentales de la célula y difiere del citoplasma que lo contiene por su estructura y composición química. (6).

La estructura de este organoide celular ha sido objeto de numerosos trabajos de los cuales mencionaremos algunos al ir describiendo esta estructura. (6).

En 1833, Brown lo describe como una "vesícula transparente". Mieschers et al. (1897), hacen los primeros trabajos sobre aislamiento de núcleo, descubriendo los ácidos nucleicos en esperma de salmón y en células de pus. (37).

En experiencias de microdissección, Chambers (1917), describe al núcleo como un gel elástico y viscoso. Con Behrens es cuando realmente se pone todo el esfuerzo, para separar los componentes nucleares de la célula y las fracciones citoplásmicas (1932-1938). Llegando a las demostraciones citológicas de los ácidos nucleicos y del azúcar desoxirribosa hecha por Feulgen en 1924. (37).

El análisis químico, también ha sido campo de estudio por un gran nú-

mero de investigadores en diferentes laboratorios, pero no corresponde en este tipo de trabajo describir este tipo de estudios.

Caracteres generales del núcleo.

I) Morfología.-

La forma del núcleo, está relacionada a veces con la forma de la célula, si la célula es esférica, cúbica o poliédrica generalmente el núcleo es esférico, en células cilíndricas, prismáticas y fusiformes tiende a ser elíptico, en granulocitos y espermatozoides, el núcleo es de forma irregular.

Cuando las células se desplazan, es posible que se deforme a menudo, presenta, superficies curvo convexas o una hendidura estrecha (núcleo hendido) (6)

II) Tamaño.-

El núcleo en general ocupa cerca de la cuarta parte de la célula, habiéndose señalado una relación núcleo citoplásmica Jacoby (1925-1935), Collin y Florentin (1930), Hughes (1952). El tamaño depende del número de cromosomas que contiene, sin embargo puede haber excepciones en tejidos, donde el tamaño de las células y de sus núcleos pueden variar en proporciones notables como en neuronas y células musculares. (6)

Las diferencias de tamaño nuclear se atribuye a varios factores, divisiones anormales y estado funcional de las células que forman un tejido determinado Hintzsche y Col. (1936-1952). (6)

III) Volumen.

El volumen del núcleo está en relación con uno de sus constituyentes en particular con la cantidad de ácido desoxirribonucleico y entre otras, proteínas y agua. (6)

IV.- Situación.

Se encuentra siempre rodeado por el citoplasma, puede estar situado en el centro geométrico de la célula o estar relegado en otra parte de ella por los productos que se acumulan en el citoplasma (productos de secreción, grasas, etc.) (6)

En las células glandulares se ha visto que el núcleo, aumenta ligeramente de volumen, y se desplaza hacia la zona donde la actividad y elaboración son más activas. (6)

V.- Número.

Normalmente cada célula contiene un núcleo único, pero a veces se puede encontrar dos en algunas células, como en las de hígado y las del epitelio urinario. Algunas otras células poseen varios núcleos como por ejemplo los osteoclastos, los megacariocitos de la médula ósea y en las fibras musculares estriadas se pueden encontrar varias centenas. Con excepción de los glóbulos rojos de mamíferos que carecen de núcleo.

VI.- Citoquímica.

Los núcleos de las células animales encierran ácido desoxirribonucleico (ADN), ácido ribonucleico (ARN), histonas, protaminas, lípidos, sustancias inorgánicas. Se han identificado algunas enzimas como la fosfatasa, 5 nucleotidasa, arginasa, etc. (6)

VII.- Rotación nuclear.

En ciertas células epiteliales cultivadas "in vitro", el núcleo puede mostrar movimientos de rotación sobre su lugar (6, 46, 47, 48, 59).

VIII.- Relación entre núcleo y citoplasma.

El núcleo y el citoplasma, tienen relaciones morfológicas y metabólicas. Se han hecho experimentos para ver la relación núcleo-citoplasma, estas experiencias han sido llevadas a cabo sobre todo en células voluminosas tales

como amibas, huevos, ovocitos, etc. (6)

El núcleo aislado del citoplasma se altera rápidamente y muere. (6).

Prescott y Mazia (1954), describen que los fragmentos citoplásmicos - anucleados pero de un tamaño suficientemente grande pueden sobrevivir durante un cierto tiempo, por ejemplo en amibas se observa que continúa la respiración y la permeabilidad del agua pesada es constante. (6).

Fragmentos citoplásmicos anucleados con un volumen grande y que contiene condriosomas pueden ser capaces durante un cierto tiempo moverse. (6):

En ausencia del núcleo, la supervivencia del citoplasma es sin embargo limitada y más tarde presentan diversas alteraciones en el metabolismo. El ARN disminuye, la síntesis de proteínas se realiza más rápido y el citoplasma privado del núcleo termina por degenerarse. (6).

Estructura del núcleo interfásico en células somáticas vivas, vistas en microscopía de contraste de fases.

Cuando se examina la constitución del núcleo en el período de interfase en diversas células vivas en cultivo, este organoide presenta un aspecto de uniformidad; en él se puede observar el nucléolo, la cromatina, el jugo nuclear o nucleoplasma y la membrana nuclear. (6).

Descripción de las diferentes estructuras que forman el núcleo.

Nucléolo.

I. Forma y volumen. En el núcleo de células somáticas vivas, los ele-

mentos más visibles son los nucléolos, su aspecto es de un corpúsculo opaco esférico u ovoide y de volumen variable y sin membrana en su superficie (6)

II.- Número.

Generalmente se observa en el núcleo uno o dos nucléolos, raramente tres. (6, 27)

Este organoide presenta a menudo un aspecto heterogéneo, formado de zonas compactas que alternan irregularmente con zonas más transparentes (vacuolas nucleolares) (17).

Estable y Col., en 1950 (6), 1954-1966 (10,11), describieron una estructura fina y filamentosa, "nucleolonema", localizada en el nucléolo de células ganglionares y de espermatozoides "en vivo", pero ha sido discutida por diversos autores como Lettré, en 1951-1954 (28); González-Ramírez en 1961 (15); Lettré y Col., en 1966 (29), quienes consideran que esta estructura solamente es el producto de artefactos de las diversas técnicas empleadas.

En nucléolos grandes pueden observarse algunos gránulos Feulgen positivos en porciones de los cromosomas (organizador nucleolar) que penetran en el nucléolo (8, 44)

Se han observado masas de cromatina redondeadas que presentan el aspecto de nucléolos y son nombrados falsos nucléolos (cariosomas), son coloreables como la cromatina (6).

III.- Citoquímica.

Los componentes químicos del nucléolo son el ARN, histonas, fosfoproteínas, fosfatasa alcalina, ARN polimerasa, NAD pirofosforilasa, ARNasa (enzimas), R.O.T.S. y Col., en 1964 (50), Siebert y Col. en 1966 (54).

La presencia de estas enzimas en el nucléolo es definitiva pero el papel de tales enzimas en la función nucleolar es todavía un misterio.

"En algunos estados en los cuales hay un incremento de biosíntesis de ARN nucleolar. La cantidad de estas enzimas en el nucléolo aumenta considerablemente, por ejemplo en el hígado en regeneración, en el hígado fetal y en el hígado tratado con tioacetamida". Bush y Col. 1970 (4).

IV.- Cambios en el Nucléolo.

En cinematografía espaciada se ha visto que es una estructura rílica - que puede moldearse y reformarse por los cambios de los pliegues nucleares, González-Ramírez (15, 16, 17), Bush y Col. (48).

Los mismos investigadores, también observaron fenómenos secretorios. - En microscopía de campo oscuro, se observaron algunas gotas que salen del nucléolo a través de un pequeño tracto y desaparecen abruptamente, en las secuencias proyectadas, ellas aparecen como contracciones abruptas. Estas gotas que se observan en el nucléolo, reciben el nombre de vacuolas nucleolares. (48)

Con base en investigaciones citoquímicas de las vacuolas nucleolares en células cultivadas de bazo de ajolote, la hipótesis que propone G.R. es: Las vacuolas nucleolares representan productos de genes nucleolares activos. (17)

V.- Función.

Se ha demostrado fehacientemente que el nucléolo interviene en la biogénesis de los ribosomas citoplasmáticos (27, 44).

Jugo nuclear.

Es llamado también cariolinfa o nucleoplasma, es un líquido, donde se encuentra dispersa la cromatina (ácido desoxirribonucleico), entre otras - substancias se encuentran también protefmas (enzimas), gránulos del tipo - de las ribonucleo-protefmas y metabolitos que están en tránsito entre nú- cleo y citoplasma, Chévremont (6), González-Ramírez, com. pers.

Granos de Cromatina.

El núcleo en la célula viva, encierra numerosos gránulos de diversos tamaños, algunos son pequeños y otros son más grandes y gruesos se les de- nomina también cromocentros, están distribuidos en todo el núcleo. Después de la fijación y coloración presentan el aspecto de granos o bloques irre- gulares intensamente teñidos por los colorantes básicos. En algunas célu- las, esta cromatina presenta el aspecto de polvo o de grumos, en casos es- peciales la cromatina tiende a localizarse adherida a la membrana nuclear. (6).

Membrana nuclear.

En microscopía de contraste de fases la membrana nuclear es bien visi- ble, tiene el aspecto de un ribete oscuro, delimitando al núcleo, a veces cambia el aspecto de este límite celular, su espesor aparece ligeramente - desigual. (6)

Puede modificarse localmente en relación con los condriosomas. (6)

En relación con la citoquímica, se considera que la envoltura nuclear, tiene la misma estructura básica de la membrana plasmática (lipoproteica).

Es importante destacar que la permeabilidad de esta estructura varía en los diferentes tipos celulares y también en cada célula durante el ciclo de división (6).

Centro celular.

Historia.

El centro celular también llamado esfera atractiva fué descubierto por Van Beneden (en 1876) y lo describe como un corpúsculo polar, Boveri (en 1887), lo define como granulaciones centrales o centriolos. (3, 34).

El corpúsculo polar ha recibido muchos otros nombres "corpúsculo central", "centro de división", "cuerpo central", "centríolo", "centro celular" etc. Estos términos no son equivalentes exactos, ya que hay variación en la estructura. (3, 34).

Wilson (1925), señala variaciones morfológicas fundamentales, pero define un patrón general, que recibe el nombre de centrósfera el cual, contiene uno o más centriolos pequeños (3, 34).

I. Estructura.

Esta estructura se encuentra en la mayoría de las células animales y tienen una manifestación más clara estructural y morfológicamente hablando, durante la mitosis. En células en mitosis se observa como una condensación citoplásmica esférica, alrededor de ella, la substancia fundamental del citoplasma toma un aspecto radiado particular. (6).

En su parte central se encuentra constituido por uno o dos corpúsculos muy pequeños llamados centriolos, el centriolo está inmediatamente envuelto

por una zona pequeña de citoplasma el centrosoma (o microcentro), cuando hay dos centriolos ellos están situados uno junto al otro y envueltos por un centrosoma único. Hacia fuera del centrosoma, se distingue una zona más grande, llamada centrófera o esfera atractiva. (6)

La periferia del centro celular está ocupada por la astrófera o áster constituida por filamentos lisos muy finos o ligeramente nodulosos que se disponen radialmente en relación a la centrófera, a veces la centrófera no está bien individualizada y se continúa con los rayos de la astrófera. En el período de interfase, el centro celular en la mayoría de las células es poco visible, se encuentra situado con mayor frecuencia cerca del núcleo. Su constitución es muy variable, en fibras musculares estriadas, células óseas, células endoteliales, células epidérmicas y algunas células glandulares (Verne, 1942), puede estar representado solamente por el centrosoma. (6)

La astrófera se ve raramente en células en el período de interfase, pero en leucocitos de salamandra tienen un desarrollo excepcional (M. Heidenhain) (6).

En células en donde las divisiones se suceden rápidamente, por ejemplo en cultivo de tejidos, en el período de interfase el centro celular está bien representado, con el centriolo, centrosoma y centrófera bien reconocibles. (6)

El número de centriolos no es siempre constante para un tipo celular, pero generalmente suelen presentarse en pares, estos elementos son esféricos puntiformes y están al límite de la visibilidad miden 0,2 o 0,8 micras. (Levi) (6).

II. Observaciones en células vivas.

Se han descrito muy pocos casos de observación del centro celular en células vivas en microscopía de contraste de fases.

En observaciones de células vivas en mitosis, el centrosoma es más viscoso que el citoplasma vecino. En los leucocitos de batracios y de humanos; Policard y Col. en 1955 (45), Bessis y Col. en 1957 (1), describieron el centrosoma como una formación densa y a partir de sus bordes ligeros se observaron corrientes que van y vienen al citoplasma vecino con movimientos oscilatorios. (1,45)

III. Citoquímica.

Se conoce poco de la química del centríolo, todavía no ha sido posible aislarlo en forma bastante pura para su estudio bioquímico. Además su mecanismo de formación puede variar de una célula a otra. A pesar de los obstáculos para su estudio, se han logrado ciertos adelantos; se han identificado algunas proteínas (tubulinas), y también se ha identificado ADN en un ciliado Tetrahymena piriformes algunos piensan que existe también ARN, todavía falta mucho por estudiar acerca de esta estructura celular. (8,55).

IV. Función.

La significación funcional del centro celular es todavía oscura aunque se sabe que los centríolos intervienen en la división celular, además es importante hacer notar que existe una "homología" entre los cinetosomas (cuerpos basales de los cilios y flagelos) y los centríolos.

Esta "homología" ha sido confirmada con el microscopio electrónico. Se ha observado en algunas células que un centríolo podía llevar un cilio

y al mismo tiempo intervenir en la mitosis. (6, 8).

Membrana celular.

Todas las células están rodeadas en su superficie externa por una capa citoplásmica, especializada que recibe el nombre de membrana celular, es una estructura tan delgada que no puede ser observada con el microscopio óptico. (6, 8).

En la observación de células vivas en contraste de fases, la membrana celular se ve perfectamente bien por la diferencia de refracción que rodea a la célula, González-Ramírez, com. pers.

I) Propiedades físicas.

Esta estructura, limita al citoplasma celular pero su función más importante es controlar la entrada y salida de agua, iones y otros materiales químicos, en la célula a esta propiedad se le denomina permeabilidad. (33)

La membrana celular, además de ser permeable, es elástica, plástica, tiene alta resistencia eléctrica y tensión superficial baja para poder explicar estas propiedades, Davson y Danielli en 1952, propusieron que esta estructura está formada por una doble capa de lípidos dispuestos perpendicularmente sobre la superficie y en medio de estas dos capas se encuentra una fina capa protéica situada en forma asimétrica. (6,38).

II) Naturaleza química de la membrana.

Se han hecho numerosas investigaciones sobre la estructura química de la membrana.

Overton en 1902, planteó la hipótesis que la membrana está formada por lípidos. (35).

Gorter y Grendell en 1925, dan las primeras ideas sobre la organización molecular y sugieren que la membrana, está formada por una doble capa de lípidos (35).

Posteriormente Davson y Danielli en 1952, sugieren la distribución de las proteínas en la bicapa lipídica ya expuesto anteriormente (6,35,38).

Los estudios más avanzados de la membrana se han logrado con microscopía electrónica, de polarización y difracción de rayos X, gracias a los cuales Singer y Nicolson en 1972, dieron a conocer uno de los modelos más aceptados actualmente, el modelo del mosaico fluido (53).

Se han propuesto varios modelos de estructura molecular para explicar las propiedades de la membrana, pero a pesar de las numerosas investigaciones realizadas, su estructura aún se muestra confusa.

En resumen podemos concluir que de la información obtenida con glóbulos rojos maduros de mamíferos, células de hígado de rata, amibas y de la vaina de mielina de ciertas células nerviosas, se encontró que la membrana celular está formada fundamentalmente por lípidos, proteínas y carbohidratos. (8,33, 49).

III) Tamaño.

Ciertas técnicas han revelado que la membrana celular o plasmática, tiene un espesor aproximado de 75 Å a 100 Å, aunque este dato varía en los distintos tipos celulares, inclusive con el estado fisiológico. (38,49).

IV) Mecanismos de transporte de sustancias a través de la membrana plasmática.

Hay varios mecanismos que explican el transporte de sustancias químicas

cas a través de la membrana, pero solo se explicará uno: la pinocitosis, proceso que se registró fotocinematográficamente en células cultivadas.

V. Pinocitosis.

Este fenómeno fué descubierto por Warren Lewis en 1931 en células cultivadas. La palabra pinocitosis deriva (del griego *pinēn*-beber), este término fué acuñado por este científico y significa proceso mediante el cual la célula ingiere activamente líquidos. (30)

Lewis describe que esta función es dependiente de la presencia de membranas ondulantes, estructuras que mediante movimientos ondulatorios, encierran gotas de fluidos formando pequeñas vacuolas o vesículas, llevándolas de esta manera del exterior al interior de la célula, este proceso se ha visto en gran variedad de células en cultivo de tejidos, sobre todo en células de tipo ameboide. (30).

Mast y Doyle (1934) observaron también la ingestión de gotas por amibas (Amoeba proteus), colocadas estas en soluciones de proteínas y sales, sugiriendo que este fenómeno era similar al descrito por Lewis. Sin embargo en amibas no hay membranas ondulantes, sino que el proceso se realiza por medio de canales muy finos que se forman en el interior de los pseudópodos, comunicando el exterior con el interior de la célula, al final de cada canal, se forman pequeñas vacuolitas que contienen los líquidos. (5, 24).

En 1952 Holter y Marshall del laboratorio Carlsberg, siguieron este proceso en amibas (Chaos chaos), usando proteínas marcadas con fluoresceína y observando su desarrollo mediante el microscopio de fluorescencia; llegando a la conclusión que este proceso solo se realiza, si las células están -

colocadas en soluciones, que contengan aminoácidos, proteínas y algunos iones (5, 25)

Chapman-Andressen y Prescott (1956). Observaron también la formación de canales en amibas y los describen como cavidades alimenticias en forma de copa. (24)

2.- OBJETIVO

El objetivo de este trabajo, es el de elaborar materiales de apoyo -- para la enseñanza de la "Biología Celular", a nivel de Educación Media Superior, con el fin de facilitar la comprensión de la estructura y dinámica celulares.

3.- MATERIALES Y METODOS.

3.1. Material biológico, se utilizaron células ameboides o leucocitos de ave Gallus domesticus; células en cultivo: células HeLa, H. Ep. # 2, F.L. amnios, células de bazo de ajolote, Ambystoma mexicanum y de bazo de conejo, Lepus cuniculus.

Para la obtención de estas células con excepción de las células sanguíneas se siguieron los métodos de cultivo señalados en artículos anteriores por (González-Ramírez y Col.,) (17, 18)

Para la observación de células ameboides se tomó sangre heparinizada de ave y se hizo una preparación entre lámina y laminilla manteniéndose a 37° C.

Para la microfilmación de estas células se elaboraron cámaras de para fina las cuales contenían medio de Eagle (43) para el mantenimiento en -

buenas condiciones de estas células.

3.2. Instrumental.

3.2.1. Elaboración de una cámara de parafina para la microfilmación.

Materiales:

- 1.- Portaobjetos.
- 2.- Bandas de vidrio (7 x 45 mm).
- 3.- Pinzas de punta fina recta.
- 4.- Varilla de vidrio.
- 5.- Pincel.
- 6.- Parafina.
- 7.- Algodón.
- 8.- Medio de Eagle a 37° C.
- 9.- Tubos Leighton con cultivos de células HeLa, y todos los tipos celulares que se mencionaron antes. (parte 2.1)

Técnica:

- 1.- Se montaron 2 bandas de vidrio paralelas, con parafina caliente en un portaobjetos común, formando una pequeña canal que mide 8 mm. de ancho. (fig. 1)
- 2.- En la canal se depositó medio de Eagle con pipete Pasteur (fig. 2)
- 3.- Se mantuvieron preparados tubos de Leighton con los cultivos de células. (fig. 3)
- 4.- Se extrajeron las laminillas que contenían células con una varilla de

vidrio hasta un poco más de la mitad del tubo y de ahí con la ayuda - de pinzas se terminaron de sacar. (fig. 4)

5.- Se colocó la laminilla encima de la canal del portaobjetos, la región que hacía contacto con la canal fué la que tuvo crecimiento celular. (fig. 5)

6.- Se sellaron los bordes de la cámara con parafina caliente, la cual se aplicó con pincel. (fig. 6)

7.- Ya preparada la cámara se llevó a un microscopio con termostato y cámara fotográfica adaptada para la observación y toma de películas.

3.3. Aparatos.

1.- Microcine de Zeiss (Tipo TKW 110-140/6-4 rod)

2.- Cámara de cine de 16 mm. (Bolex)

3.- Ultraphot de Zeiss (Tipo 61581)

4.- Proyector para películas de 16 mm. (Kodascope Royal Proyector model B.P. 16)

Los aparatos de cinefotomicrografía con dispositivos de contraste de fases, son muy útiles en trabajos de investigación, en particular en "Biología Celular"; ya que nos permiten obtener películas de células vivas y los cambios morfológicos que acompañan a la dinámica celular. (40,14,16)

Se toman películas por un tiempo tan largo como se desee; el uso de dispositivos espaciadores permite captar detalles impresionantes de la actividad celular.

Existen distintos tipos de aparatos para la cinematografía, pero todos

están contruidos bajo las mismas bases.

- a) Fuentes luminosas suficientemente poderosas para los requerimientos de sensibilidad de la película que se va a emplear.
- b) Viene equipado con un termostato, el cual controla la temperatura ya que es necesario mantener a una temperatura constante las células de cultivo.
- c) Posee mecanismos que permiten tomar 16 fotos por segundo hasta una foto cada 24 horas.
- d) Permite el empleo de películas de 16 mm. así como de 35 mm.
- e) Los aparatos de Zeiss de cinematografía tienen la ventaja de que pueden adaptárseles microscopía de contraste de fases, de interferencia, así como de luz polarizada. (60,61,43).

El aparato de Zeiss, que se utilizó para realizar este trabajo, está provisto de un microscopio de contraste de fases.

El microscopio de contraste de fases incluye placas ópticas colocadas entre las lentes objetivos y condensador, lo que transforma las diferencias de fase en diferencias de amplitud (y por consiguiente de intensidad) apreciables por el ojo o la placa fotográfica. El objeto transparente aparecerá entonces con diversos tonos de gris que dependen del producto entre el espesor del objeto y las diferencias entre los índices de refracción del objeto y del medio.

El equipo de contraste de fases, se compone de los objetivos de contraste de fases, de un microscopio auxiliar y del condensador de contraste de fases.

Objetivos de Contraste de Fases.

Estos objetivos están designados por las letras P.H. grabados en color rojo se distinguen de los objetivos corrientes para microscopios por el hecho de que llevan fijamente incorporados una placa de fases que retarda el paso de la luz un cuarto de longitud de onda menos que la luz refractada que pasa por el resto de la placa. Los objetivos están designados por Ph1, Ph2, Ph3 y deberán emplearse con los diafragmas anulares del condensador de cifras correspondientes.

Los condensadores de contraste de fases disponen de un disco giratorio, provisto de varias aberturas.

En dichas aberturas están insertadas los diafragmas anulares para contraste de fases, un diafragma iris y eventualmente un diafragma central de campo oscuro.

Microscopio Auxiliar.

Para obtener un efecto óptimo de contraste es preciso llevar a coincidencia la imagen del diafragma anular y el anillo de fases de la placa de fases del objetivo. Para controlar este ajuste, se enchufa en el tubo, en lugar del ocular, un microscopio auxiliar.

Iluminación.

Para obtener un mejor contraste, se utiliza luz filtrada, de preferencia luz verde. Por lo cual a cada condensador se le intercala un filtro verde. La microscopía de fases se usa en la actualidad como método de rutina en la observación de células y tejidos vivos, y es particularmente va-

liosa en la observación de células cultivadas "in vitro" durante la mitosis (23, 41, 60, 61).

Microscopio para Fotomicrografía Ultraphot.

La fotomicrografía es el registro de imágenes del microscopio por el método fotográfico.

Para la ilustración de este trabajo se tomaron fotografías a los cultivos celulares utilizando el aparato Ultraphot de Zeiss, que dispone de una cámara fotográfica con exposímetro totalmente automático, una fuente de luz suficientemente poderosa para tener imágenes bien iluminadas, y un microscopio de contraste de fases. El uso del método de contraste de fases ya se mencionó en párrafos anteriores (26).

4.- RESULTADOS

Se presentan los resultados en dos partes, en la primera se describen las observaciones de las células vivas con microscopía de contraste de fases y fotomicrografía, en la segunda, se mencionan las observaciones de las células con microscopía de contraste de fases y cinematografía.

4.1.- Fotomicrografía.

Utilizando cultivos de células HeLa se lograron las preparaciones de la foto 1, donde se pueden apreciar claramente las células de tipo epitelioide, dispuestas en monocapa, algunas células presentan un núcleo nítido conteniendo de uno a cuatro nucléolos de forma irregular, es característico en este tipo de células tumorales tener más de un núcleo y también más de un nucléolo.

La membrana nuclear tiene el aspecto de un límite obscuro, el citoplasma contiene gránulos de diversos tamaños.

En la fotografía 2, el objeto de estudio fueron células cultivadas, de bazo de ajolote, donde se pueden distinguir las mitocondrias en forma de hilos distribuidos en todo el citoplasma.

Foto 3, estas observaciones fueron hechas con aumento de 1000 X, las células estudiadas corresponden a la línea HeLa una de las cuales presenta su núcleo grande ovoide, conteniendo cuatro nucléolos de gran tamaño y de forma irregular, la membrana nuclear tiene el aspecto de un límite delgado y obscuro fácilmente perceptible.

El citoplasma contiene gránulos oscuros de diversos tamaños.

En la foto 4, tenemos una célula de bazo de ajolote, en la cual se distingue una zona clara en forma de estrella cerca del núcleo que corresponde al centro celular. El núcleo presenta forma ovoide, con un nucléolo redondo y obscuro. El nucleoplasma tiene aspecto homogéneo y la membrana nuclear se presenta como una línea delgada y oscura.

Es característico observar en ciertas células aisladas los velos de la membrana como en la foto 5, tenemos un macrófago de bazo de ajolote, donde distinguimos estas prolongaciones ectoplásmicas, con formación de vacuolas, lo cual significa la realización del fenómeno de la pinocitosis.

4.2.- Cinematografía.

Observación de las células vivas en cultivo de tejidos con microscopía de contraste de fases y cinematografía.

4.2.1.- Primera Parte: Células en cultivo.

I.- Células HeLa.- Estas células, cuando crecen "in vitro" presentan el aspecto de epitelios, las células son compactas y redondas.

Núcleos: Estos organoides son muy grandes ocupando la mayor parte del citoplasma celular. La membrana nuclear es el límite delgado y oscuro.

Los nucléolos, son oscuros y de diferente tamaño.

II.- Células ameboides, Leucocitos de ave. Células amorfas muy activas, con tendencia a emigrar por medio de ondulaciones rítmicas de sus membranas.

Macrófago. Célula en actividad motriz, presenta su núcleo de forma irregular, con dos nucléolos en forma de grano.

El citoplasma muestra dos zonas el endoplasma, formado de granulaciones finas y el ectoplasma libre de ellas, formando finos velos.

El centro celular, es la zona clara, no invadida por las corrientes citoplásmicas.

Granulocito. Célula ameboide, presenta su núcleo pálido e irregular, nucléolos no perceptibles.

El citoplasma contiene gránulos grandes y oscuros.

El centro celular muy evidente, no invadido por las granulaciones.

Trombocito. Célula gigante, sin movimiento, presenta su núcleo pálido -

e irregular, hacia la derecha.

En el citoplasma, se aprecia claramente la diferencia entre el endoplasma y el ectoplasma. El endoplasma formado de gránulos grandes y oscuros y el ectoplasma libre de granulaciones.

Linfocito. Presenta forma de un espejo de mano, la punta de esta célula es como un mango o proa que avanza hacia delante, arrastrando una cola, re presentada por los velos de la membrana.

El citoplasma es granular, se observan vacuolas gigantes.

El núcleo es obscuro de aspecto granular.

Granulocito. Célula amorfa, presenta su citoplasma formado de granulaciones finas y oscuras., también se aprecia la presencia de vacuolas gigantes.

El centro celular es una zona clara y pequeña.

El núcleo presenta granos finos y oscuros.

Eritrocitos. Presentan su núcleo grande, ovoide y obscuro, el citoplasma de estas células es homogéneo libre de granulaciones.

4.2.2.- Segunda Parte: Estructura de las células vivas.

I. Mitocondrias HeLa.

Célula binucleada, uno de los núcleos tiene 3 nucléolos y el otro - cuatro. Los nucléolos de forma irregular, oscuros y tamaño variable.

Las mitocondrias son pequeñas estructuras de forma esférica y oscuras que se mueven con rapidez en el citoplasma.

II.- Centro celular, Bazo de ajolote.

El centro celular lo encontramos cerca del núcleo, se presenta como un espacio claro y en forma de estrella.

El núcleo es ovoide y el nucleoplasma es homogéneo y claro.

El nucléolo es el cuerpo redondo y oscuro.

El material citoplasmático tiene movimiento pero sus componentes no penetran al centro celular.

Las mitocondrias se agrupan formando hilos de rosario.

III.- Núcleo. HeLa.

Células HeLa., su núcleo ocupa la mayor parte del citoplasma.

El nucléolo es redondo y oscuro, dentro de esta estructura se distinguen tres vacuolas, posteriormente estas vacuolas se fusionan y forman una vacuola gigante que se va acercando a la periferia del nucléolo.

La membrana nuclear es muy fina y oscura.

El nucleoplasma presenta zonas oscuras y blancas.

Velos de la membrana: Estas prolongaciones citoplasmáticas presentan movimientos ondulantes.

IV.- Nucléolo HeLa.

Primera escena.

Tenemos una célula binucleada, uno de los núcleos, tiene 2 nucléolos grandes y el resto son pequeños. El otro núcleo tiene nucléolos de diferente tamaño.

En ambos núcleos, la membrana nuclear es un límite oscuro y delgado.

Segunda escena.

Se observan 4 células, con sus núcleos grandes y los nucléolos de diferente tamaño.

4.2.3.- Tercera Parte. Fisiología.

I.- Movimiento de membrana. Bazo de Ajolote. Se observan los velos de las membranas que presentan movimientos del margen exterior de la célula hacia el centro, estos movimientos ondulatorios están asociados con la pinocitosis.

En el endoplasma se observan gránulos de tamaño variable, estos gránulos corresponden a mitocondrias y a diversas partículas.

II.- Movimiento de mitocondrias F. L. amnios. Estas estructuras presentan formas redondas y también se agrupan formando hilos de rosario, estos presentan movimientos rápidos.

III.- Rotación de núcleo, Células H. Ep. # 2. Tenemos una célula gigante, con su núcleo grande y ovoide, este organoide presenta movimientos rotatorios.

El nucléolo es oscuro y de forma irregular presentando en su interior vacuolas.

La membrana nuclear, es la línea delgada y oscura.

El citoplasma es granular, estas granulaciones corresponden a diversas partículas y mitocondrias.

Las mitocondrias se presentan aisladas y formando hilos delgados.

Velos de la membrana. Las prolongaciones ectoplásmicas presentan movimientos indicando un transporte de substancias del exterior al interior de la célula.

CAMARA DE PARAFINA.

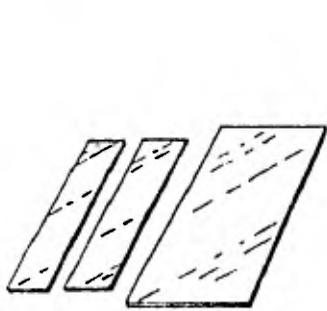


FIG. 1

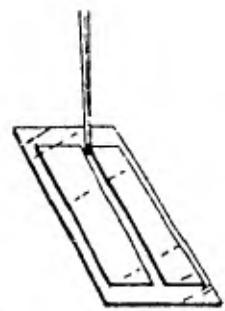
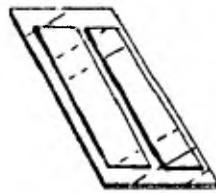


FIG. 2

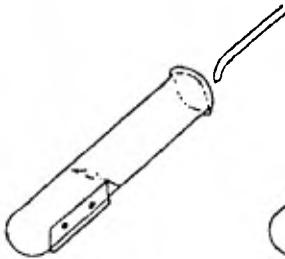


FIG. 3

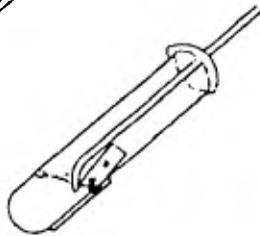


FIG. 4

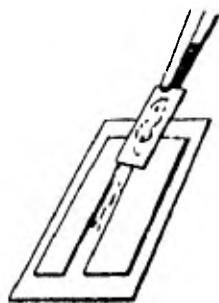
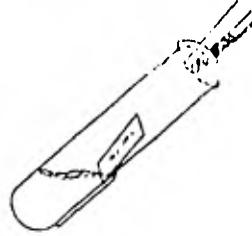


FIG. 5

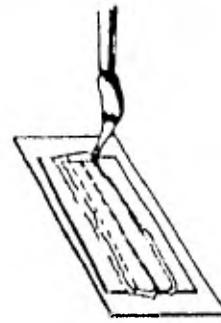


FIG. 6

5.- LAMINAS.



FOTO I.

Células epitelioides Cultivo de Células He La.

Contraste de fases 160X.

Se observan las células dispuestas en monocapa, su núcleo (N) redondo u ovoide conteniendo de uno hasta tres nucleolos (NO). El citoplasma (C) tiene aspecto granular.



FOTO 2.

Cultivo de bazo de ajolote. Contraste de fases 1000X.

Observamos las mitocondrias que se disponen en forma de hilos (MI).



FOTO 3.

Células epitelioides. Cultivo de Células He La
Contraste de fases 1000X.

En una de las células se puede apreciar un núcleo grande (N) con cuatro nucleolos (NO), también se observa la mem brana nuclear (MN) y su citoplasma granular (C).

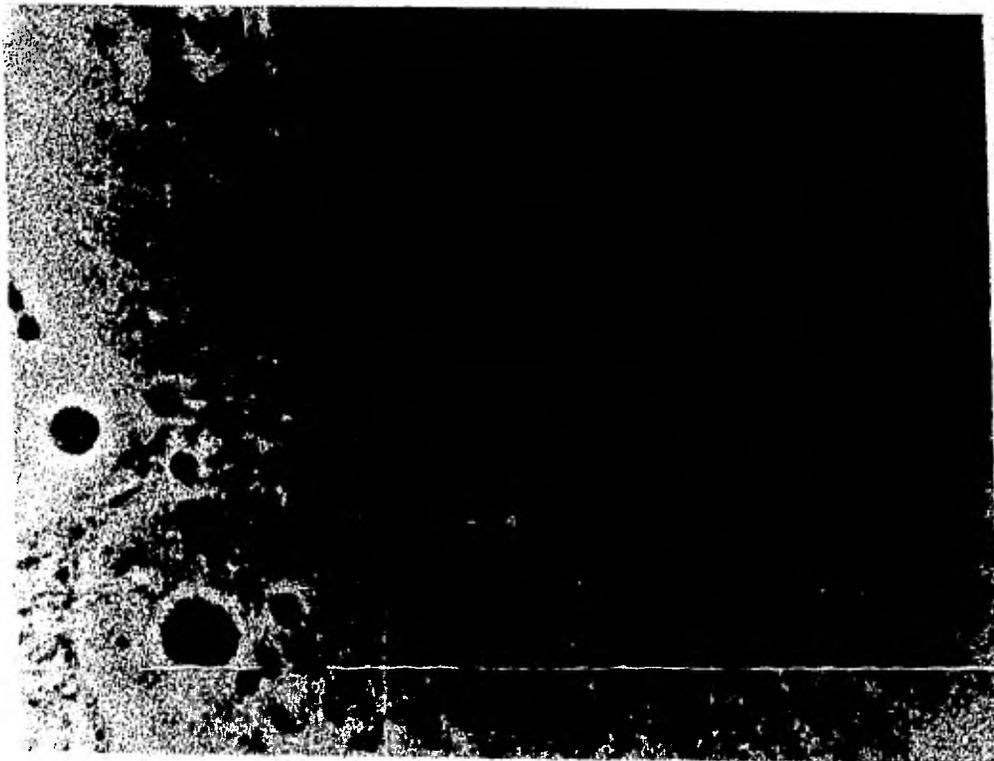


FOTO 4

Célula epitelióide. Cultivo de bazo de ajolote.
Contraste de fases 1000X.

Centro celular (CC), zona clara, de aspecto radiado.



FOTO 5

Macrófago. Cultivo de bazo de ajolote
Contraste de fases 1000X

En esta foto se muestran los velos de la membrana (M) y
la presencia de vacuolas pinocíticas (V).

6.- DISCUSION.

La técnica de cultivo de tejidos, el uso de la fotomicrografía y microcinematografía con contraste de fases es de gran utilidad en "Biología Celular", ya que nos permite estudiar la fisiología y morfología celular conjuntamente, en particular podemos mencionar como las células forman colonias, los cambios complejos que acompañan a la división celular, la naturaleza y comportamiento de las mitocondrias, movimiento de núcleo y de la membrana celular, la entrada y salida de fluidos a través de la membrana, los cambios fisicoquímicos que ocurren naturalmente o producidos artificialmente.

La importancia de la observación de material "in vitro" es evidente ya que nos da información real de las funciones celulares, evitando los artefactos de técnica creados por los fijadores y colorantes cuando se usan otros procedimientos.

En el presente trabajo se elaboró una película, en la cual se muestra la estructura celular y algunas funciones como: La pinocitosis en células de bazo de ajolote, la cual se caracteriza por ser una función dinámica, en la que el movimiento de los velos de la membrana es constante, también es característico la formación de "vacuolitas" que transportan el material alimenticio del exterior al interior de la célula. La observación de esta función "in vitro" facilitará al alumno, la comprensión de este mecanismo de transporte de sustancias en la célula.

Entre otras de las cosas que nos llama la atención en esta película, es la rotación de núcleo en células H. Ep. # 2, se observa claramente como este organoide presenta movimientos de rotación sobre su eje, también se aprecia el movimiento del citoplasma y de los velos de la membrana celular, lo que indica que este movimiento se debe a la entrada de material alimenticio al interior de la célula, lo que hace que se establezcan corrientes citoplásmicas y por consiguiente se mueva el núcleo., este movimiento es muy apreciable en células de alto metabolismo como por ejemplo en células cancerosas H. Ep. # 2, HeLa.

El acercamiento de mitocondrias en la vecindad del núcleo, es un hecho muy conocido por varios científicos entre ellos Chévremont y Frederick (6) — entre otros, y la interpretación que dan a este suceso, es de que hay un intercambio de materiales y energía entre mitocondrias y núcleo o viceversa.

Como se mencionó en la introducción, el centro celular es más perceptible en células en mitosis, sin embargo nosotros obtuvimos fotografías de esta estructura en células de anfibio en período de interfase, lo cual nos indica que tiene participación en otras funciones. De acuerdo con la literatura consultada se menciona que hay una homología entre el centriolo y el cinetosoma de los flagelos de protozoarios lo que hace pensar que interviene también en el movimiento celular. (8)

La presencia de espacios claros (Vacuolas nucleolares en el nucléolo) despertará en el alumno un gran interés, pues si se le menciona la controversia que se suscitó para establecer que estas estructuras son vacuolas nucleolares, ésto le permitirá darse cuenta que cada estructura celular es

el objeto de grandes estudios, por los diversos grupos de científicos, los cuales unen sus conocimientos y esfuerzo para un constante desarrollo de la Citología.

En la enseñanza de la "Biología Celular", se recomienda que el maestro utilice auxiliares audiovisuales, como la diapositiva o películas, pues la aplicación de estas herramientas en el aula de clases mejorarán la enseñanza y facilitará la comprensión de la estructura y dinámica celulares.

Para concluir, diremos que la importancia de este trabajo radica, en que la proyección de la película titulada "La Célula Viva" coadyuva, a que el alumno comprenda la importancia de la célula como unidad básica estructural y funcional de los seres vivos.

R E F E R E N C I A S

- 1.- BEZZIS, M. et BRETON, J. Le Centriole Des Cellules. Du Sang -
Etude A. L. État Vivant. Et. Au. Microscope Electronique -
Bull Micr. appl. 2: 50-58, 1957.
- 2.- BOTTOMLEY, R.H., J.M. TRAINER, L.A. and GRIFFIN. Enzimatic and -
Chromosomal. Characterization of HeLa Variants. J. Cell. -
Biol. 41: 806-815, 1969.
- 3.- BOVERI, TH. Zellen-Studien IV. Uber die Natur der Centrosomen. Jena -
Z. Naturwiss. 35: 1-220, 1901.
- 4.- BUSH, H. and SMETANA K. The Nucleolus. Academic Press. New York and -
London, 1970, pp. 626.
- 5.- CHAPMAN; ANDRESSEN, C. and HOLTER. H. Studies on the ingestion of C.
14 Glucose by Pinocytosis in the Amoebea Chaos chaos. Exp. -
Cell. Res. Suppl. 3: 52-63, 1955.
- 6.- CHEVREMONT, M. Notions de Cytologie et Histologie. Editions Desoer -
Liège 1956, pp. 994.
- 7.- DE ZAVALETA , E.T. Evaluación de materiales audiovisuales para la ense-
ñanza. E.U.D.E.B.A. Universitaria de Buenos Aires, 1971,
pp. 225.
- 8.- DE ROBERTIS, E. SAEZ A. DE ROBERTIS. Biología Celular. "El Ateneo",
Buenos Aires, México, 1977, pp. 528.

- 9.- EAGLE, H. Aminoacid metabolism in mammalian cell cultures. *Science*.
130: 432-436, 1959.
- 10.- ESTABLE, C. Morphology, structure and dynamics of the nucleolonema,
En: W.S. Vincent and O.L. Miller, Jr. (Eds) International
Symposium on the Nucleolus Its Structure And Function. Nat.
Can. Inst. Monograph 23. Montevideo-Uruguay, 1966, pp. 91-
105.
- 11.- _____ and SOTELO, R.J. The Behaviour of the nucleoloma during -
mitosis. En: P. Noordhoff (Ed), *Fine Structure of Cells*, -
Intersciencie, N.Y. 1954, pp. 170-190.
- 12.- FUSE, Y., PRICE, Z. and CARPENTER, C.M.A. Comparison of the fine -
structured Mac-21 and HeLa cells. *Cancer Res.* 23: 1658-1664,
1963.
- 13.- GEY, G.O., COFFMAN, W.O. and KUBICECK, E. Tissue culture studies of
the proliferative capacity of cervical carcinoma and normal
epithelium. *Cancer Res.* 12: 264, 1952.
- 14.- GONZALEZ RAMIREZ, J. Morfología Sanguínea de los Batracios.
Tesis profesional. UNAM, México, 1950.
- 15.- _____ Nucleolar Physiology. III. Considerations About the Meaning
of Nucleolar Silver Impregnations in Cultured HeLa Cells.
Bol. Inst. Estud. Med. Biol. Méx. 19: 195-205, 1951.

- 16.- GONZALEZ RAMIREZ, J. Considerations on nucleolar physiology. The Importance of time-lapse cinemicrography. En: G.G. Rose (Ed), Cinemicrography in Cell. Biology Academic Press. - N.Y. 1963, pp. 429-443.
- 17.- _____ Fisiología Nucleolar VI. Citoquímica de vacuolas nucleolares. Hallazgos recientes que contribuirán a su mejor conocimiento. Bol. Estud. Méd. Biol. Méx. 28: 121-140, 1973.
- 18.- _____ ZUÑIGA, M. Y NUÑEZ, G.A. Nucleolar Physiology I. Passage of two different nucleolar components toward the cytoplasm in living cells. Bol. Inst. Estud. Med. Biol. Méx. 17: - 51-57, 1959.
- 19.- _____ WONG, C. Y MUÑEZ, G.A. Nucleolar Physiology: II Electron microscopy of nucleolar materials in HeLa cells. Bol. Inst. Estud. Méd. Biol. Méx. 18: 153-161, 1960.
- 20.- _____ y NUÑEZ, G.A. Nucleolar Physiology IV Passage of nucleolar material through the pores of the nuclear membrane of HeLa cells as determined by electron microscopy. Bol. Estud. - Méd. Biol. Méx. 25: 157-169, 1968.
- 21.- _____ NUÑEZ, G.A. y GUZMAN, De G.O. Fisiología Nucleolar V. Citoquímica de vacuolas nucleolares. Autorradiografía con - aminoácidos marcados Bol. Estud. Méd. Biol. Méx. 26: 161-166, 1970.

- 22.- HARRIS, M. Cell Culture and somatic variation. Holt Rinehart, -
and Winston; N.Y. 1964, pp. 545.
- 23.- HEALEY, P. Microscopios y vida microscópica. Bruguera, S.A. D.F., -
1971, pp. 159.
- 24.- HOLTER, H. Pinocytosis. Internat. Rev. Cytol. 8: 481-503, 1960.
- 25.- _____ MARSHALL, J.M. Jr. Studies on pinocytosis in the amoeba -
Chaos chaos. Compt. Rend. Lab. Carlsberg Ser. Chim. 29: -
7-28, 1952.
- 26.- HUGHES, A.F.W. The technique of ciné-photomicrography of Living Cells.
Journ. R. Micr. Soc. 69: 53-64, 1949.
- 27.- JORDAN, E.G. The nucleolus. Oxford Biology Readers. Oxford Univer-
sity, 1971. pp. 16.
- 28.- LETTRE, R. Observations on the behavior of the nucleolus of the -
Nucleolus of cells in vitro. En: P. Noordhoff (Ed), Fine
Structure of Cells. Interscience, N.Y., 1951, pp. 141-150.
- 29.- _____ & SIEBS, W. PAWELETZ, N. Identification of different compo-
nents of the nucleolonema and of the Pars Amorpha En: W.S.
Vincent and O.L. Miller. Jr. (Eds). International Symposium
on the nucleolus. Its. Structure and Function. Nat. Ca. -
Inst. Monograph 23. Montevideo-Uruguay, 1966. pp. 107-135.
- 30.- LEWIS, W.H. Pinocytosis. Johns Hopkins Hosp. Bull. 49: 17-26, 1931.

- 31.- LEHNINGER, A.L. The Mitochondrion. W.A. Benjamin, Inc., N.Y., 1964.
N. Y., 1964. pp. 263.
- 32.- LINKER, J.M. y WINKLER, M .K. Diseño de material visual didáctico. -
Pax México. México, D.F., 1971, pp. 43.
- 33.- LODISH, H.F., & ROTHMAN, J.E. The Assembly of cell membranes Sci.
Am. 240: 35-53, 1979.
- 34.- MAZIA, D. Mitosis and the physiology of cell division. En: Brachet,
J., and Mirsky, A.E. (Eds), The Cell. Academic Press Inc.
N.Y., 1961. Vol. 3, Cap. 2, pp. 77-394.
- 35.- MARCHEZI, VICENT, T. Membrane systems and the organization of cells.
Biocore, unit. v; 2-22, 1974.
- 36.- MENDEZ, R.H. y BATALLA, Z.A. Didáctica de las Ciencias Biológicas.
Ediciones Oasis, México, 1969, pp. 171.
- 37.- MONTROSE, J. MOSES. The Nucleus and chromosomes: A Cytological -
perspective En: Bourne G.H. (Ed.)., Cytology and Cell -
Physiology. Academic Press. N.Y. 1964. Cap. 9, pp. 424-544.
- 38.- NACHMANSOHN, D. Proteins in Exitable Membranes. Science 168: 1059-
1066, 1970.
- 39.- NORRYD, C. and FJELDE, A. The Chromosomes in the Human Cancer Cell.
Tissue Culture Line H. Ep. # 2. Cancer Res 23: 197-200,
1963.
- 40.- NUÑEZ, G.A. Contribución al estudio de las modificaciones producidas
por algunos fijadores en la célula viva. Bol. Inst. Estud.
Méd. Biol. Méx. 11: 99-153, 1953.

- 41.- NUÑEZ, T.S.L. M. Aplicación de algunas técnicas microscópicas y de fotomicrografía en Biología. Tesis Profesional U.N.A.M., México, 1969.
- 42.- PARKER, R.C. Methods of Tissue Culture. Hoeber Medical division, Harper & Row. Publisher, 1964 pp. 321.
- 43.- PAUL, J. Cell and Tissue Culture. E. and S. Livingstone L.T.D. - Edinburgh and London, 1959, pp. 261.
- 44.- PERRY, R.P. The nucleolus and the synthesis of ribosomes. In Progress in Nucleic Acid. Research and molecular Biol. 6: 219-257, 1967.
- 45.- POLICARD, A. et M. BESSIS. Etude au microscope electronique de la centrosphere des Leucocytes de mammifères. Exper. Cell. Res. 8: 583-585, 1955.
- 46.- POMERAT, C.M. Rotating nuclei in tissue cultures of adult human nasal mucosa. Exp. Cell. Res. 5: 191, 1953.
- 47.- ROSE, G.G. Nuclear folds versus intranuclear, inclusions in tissue cultures, J.R. Micr. Soc. 83: 377-390, 1964.
- 48.- ROSE, G.G. Time-lapse cinemacrography of cells in tissue culture, - Bulletin of the Johns. Hopkins Hospital 116: 33-68, 1965.
- 49.- ROBERTSON, J.D. Unit membranes. En: Michael Loohé (Ed.), Cellular - Membranes in Development. Academic Press. N.Y. and London. 1964. Cap. I, pp. 1-81.

- 50.- R.O.T.S. and BUSH, H. In vitro labeling of RNA in isolated nucleoli of the walter tumor and liver. *Cáncer Res.* 24: 1630-1633, 1964.
- 51.- SANFORD, K.K. LIKELY, G.D., and EARLE, W.R. The development of - variations in transplantability and morphology within a - clone of mouse fibroblasts transformed to sarcoma producing cells in vitro. *Nat. Cáncer. Inst.* 15: 215-237, 1954.
- 52.- _____ HOBBS, G.L. and EARLE, W.R., The tumor-producing capacity of strain mouse cells after 10 years in vitro-cáncer. - *Cáncer. Res.* 16: 162, 1956.
- 53.- SINGER, S.J., & NICOLSON, G. L., The fluid Mosaic Model of the - Structure of cell Membranes. *Science.* 175: 720-731, 1972.
- 54.- SIEBERT, G. VILLALOBOS J., RO, T. S., STEELE, W.J. LINDEN-MAYER, G., ADAMS, H.R. and BUSH, H. Enzimatic studies on isolated - nucleoli of rat liver. *J. Biol. Chem.* 241: 71-78, 1966.
- 55.- TANAKA, H. UCHINO, F., DOHI S. and S. AMANO. Centrioles and spindle fibers in mitotic cells as observed under the Electron - Microscope. *Acta haem. jap.* 19: 571-576, 1956.
- 56.- TOOLAN, H.W. and MOORE, A.H. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Méd.* 79: - 697-702, 1952.
- 57.- WHITE, D.O. A Postgraduate course in cell cultura. The Cell, cul- ture, Society of Victoria, University Brookroom, University of Melbourne, Parkville, Victoria Australia, 1963, pp. 333.

- 58.- WHITE P.R. Prolonged survival of excised animal tissue "in vitro" in nutrients of known constitutions, J. Cell. Comp. --
Physiol. 34: 1-221, 1949.
- 59.- YAO, K.T.S. and ELLINGSON, D.J. Observations on nuclear rotation and oscillation in Chinese Hamster germinal cells in vitro.
Experimental Cell. Res. 55: 39-42, 1959.
- 60.- ZEISS, C. Condensadores de contraste de fases. Instrucciones para su manejo. Folleto: G. 40-260/L-S.
- 61.- _____ y WINKEL. Microscopio Standard. Folletos: ZW 500 y -
ZW 502.

