



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN

ESTUDIO HISTOLOGICO COMPARATIVO DE LAS
FIBRAS ELASTICAS DEL CARTILAGO EPIGLOTICO
DEL CANIDEO (*Canis familiaris*), SUINO
(*Sus scropha*) Y OVINO (*Ovis ovis*) DOMESTICO,

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA

CUAUHTEMOC MAYA MARTINEZ

Director de Tesis: M. en C., M.V.Z. Juan Ocampo López.

Asesor de Tesis: M.V.Z. Yolanda Romero Sánchez.

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX.

1996

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.



INSTITUTO NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES-CUAUTITLAN



DEPARTAMENTO DE
EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DR. JAIME KELLER TORRES
DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLAN
P R E S E N T E .

AT'N: Ing. Rafael Rodríguez Ceballos
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS TITULADA:

"Estudio Histológico Comparativo de las Fibras Elásticas del
Cartilago Espinal del Canino (*Canis familiaris*), Suino
(*Sus scropha*) y Ovino (*Ovis ovie*) doméstico"

que presenta el pasante: Guadalupe Maya Martínez
con número de cuenta: 7823126-1 para obtener el TITULO de:
Médico Veterinario Escoteonista

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 11 de enero de 1995

PRESIDENTE Dr. J. Roberto Olvera Enriquez (13/19/196
VOCAL Dr. An. Rodríguez Zaltierra 15/1/96
SECRETARIO M. en C. Juan Campo López
PRIMER SUPLENTE Dr. Lic. Luc Montero Villeda
SEGUNDO SUPLENTE Dr. José María Navarro Mirón

DEDICO ESTA TESIS

A LA MEMORIA DE MI MADRE, MARIA LUISA MARTINEZ
POR TODO EL AMOR QUE ME BRINDASTE EN MIS AÑOS
DE INFANCIA Y POR LOS CUIDADOS QUE ME DISTE EN
LOS MOMENTOS DE ENFERMEDAD.

ESTE TRABAJO REPRESENTA TUS SACRIFICIOS,
DESVELOES, SUEÑOS Y TU HERENCIA POR CONVERTIRME
EN UNA PERSONA DE BIEN, SIN IMPORTAR LOS
SACRIFICIOS REALIZADOS PARA LLEGAR JUNTOS EN
CUERPO Y ALMA PARA CUMPLIR NUESTRA META.

GRACIAS.

ETERNAMENTE TE AMARE.

A MI HERMANA, MARIA LUISA MAYA MARTINEZ
CON TODO CARINO TE AGRADEZCO TODO TU APOYO POR
AYUDARME EN MIS ESTUDIOS Y EN LA REALIZACIÓN DE
ESTE TRABAJO.

SIEMPRE LO RECORDARE.

GRACIAS A MIS HERMANOS Y SOBRINOS
POR SER UNA PARTE ESENCIAL EN MI FAMILIA.

A ROBERT

POR SER UN FIEL GUARDIAN

A LA MEMORIA DE LA SRA. GUADALUPE CALVO R.
POR TODO SU AMOR, BONDAD, NOBLEZA Y SU FE EN
DIOS, QUE ME BRINDÓ HASTA EN SUS ÚLTIMOS
MOMENTOS.
SIEMPRE PERMANECERÁ EN MIS RECUERDOS.

A LETICIA SANCHEZ CALVO
GRACIAS POR PERMANECER EN LOS MOMENTOS MÁS
DIFÍCILES DE MI VIDA.
TODO LO QUE VIVAMENTE IMAGINAMOS, ARDIENTEMENTE
DESEAMOS, SINCERAMENTE CREAMOS Y
ENTUSIASTAMENTE EMPRENDEMOS...
INEVITABLEMENTE SUCEDERÁ.
DESEO QUE TE RECUPERES LO MAS PRONTO POSIBLE.
CON TODO MI AMOR

AGRADECIMIENTOS

Muy especial a mi asesor, M. en C. Juan Ocampo López, por darme su apoyo como amigo, para la realización de este trabajo y su juicio científico llevado siempre hasta el final de este estudio.

A mi asesora M.V.Z. Yolanda Romero Sánchez:

Gracias a su fe en Dios y a su dedicación hasta el final de este trabajo, fue la clave principal para obtener excelentes resultados.

Al M.V.Z. Roberto Flores Aguilar, gracias a su especial atención para la obtención de varias de las muestras de suinos requeridas en este estudio.

A la Q.F.B. Lulú Rojas, gracias por su valiosa aportación que nos permitió obtener excelentes fotografías.

A Sara y Juanito, gracias por dedicarme una parte de su tiempo en el transcurso de la redacción de este trabajo.

También se agradece el apoyo brindado por las siguientes personas e instituciones:

A la Sección de Ciencias Morfológicas de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, y en especial al M.V.Z. Carlos Ignacio Soto Zárate, por la donación del material biológico de canideos.

Al Rastro Municipal de Tlalnepantla, Edo. Méx., por la donación del material biológico de ovinos y suinos.

A las diversas granjas porcícolas del área de Zumpango, Edo. Méx. que amablemente donaron parte del material biológico de suinos.

A la Unidad de Microscopia Electrónica del CINVESTAV-IPN, y en especial a las Q.F.B. Lourdes Rojas y Sirenia González, por el apoyo técnico brindado para la toma de fotografías del presente estudio.

INDICE

INTRODUCCION

A) GENERALIDADES	1
a) Células	2
b) Fibras	3
c) Substancia fundamental	3
B) DIFERENCIAS ENTRE ELEMENTOS FIBROSOS	4
a) Fibras de colágena (fibras colágenas)	5
b) Fibras reticulares	6
c) Fibras elásticas	7
C) FUNCIONALIDAD DE LAS FIBRAS ELASTICAS	15
D) SITIOS DE LOCALIZACION DE LAS FIBRAS ELASTICAS	17
E) CARTILAGO ELASTICO	19
a) Características morfológicas	20
b) Origen embriológico	25
c) Histofisiología	26
d) Localización	26
F) ANATOMIA Y FISILOGIA DE LA EPIGLOTIS	27
a) Anatomía e histología.....	27
b) Fisiología	29

OBJETIVOS

A) GENERAL	31
B) PARTICULARES	31

MATERIAL Y METODOS

A) RECOLECCION Y PROCESAMIENTO DE MUESTRAS HISTOLOGICAS	32
B) COLORACION DE PREPARACIONES HISTOLOGICAS OBTENIDAS	36
a) Método de orceína de Tánzer-Unna	36
b) Método de hematoxilina y eosina	37
c) Método de Van Gieson	39
C) OBSERVACION E INTERPRETACION AL MICROSCOPIO OPTICO	41
D) TOMA DE FOTOGRAFIAS	42

RESULTADOS

A) CANIDEOS	43
a) Mucosa	43
b) Cartilago epiglótico	45
B) OVINOS	51
a) Mucosa	51
b) Cartilago epiglótico	54
C) SUINOS	60
a) Mucosa	60
b) Cartilago epiglótico	62

D) FIGURAS	66
DISCUSION	
A) CANIDEOS	89
a) Mucosa	89
b) Cartilago epiglótico	89
B) OVINOS	93
a) Mucosa	93
b) Cartilago epiglótico	94
C) SUINOS	96
a) Mucosa	96
b) Cartilago epiglótico	97
CONCLUSIONES	99
BIBLIOGRAFIA	101

INTRODUCCION

A) GENERALIDADES.

Designamos genéricamente como tejido conectivo a un grupo de tejidos de origen embriológico común (a pesar de su extraordinaria diversidad) y de función básica igualmente común (Deilmann y Brown, 1976).

El tejido conectivo tiene una gran diversidad morfológica, topográfica y estructural. Sus funciones principales son, además de "unir o conectar" entre sí a otros tejidos, proporcionar un armazón y soportar al organismo entero mediante los cartilagos y los huesos; también este tejido participa en el aislamiento térmico, en el metabolismo del agua y en los mecanismos de defensa y reparación, y en forma indirecta, en el amortiguamiento y moldeo del cuerpo y en la nutrición del organismo (Deilmann y Brown, 1976).

El tejido conjuntivo generalmente consta de células y fibras extracelulares, incluidas en una matriz o sustancia fundamental parecida a un gel y rica en líquido tisular (Fawcett, 1987). De este modo, el tejido conjuntivo está compuesto de tres elementos básicos que son: a) células, b) fibras y c) sustancia fundamental; estos componentes se encuentran íntimamente relacionados no sólo desde un punto de vista anatómico, sino metabólico y funcional (Correa y col., 1976).

a) Células: Existen muchos elementos celulares en el tejido conectivo, algunos propios y otros que lo constituyen en un momento u otro de su desarrollo (Correa y col, 1976). Los elementos celulares del tejido conectivo controlan la formación, persistencia y desintegración de los componentes extracelulares (Sodeman y Sodeman, 1978). Las células mesenquimatosas primordiales, localizadas alrededor de la adventicia de los vasos que atraviesan el tejido conectivo, pueden diferenciarse, transformándose en macrófagos, células cebadas y fibroblastocitos (Correa y col, 1976). En el tejido conectivo propio también encontramos células plásmáticas, linfocitos, neutrófilos y eosinófilos, que indudablemente provienen del torrente vascular y están distribuidos en forma irregular y poco frecuente por todo el tejido conectivo (Welsch y Storch, 1976; Sodeman y Sodeman, 1978). Los fibroblastocitos son probablemente las células más importantes del tejido conectivo, les corresponde la formación y la manutención del tejido conectivo colágeno y elástico (Sodeman y Sodeman, 1978). Diversas variantes especializadas de los fibroblastocitos, tales como los condrocitos, osteocitos y sinovicitos, son los responsables de la formación del cartilago, hueso y liquido sinovial, respectivamente. Los fibroblastocitos que segregan tropocolágeno al espacio intercelular, el cual se polimeriza para formar las fibrillas respectivas, provienen del tejido conectivo embrionario (mesénquima) y varían de forma según su estado de actividad sintética (Welsch y Storch, 1976; Sodeman y Sodeman, 1978).

b) **Fibras:** En la sustancia fundamental del tejido conectivo se producen fibras durante su desarrollo (Nussbag, 1966). En preparaciones histológicas ordinarias y por medio de tinciones especiales es posible distinguir tres tipos de fibras: las colágenas, las reticulares y las elásticas (Correa y col, 1976; Fawcett, 1987). Debido a la importancia de estos elementos en el presente trabajo, se hablará de ellas particularmente en el siguiente apartado de esta Introducción.

c) **Sustancia fundamental:** La sustancia fundamental no suele distinguirse adecuadamente en las preparaciones histológicas ordinarias (Weisch y Storch, 1976). Gran parte de estas sustancias desaparecen, dejando espacios vacíos entre células y fibras. Sin embargo, con el empleo de fijadores y técnicas histoquímicas especiales, se puede lograr una tinción espectacular de la sustancia fundamental (Sodeman y Sodeman, 1978). Es un gel o un sol (según su localización) ópticamente homogéneo; asimismo, es una mezcla acuosa de electrolitos, proteínas, carbohidratos muy polimerizados (conocidos como mucopolisacáridos o glicosaminoglicanos) y lípidos (Sodeman y Sodeman, 1978; Fawcett, 1987). Los glicosaminoglicanos, los componentes más estudiados de la sustancia fundamental, tienen capacidad de fijar iones y agua y son la causa principal de la viscosidad de dicha sustancia. Consisten en polímeros de alto peso molecular de carbohidratos, muchas veces asociados covalentemente con proteínas en complejos denominados proteoglicanos. La distribución de los

mucopolisacáridos puede tener gran significado funcional. Por ejemplo, la sustancia fundamental del cartilago contiene condroitin-sulfato A y C (Sodeman y Sodeman, 1978). Así, los proteoglicanos pueden diferir tanto en la proteína que constituye su eje como en las diferentes clases de glicosaminoglicanos que se enlazan con ella en número variable. Esto da gran diversidad a nivel molecular, que confiere a los proteoglicanos una notable versatilidad, tanto en sus funciones estructurales como organizativas (Sodeman y Sodeman, 1978; Krstic, 1985; Junqueira y Carneiro, 1987; Deilman, 1993;).

Ahora se usa más bien el término general de matriz extracelular ó sustancia fundamental, abarcando a los proteoglicanos, el colágeno, la elastina y otras proteínas estructurales descubiertas más recientemente, tales como la fibronectina, la condronectina y la laminina. Forman, en conjunto el material estable que rodea a las células del tejido conectivo y que da soporte a los epitelios (Fawcett, 1987).

B) DIFERENCIAS ENTRE ELEMENTOS FIBROSOS.

En el tejido conectivo, se distinguen tres tipos de elementos fibrilares, los cuales son observados mediante el empleo de técnicas de tinción de rutina o bien, específicas para cada tipo de fibra en particular y con el apoyo de un microscopio de luz. Con este apoyo técnico es posible diferenciar a las fibras que son de interés para nuestro estudio (Nusshang, 1966; Correa y col, 1976;

Dellman y Brown, 1976; Welsch y Storch, 1976; Sodeman y Sodeman, 1978; Fawcett, 1987; Junqueira y Carneiro, 1987; Lesson y col, 1988; Dellman, 1993).

a) Fibras de colágena (fibras colágenas).

Son las más abundantes, y constituyen la tercera parte de la proteína corporal total (Sodeman y Sodeman, 1978). Al microscopio óptico y con técnicas histológicas de rutina se observan como bandas relativamente anchas, ondulantes, ácidofilas, finamente fibrilares, birrefringentes, que no se ramifican y constituyen la mayor parte del tejido conjuntivo colágeno laxo y compacto (Nusshag, 1966; Correa y col, 1976; Sodeman y Sodeman, 1978; Dellman, 1993;). Con las técnicas histológicas usuales las fibras de colágena se tiñen con los colorantes ácidos. Así, son rojas y/o rosadas en los cortes teñidos con H-E, rojas con el método de Van Gieson y azules con la tinción triple de Mallory ó Masson (se observan de color verde cuando se usa verde luz). Con tinciones de plata aparecen de color café oscuro y si se viran con oro toman color morado (Correa y col, 1976; Dellman y Brown, 1976; Sodeman y Sodeman; 1978). Ultraestructuralmente se observa que los haces más grandes de fibras se hallan constituidos por haces más pequeños, de 1-12 μm de diámetro, formados a su vez por fibras de 0.2 a 0.5 μm de grosor (Dellman, 1993). Las fibras de colágena son flexibles y pueden adaptarse a los movimientos y modificaciones de tamaño de los órganos con los que se asocian, pero apenas son extensibles. Estas fibras se caracterizan por su elevada resistencia a la

tracción y únicamente pueden ser alargadas hasta un 5% de su longitud inicial (Dellmann y Brown, 1976; Welsch y Storch, 1976).

b) Fibras reticulares.

Este tipo de fibras intercelulares, son las más finas de todas, de trayecto irregular y se anastomosan ampliamente, no son birrefringentes y para poder ser observadas con claridad se necesitan técnicas histológicas especiales de impregnación de plata (de donde viene el nombre de fibras argirofílicas o argentófilas) o con el método del ácido peryódico de Schiff (P.A.S.). Mediante estas técnicas, en el microscopio de luz aparecen de un color negro uniforme (Nusshag, 1966; Correa y col, 1976; Dellman y Brown, 1976; Welsch y Storch, 1976; Sodeman y Sodeman, 1978;). Las fibras reticulares se hallan ampliamente distribuidas en todo el cuerpo, y en muchos sitios constituyen una red, especialmente en los órganos parenquimatosos, forman una trama flexible alrededor de los capilares, fibras musculares, células adiposas, nervios, hepatocitos, etc.; puede actuar como armazón, sosteniendo a las células o grupos de ellas en órganos endocrinos, linfáticos y membranas basales de epitelios (Nusshag, 1966; Correa y col, 1976; Dellman y Brown, 1976; Welsch y Storch, 1976; Sodeman y Sodeman, 1978;). Con el microscopio de luz, estas fibras se observan más pequeñas que las fibras de colágena y más frecuentemente ramificadas (Welsch y Storch, 1976; Sodeman y Sodeman, 1978).

c) Fibras elásticas.

Las fibras elásticas, constituidas primordialmente por la proteína elastina, se organizan en algunos sitios corporales en forma de membranas o láminas, mientras que en otros aparecen como fibrillas. Este tipo de fibras forman un retículo de trama variable (Correa y col, 1976, Welsch y Storch, 1976).

Las fibras elásticas y colágenas están asociadas por todas partes. Sin embargo y a pesar de la similitud en la composición de aminoácidos entre los dos tipos de fibras, no son de la misma familia secuencialmente (Gray y col, 1973).

Las fibras elásticas se encuentran relacionadas con miocitos no estriados, en la túnica muscular de órganos huecos, donde es necesaria una elasticidad graduable. Cuando la cantidad de fibras elásticas supera a la de colágena, se habla de tejido conectivo elástico (Nussbag, 1966; Correa y col, 1976; Frandson y Whitten, 1985). Con tinciones adecuadas se observan en el microscopio fotónico, donde la mayor parte de las fibras elásticas son relativamente gruesas con un diámetro que oscila entre 1 a 5 μm ; sin embargo, en los ligamentos elásticos (como el ligamento nucal), pueden ser de hasta 12 μm (Dellmann y Brown, 1976).

Las fibras elásticas se caracterizan por ser birrefringentes, generalmente no forman haces, presentándose como fibras aisladas, retráctiles, ramificadas, que se anastomosan, o bien están enrolladas entre sí (Correa y col, 1976; Fawcett, 1987). La elastina forma también láminas fenestradas, como ocurre en los vasos sanguíneos (Welsch y Storch, 1976). En preparaciones teñidas

con H.E., se aprecian fácilmente como cordones gruesos, fuertemente refractiles, de color rosado claro. Con tinciones especiales, se tiñen selectivamente, y para demostrarlas se usan, por ejemplo, el colorante de Verhoeff, la resorcina-fucsina de Weigert, el método de la aldehído-fucsina de Halmi, ó bien tinciones a base de orceína, como el método de Tánzer-Unna y la técnica de Darrow (Luna, 1963; Correa y col, 1976, Welsch y Storch, 1976; Fawcett, 1987). Wedl en 1878 y Tánzer en 1891, fueron los que por primera vez utilizaron la orceína, colorante vegetal obtenido de diversos líquenes (Puchler y Meloan, 1976), entre los que destaca *Rocella tinctoria*; estos investigadores manifestaron que dicho pigmento tenía la facilidad de fijarse al tejido elástico (Pearse, 1968). Nakamura y col, 1977; Estrada y col, 1992). La heterogeneidad de la orceína por su contenido de compuestos aniónicos, catiónicos y no iónicos (Pearse, 1968) da como resultado la formulación de varias teorías para su mecanismo de coloración: una basada en la interacción química (iónica ó covalente) entre el colorante y la molécula del sustrato; en otra teoría, el colorante tiende a ser absorbido físicamente, en una sustancia sólida coloidal del tejido (Dempsey y col, 1952). La intensidad de la tinción varía en un rango de pH de 2 a 8. A pH de 8.5 las fibras elásticas están saturadas de tinción (Dempsey y col, 1952). Por otra parte, se cree que la interacción primaria entre el colorante en solución y el tejido elástico se debe a las fuerzas de van der Waals (Bancroft y Stevens, 1990).

En otro contexto, la orceína no contiene metales pesados y esto

permite que las fibras elásticas teñidas destaquen en la tinción negativa para microscopía electrónica (Nakamura y col, 1977). Otro método para detectar la elastina en células y tejidos, lo constituye el uso de anticuerpos solubles e insolubles contra la elastina, acoplados a diversas sondas, que pueden ser usados para calcular la cantidad de dicha sustancia en tejidos, suero y otros fluidos corporales, cuantificando el inmunoprecipitante dado por la síntesis de elastina por células y cultivos de órganos, ó bien para determinar como está localizada la elastina en tejidos intactos y células (Mecham, 1967).

En preparaciones no teñidas de tejido conectivo colágeno laxo, las fibras elásticas son finas de aspecto, refringentes, de 0.2 μ m de diámetro. No son abundantes, pero son fáciles de distinguir de las fibras de colágena (más numerosas), por su diámetro pequeño y su tendencia a ramificarse y a anastomosarse para formar redes laxas. Cuando están presentes en número suficientemente grande, las fibras elásticas comunican su color amarillo al tejido fresco (Fawcett, 1967).

Desde el punto de vista bioquímico las fibras elásticas (lo mismo que las colágenas), son escleroproteínas que se caracterizan por ser insolubles en agua pura, solubles en soluciones acuosas de sales neutras y en solventes orgánicos, no digeribles por tripsina, y pepsina; cuando se hierven en agua se disuelven y se transforman irreversiblemente en gelatina soluble en agua que se digiere con facilidad por enzimas proteolíticas. Sin embargo, la elastina es resistente a la ebullición y a la hidrólisis con ácidos o álcalis

diluidos, en condiciones que destruyen los otros componentes del tejido conectivo. La fibra elástica es digerida selectivamente de los cortes del tejido, cuando es tratada con elastasa pancreática, quedando intactas las células y el colágeno (Correa y col, 1976, Fawcett, 1987).

Las fibras elásticas se componen de mucopolisacáridos y elastina, proteína a la que deben su elasticidad. Las fibras elásticas no tienen la resistencia tensil de las fibras de colágeno, pero sí la capacidad de recuperar la longitud previa de las fibras, al desaparecer la fuerza deformante (Dellmann y Brown, 1976; Weisch y Storch, 1976; Sodeman y Sodeman, 1978). Algunos órganos, en su función normal, deben ceder transitoriamente a fuerzas que se aplican desde fuera o desde dentro del organismo. Para tal función, su tejido conectivo debe tener suficiente elasticidad para recuperar el estado original. Las fibras elásticas pueden ser estiradas hasta su punto de ruptura, alrededor del 150% de su longitud original con una fuerza de sólo 20-30 kg/cm². Cuando las fibras se rompen, sus extremos se retraen y se retuercen (Fawcett, 1987).

La ultraestructura de las fibras elásticas se caracteriza por estar constituida por una sustancia amorfa, de variable opacidad a los electrones, con fibrillas de aproximadamente 10 nm de diámetro, localizadas preferentemente en la periferia de la fibra principal. Se admite una distribución de estas fibrillas al azar, en las fibras no extensibles y una orientación más paralela en las fibras extensibles. Al microscopio electrónico estas fibrillas aparecen

homogéneas y dan muy poco contraste (Dellmann y Brown, 1976, Welsch y Storch, 1976).

Si bien se dice que la elastina es amorfa, se ha hablado recientemente que en micrografías electrónicas de elastina purificada, después de una extracción prolongada con tetraóxido de osmio o peryodato, aparecía una subestructura fibrilar. Se supone que estos tratamientos pueden disolver algunos carbohidratos de la elastina y desenmascarar su estructura fibrilar (Fawcett, 1987). Según estos trabajos, las fibrillas tienen un diámetro de 2 a 4 nm y están densamente agrupadas en disposición paralela.

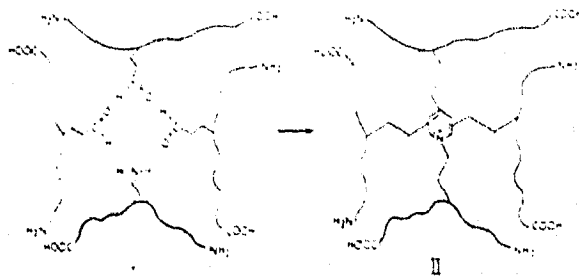
Por otra parte, el microscopio electrónico no muestra bandas periódicas en la fibra elástica y la imagen de difracción con rayos X es diferente de la que caracteriza la familia de la colágena (Sodeman y Sodeman, 1978). El origen de las fibras elásticas no se ha comprobado plenamente, aunque se ha sugerido que provienen tanto de los fibroblastocitos como de los miocitos no estriados, condrocitos y células endoteliales, según el tejido donde se localicen (Sodeman y Sodeman, 1978; Fawcett, 1987; Anderson y Elliot, 1991), bien por una ordenación paralela de las microfibrillas alrededor de la sustancia amorfa, o por fusión de "unidades elásticas", que se componen de una zona central electrolúcida limitada por una membrana densa y rodeada por microfibrillas (Dellman y Brown, 1976).

Al respecto, se ha observado en las células que producen fibras elásticas, que los eventos se inician con la expulsión de la proteína microfibrilar, de tal modo que las microfibrillas se

observan unidas en la vecindad de la célula, alineadas como una estructura semejante al fieltro. Algunos autores llaman a estos componentes fibras de oxitalán o pre-elásticas (Ross, 1973; Krstic, 1985). También se piensa que estos elementos constituyen una molécula precursora, la proelastina o tropoelastina, sintetizada y liberada en la superficie celular (Fawcett, 1987).

Las fibras de oxitalán fueron descubiertas en 1950, usando una tinción a base de paraaldehído-fucsina, después de la oxidación con ácido paraacético, en secciones de cartilago elástico, dando como resultado un color púrpura intenso (Mander y col, 1968).

El 30% de los residuos de aminoácidos de la elastina está formado por glicina y el 11% por prolina. A diferencia del colágeno, la elastina está constituida fundamentalmente por aminoácidos hidrofóbicos no polares, contiene poca hidroxiprolina y carece de hidroxilisina. Es relativamente rica en valina y contiene aminoácidos exclusivos: la desmosina y la isodesmosina, que sirven para establecer enlaces laterales entre las cadenas de polipéptidos (Whiter y Handler, 1983; Uitto, 1989; Orten y Neuhaus, 1990; Dellman, 1993). La enzima lisol-oxidasa cataliza extracelularmente la formación de grupos aldehídos sobre ciertas lisinas. Tres de estos radicales aldehídos se condensan como una cuarta lisina para formar la estructura anular de la desmosinas, las cuales establecen enlaces colaterales entre las cadenas de elastina; (Dellman y Brown, 1976, Fawcett, 1987).



Representación esquemática de la formación de enlaces entrecruzados de desmosina durante la biogénesis extracelular de las fibras elásticas. I.- Tres grupos aldehído derivados de lisinas y una lisina intacta (cada una de ellas formando parte de polipéptidos separados de elastina), son yuxtapuestos durante el acomodamiento de los polipéptidos respectivos. II.- Los cuatro residuos de lisina derivados forman un compuesto de desmosina estable, que une covalentemente los polipéptidos individuales en una estructura fibrosa. NH₂- y -COOH indican los extremos amino-terminal y carboxi-terminal de los polipéptidos de elastina, respectivamente (Uitto, 1989).

El componente microfibrilar de las fibras elásticas difiere mucho de la elastina en su composición de aminoácidos. Contiene menos glicina, carece de hidroxiprolina, de desmosina y de isodesmosina, y está fundamentalmente compuesto de aminoácidos hidrofílicos. Alrededor del 5% del peso de la proteína microfibrilar está formada por azúcares neutros (Whiten y Handler, 1983; Krstic, 1985; Hesse, 1987; Stryer, 1988; Rawn, 1989). No está claro el papel de la microfibrilla en la fibrinogénesis, aunque se piensa que puede

imponer un molde fibroso a la elastina cuando está se va polimerizando. Durante el desarrollo, se depositan primero los haces de microfibrillas en la inmediata vecindad de la superficie de los fibroblastocitos, endotelios, miocitos no estriados, condrocitos u otros elementos mesenquimales (Welsch y Storch, 1976; Sodeman y Sodeman, 1978). La elastina aparece más tarde y llega por último a constituir la masa fundamental de la fibra. Las microfibrillas forman una capa en torno a su superficie o quedan incluidas en su interior en forma de pequeños fascículos (Fawcett, 1987).

Para comprender mejor la funcionalidad de las fibras elásticas, es importante tomar en cuenta su existencia en función de la matriz extracelular, la cual juega un papel fundamental en la síntesis de las fibras elásticas. La matriz extracelular se define como un complejo estable de macromoléculas, que se encuentra debajo de los epitelios y rodea a las células del tejido conjuntivo. La matriz extracelular compleja, formada por la interacción de varias macromoléculas, es el rasgo característico de la multicelularidad. Sólo una matriz que contenga "información" molecular, puede ser capaz de dirigir la migración, adhesión, diferenciación y organización celular. A pesar de las diferencias en cuanto a estructura terciaria, propiedades físicas y contexto biológico, las proteínas de la matriz de los invertebrados, peces, reptiles, aves y mamíferos comparten un plan común de estructuración bioquímica: Una tercera parte de su contenido de aminoácidos es glicina y son ricas en los aminoácidos serina, prolina, treonina y alanina.

Proteínas con grandes disparidades aparentes, por ejemplo, la fibroína, seda y resilina de los invertebrados, así como los colágenos y la elastina humana, comparten este plan común. Aunque es concebible que esta similitud se deba a una convergencia evolutiva, es más probable que el polimorfismo actual esté relacionado con la evolución a partir de un solo gen primordial. La matriz no sólo provee de sostén estructural a los tejidos, sino que también intercambia información con las células, modulando así un conjunto de procesos, que comprende el desarrollo embriológico, la migración, adhesión y diferenciación celular y fenómenos de reparación de tejidos lesionados (Rubin y Farber, 1988; Hay, 1991). La matriz extracelular tiene cinco componentes principales: colágenos, membranas basales, glucoproteínas estructurales, fibras elásticas y proteoglicanos (Rubin y Farber, 1988; Hay 1991). En base a los anterior es ampliamente aceptado que la matriz extracelular comprende una compleja organización que puede influir directamente en la modulación del comportamiento de las células en diversos tejidos (Colombatti y col, 1989; Hay, 1991).

C) FUNCIONALIDAD DE LAS FIBRAS ELÁSTICAS.

Dentro de este tema es importante tener en cuenta la dualidad de las fibras de colágena y las fibras elásticas, las cuales tienen funciones físicas y mecánicas diferentes, pero para mantener la integridad del tejido u órgano en que se localicen y en función de su fisiología y anatomía, realizan un trabajo conjunto (Leuthardt

y Edibacher, 1962; Giese, 1979; White y Handler, 1983; Stryer, 1988; Rawn, 1989; Orten y Neuhaus, 1990).

Las fibras elásticas se encuentran en diferentes órganos y tejidos que requieren tanto de elasticidad, como de fuerza tensil, para realizar sus funciones, por ejemplo: arterias, bronquios, ligamentos elásticos, epiglotis, etc. (Leuthardt y Edibacher, 1962; Giese, 1979, White y Handler, 1983; Stryer, 1988; Rawn, 1989; Orten y Neuhaus, 1990). Como ya se mencionó con anterioridad, la fuerza tensional es provista por miembros de la familia del colágeno, y la capacidad para retroceder después del estiramiento transitorio se debe a las fibras elásticas (Rubin y Farber, 1988). La red de fibras elásticas se alarga o se dobla cuando es sometidas a un esfuerzo, con una flexibilidad excesiva, en ciertas estructuras u órganos, manteniendo así un equilibrio entre la resistencia mecánica y la elasticidad del tejido (Rawn, 1989).

Un ejemplo clásico de esta relación morfofuncional, lo constituye el ligamento nual, que en el mamífero consiste predominantemente de elastina y colágena en una proporción de 4:1, respectivamente, en porcentaje de peso. El mecanismo responsable de la tensión del ligamento, debe ser interpretado en palabras de las propiedades físicas de estas proteínas (Serafini-Fracassini y col, 1977): En la parte central del ligamento nual, las fibras elásticas miden 8 μ m de diámetro y están orientadas longitudinalmente, formando el elemento predominante. Cuando el ligamento nual está bajo un peso determinado, la tensión es transmitida desde las fibras terminales de colágena, a las fibras elásticas cubiertas por vainas de

colágena. Como resultado las cubiertas están alargadas (estiradas) y estrechadas, por causa de una acentuación del ángulo en la espiral que constituye a las fibras colágenas (Serafini-Fracassini y col, 1977).

La naturaleza de esta extensión, interfiere entre la envoltura de colágena y el núcleo elástico, de modo que la fricción entre las fuerzas originadas, es lo suficientemente notable, al transferir una fuerza durante el alargamiento de la elastina, con un valor estudiado mínimo de $2.0 \times 10^4 \text{ N m}^{-2}$ (Serafini-Fracassini y col, 1977). La causa de estas fuerzas compresivas, indica que en cualquier sistema donde el núcleo de elastina sea cilíndrico, y donde su envoltura sea de disposición en espiral (v.g. las fibras de colágena), la fuerza originada por la distensión tiene igual comienzo longitudinal e igual inicio de disminución de diámetro, al grado de producir extensiones más allá de donde el diámetro de la vaina tiende a decrecer más rápidamente que la del núcleo. No obstante, como la envoltura nunca puede ser más estrechada que el núcleo, el diámetro puede ser mantenido solamente por extensión axial de las fibras de colágena o por compresión de la elastina. (Serafini-Fracassini y col, 1977).

D) SITIOS DE LOCALIZACION DE LAS FIBRAS ELASTICAS.

Uno de los tejidos donde se realizaron los primeros estudios para la observación de las fibras elásticas fue el ligamento nucal de los mamíferos domésticos, porque en él se observaron más

fácilmente, por las características de su tamaño y cantidad. En el ligamento amarillo de la nuca, el contenido de la elastina es aproximadamente 5 veces más que el de la colágena (Leuthardt y Edlbacher, 1962; White y Hamdler, 1983). Los ligamentos elásticos prominentes del cuello de los animales en pastoreo son una fuente importante especialmente rica en elastina (Stryer, 1988).

Dada la elasticidad y fuerza tensional requeridas en los grandes vasos sanguíneos para el flujo de la sangre, adquiere una gran importancia la presencia de fibras elásticas en estos órganos, particularmente en la túnica media de estos vasos, v.g., en el arco aórtico, cerca del corazón (Stryer, 1988). En estos vasos, la elastina forma membranas ó láminas fenestradas que se disponen en capas múltiples concéntricas a luz del vaso, y están conectadas unas con otras por ramas oblicuas. Los espacios que hay entre las láminas contienen sustancia fundamental y miocitos no estriados de perfil irregular. En cortes histológicos es difícil distinguir claramente entre la estructura tridimensional de las redes fibrosas elásticas de otros órganos y las membranas elásticas fenestradas que hay en las paredes de los vasos (Fawcett, 1987). Las principales arterias deben su distensibilidad y elasticidad a esta configuración estructural de las fibras elásticas en la pared vascular (Ichimura y Haschimoto, 1982).

También se localizan fibras elásticas en las conexiones del tejido pericapsular del músculo (Ichimura y Hashimoto, 1982). En otros órganos como el útero, piel y pulmón, que requieren de elasticidad y que también tienen que compensar las fuerzas tensionales, se

requiere de las fibras elásticas para cumplir sus funciones (Rubin y Farber, 1988). La piel tiene fibroblastocitos que pueden ser la mayor fuente de fibras elásticas en la dermis (Uitto, 1989). La red de las fibras elásticas es parte estructural importante de la dermis reticular y papilar de la piel humana (Braverman, 1989). Otras estructuras donde se requiere la presencia de fibras elásticas son el cartilago nasal, el epiglótico y el de la oreja, así como en la trompa faringo-timpánica (Petruska y Sandberg, 1968). En estos últimos casos, existe el llamado cartilago elástico, un tejido de sostén rico en fibras elásticas, que se describirá a continuación.

E) CARTILAGO ELASTICO.

Dentro de los tejidos conectivos, existe una variedad especializada en funciones de sostén (Banks, 1985; Fawcett, 1987; Junqueira y Carneiro, 1988; Leeson y col., 1988). Estos tejidos llevan ese nombre porque además de conectar o enlazar otras estructuras, dan forma y resistencia, a veces protección e incluso acción de palanca. Dentro de este tipo de tejidos se clasifican al cartilago y al hueso (Banks, 1985; Cormack y Ham, 1989; Eroschenko y col., 1993).

Con una matriz firme, conformada por proteoglicanos y diversos elementos fibrosos, el cartilago es capaz de funcionar como estructura de sostén (Bacha y Wood, 1990).

Hay tres tipos básicos de cartilagos: hialino, elástico y fibroso

(fibrocartilago) (Lesson y col., 1988; Bacha y Wood, 1990). El tema del presente trabajo lo constituye el cartilago elástico.

a) Características morfológicas.

En forma típica, el cartilago elástico se constituye de un pericondrio que envuelve a una matriz cartilaginosa. El pericondrio posee un componente fibroso (estrato ó capa fibrosa) y uno condrogénico (estrato ó capa condrogénica). La matriz posee los elementos celulares (condrocitos y condroblastocitos), así como la matriz ó sustancia extracelular, compuesta por las fibras y la sustancia fundamental (Fawcett, 1987).

La sustancia fundamental del cartilago elástico se compone principalmente de proteoglicanos y otras glicoproteínas. Al mismo tiempo, la presencia de fibras elásticas en la matriz, con reducción del porcentaje de colágeno, le da cierto grado de flexibilidad (Junqueira y Carneiro, 1987; Lesson y col., 1988).

Conforme las células se diferencian más y van quedando más separadas como resultado de la elaboración de la matriz alrededor de ellas, quedan encerradas en una laguna y adquieren así las características de las células cartilaginosas maduras o condrocitos (Lesson y col., 1988). Los condrocitos pueden producir fibras elásticas, que quedan dispersas en la matriz además, de las fibrillas de colágeno y de la sustancia intercelular no fibrosa (Cormack y Ham, 1989).

Las fibras elásticas forman una red más o menos densa en las porciones más profundas de la matriz y menos abundantes en la

periferia del cartilago, a partir de la cual se les puede seguir hasta el pericondrio circundante (Leeson y col, 1988).

El pericondrio es una capa de tejido conjuntivo colágeno compacto irregular (Fawcett, 1987), derivado originalmente del mesénquima que rodea al tejido cartilaginoso en formación (Leeson y col, 1988); envuelve a todas las piezas del cartilago y mantiene la integridad esencial para la vida de este tejido. Está formado por fibras de colágena en la parte superficial (estrato fibroso), pero gradualmente se torna más rico en células (estrato celular ó condrogénico) a medida que se aproxima al cartilago, (Junqueira y Carneiro, 1987). Morfológicamente, las células del pericondrio son semejantes a los fibroblastocitos y son consideradas así por la mayoría de los autores, aunque en una etapa de diferenciación posterior, ya más semejantes a la célula cartilaginosa típica y con producción activa de los elementos de la matriz, se les denomina condroblastocitos (Kretic, 1985; Junqueira y Carneiro, 1987). En el pericondrio fibroso hay vasos sanguíneos y nervios, procedentes del tejido conectivo colágeno laxo vecino (Leeson y col., 1988). El tejido cartilaginoso crece inicialmente de manera intersticial, pero el aumento de la solidez de la matriz hace más difícil este tipo de crecimiento y entonces, el incremento en tamaño de la lámina cartilaginosa se produce por el depósito de nuevas capas de cartilago en la periferia, dando un tipo de crecimiento llamado por aposición o exógeno, resultado de la actividad en la capa interna del pericondrio (Leeson y col., 1988). De este modo, los fibroblastocitos del pericondrio se multiplican por división, y

algunos se transforman en condroblastocitos que se rodean de sustancia intercelular (Leeson y col., 1988). Los condrocitos que se encuentran en las capas del cartilago inmediatamente por debajo del pericondrio poseen lagunas de perfil eliptico, con el eje mayor paralelo a la superficie, mientras que en capas más profundas son semicirculares o angulares (Fawcett, 1987). Las células del cartilago vivo suelen adaptarse a la forma de las lagunas que ocupan, llenándolas totalmente, pero la fijación y la deshidratación pueden separarlas de la pared de la laguna de tal manera que toman un aspecto estrellado (Fawcett, 1987, Junqueira y Carneiro, 1987). Las células maduras del cartilago de los vertebrados superiores casi nunca tienen prolongaciones visibles al microscopio de luz, pero en las micrografías electrónicas, su superficie es muy irregular (Fawcett, 1987). La superficie celular está salpicada irregularmente de procesos similares a microvellosidades arreglando los procesos de las microfibrillas (Nielsen y Bytzer, 1979). Con una longitud de 0.3 a 1.0 μm y con un diámetro de 0.2 a 0.3 μm , algunos de estos procesos están bifurcados o se observan hinchados en las puntas; el conjunto de procesos están arreglados tangencialmente en relación a la laguna (Nielsen y Bytzer, 1979).

En relación a las características de los condrocitos, tenemos que su núcleo es redondo u ovalado y contiene uno o varios nucleolos, según la especie. Hay un centro celular yuxtánuclear, con un par de centriolos y un aparato reticular interno (de Golgi) bien desarrollado (Fawcett, 1987). El citoplasma que lo rodea contiene

mitocondrias alargadas, gotas de lípidos, y de vez en cuando contiene cantidades variables de glucógeno (Fawcett, 1987). Cuando se está formando la matriz en el cartilago en crecimiento o regeneración, el citoplasma se hace basófilo y la región del aparato reticular interno se hace extraordinariamente grande (Fawcett, 1987). En estas condiciones de crecimiento activo, micrografías electrónicas muestran un retículo endoplasmico rugoso (RER) bien desarrollado con cisternas moderadamente dilatadas (Fawcett, 1987). Los sáculos del aparato reticular interno tienden a dilatarse y hay numerosas vacuolas asociadas de tamaño variable, que en ocasiones contienen filamentos o gránulos. Unas vacuolas parecidas se encuentran también en la superficie celular, donde parecen estar descargando su contenido en la matriz de alrededor (Fawcett, 1987).

Se observa en pocos sitios la fusión entre la célula y la pared de la laguna, consistiendo ésta de fibras interdigitadas y conectadas a los procesos de las microvellosidades en la superficie de la célula (Nielsen y Bytzer, 1979). En las observaciones con el microscopio electrónico se muestran depresiones y salientes en la superficie celular, en un número mayor y más frecuente en los condrocitos jóvenes. Esta disposición aumenta la superficie de los condrocitos, facilitando los cambios con el medio extracelular, lo que es importante para la nutrición de la célula, tan alejada del torrente sanguíneo (Junqueira y Carneiro, 1987). Estas células tienden a formar pequeños grupos, cada uno se llama isogenico, y representa la descendencia de un condrocito único que sufrió varias

divisiones mitóticas en el curso del crecimiento intersticial del cartilago. Estos grupos pueden ser de 2 hasta 8 células (Fawcett, 1987, Junqueira y Carneiro, 1987). La matriz que rodea inmediatamente a cada grupo isogénico de células suele teñirse más intensamente que el resto. Este ribete fuertemente basófilo se llama matriz capsular o anillo territorial, mientras que las áreas menos basófilas situadas entre los grupos celulares se llaman matriz intercapsular o interterritorial (Nielsen y Bytzer, 1979; Fawcett, 1987).

El anillo territorial está formado por zonas de fibras elásticas arregladas en paralelo con muy pocos cruces de fibras (Nielsen y Bytzer, 1979). Por otra parte, en la matriz interterritorial se observan pequeños glóbulos de diámetro de 110 a 180 nm, en cuyo interior no se observó ninguna estructura específica en estos glóbulos) (Nielsen y Bytzer, 1979). En la ultraestructura de la fibra, se observaron pequeñas protuberancias circulares, dando así una apariencia fina moteada, con 15 nm de ancho y un espacio de 120 a 190 nm, adoptando formas regulares de crestas perpendiculares, en el eje largo de la fibra a intervalo de 12 a 19 nm. Las estructuras globulares se encuentran más o menos incorporadas, dentro de las fibras, o agregadas a la superficie; estos glóbulos podrían ser "gránulos de la matriz", consistentes de agregados de proteoglicanos citados por Thyberg (1977) (Nielsen y Bytzer, 1979).

b) Origen embriológico.

El cartilago elastico se desarrolla a partir del mesénquima, en las zonas en las que ha de establecerse posteriormente el cartilago (Lesson y col., 1988). En la histogenesis del cartilago elastico en el embrión, se desarrolla primero un tejido conjuntivo primitivo, que contiene fibroblastocitos y haces fibrilares, que no dan las reacciones características ni del colágeno ni de la elastina. Estas fibras indiferentes adquieren más tarde las características tintoriales de la elastina (Fawcett, 1987). En relación a la fibrogenesis temprana del cartilago elastico, en la rata, se han podido determinar 4 etapas, en cada una de las cuales hace su aparición un nuevo componente (Bradamante y col, 1991):

- 1) FIBRAS DE COLAGENA (RETICULINA), es una delicada red de fibras que se pueden apreciar en fetos de rata de 16 días de edad.
- 2) FIBRAS DE OXITALAN (PREELASTICAS), primero aparecen solas, en embriones de 16 días y abundan como una red, en fetos de 18 días.
- 3) FIBRAS ELASTICAS, apreciables después del primer día de nacimiento, con un buen desarrollo de una red; a los 12 días hay una elastogenesis completa en la oreja.
- 4) SUSTANCIA FUNDAMENTAL DEL CARTILAGO, depósito apenas detectable metacromáticamente entre los 4 y 6 días posnatales, la condricificación en la placa cartilaginosa se completa a las 3 semanas.

En general, se sabe que las células segregan matriz en torno de ellas, pasan a tener aspecto de condrocitos y, al igual que en el cartilago hialino, se forma un pericondrio que inicia el

crecimiento aposicional (Fawcett, 1987).

c) Histofisiología.

En forma clásica se describe la matriz del cartilago como avascular, o sea que no contiene vasos sanguíneos. La única sangre que recibe el cartilago proviene de los vasos sanguíneos que se encuentran en la capa interna del pericondrio (Junqueira y Carneiro, 1987, Leeson y col., 1988). Los vasos y nervios penetran al pericondrio desde el tejido conectivo vecino. De este modo, para su nutrición, los condrocitos dependen de la difusión de sustancias nutritivas a través de la matriz, procedentes de los capilares localizados en el pericondrio. De manera semejante, los productos de desecho deben difundirse de las células hacia la capa vascular del pericondrio (Junqueira y Carneiro, 1987; Leeson y col., 1988). El tejido cartilaginoso está así desprovisto de vasos sanguíneos y nervios, y su metabolismo es bajo (Junqueira y Carneiro, 1987). El cartilago tiene la capacidad de crecer rápidamente, mientras mantiene un grado muy considerable de firmeza (Fawcett, 1987), esto, junto con las propiedades coloidales de su matriz, muy importantes para la nutrición de sus células, son en gran medida responsables de su dureza y elasticidad (Fawcett, 1987)

d) Localización.

Este tipo de tejido conecta o enlaza a otras estructuras, dándoles forma y resistencia, a veces protección e incluso acción de palanca (Frandsen y Whitten, 1985). En los mamíferos, el cartilago elástico

se encuentra en diversos órganos, como el oído externo (oreja), la trompa faringo-timpanica, la epiglotis y los cartilagos corniculado y cuneiforme de la laringe, y algunos bronquios pequeños (Grau y Walter, 1975; Cormack y Ham, 1965; Frandson y Whitten, 1965; Fawcett, 1987; Junqueira y Carneiro, 1987; Leeson y col., 1988). En los animales se especula bastante acerca de las propiedades de la elastina en el cartilago de la oreja, que podría ser de importancia por la habilidad de muchos animales de dirigir el oído externo hacia el origen del sonido, necesitando un alto grado de flexibilidad en su apéndice, además de la actividad muscular extrínseca; esta teoría sugiere además que la elastina participa indirectamente en el sistema que modifica el sonido, dada la consistencia que brinda al cartilago de la oreja, facilitando la propagación de los sonidos al interior del canal auditivo (Keith y col, 1977).

F) ANATOMIA Y FISILOGIA DE LA EPIGLOTIS.

Puesto que la estructura de estudio del presente trabajo lo constituye la epiglotis, a continuación se dan algunas consideraciones de interés al respecto:

a) Anatomía e histología.

Esta estructura es impar, tiene forma de una hoja lanceolada con la punta roma (Getty y col. 1982). La epiglotis está situada caudalmente a la base de la lengua y el hueso basihiloideo, y rostral

a los cartílagos tiroideos y aritenoides (Getty y col, 1982). La epiglotis presenta dos superficies (lingual y laríngea), dos bordes, una base gruesa y un vértice. La superficie lingual es cóncava en su trayecto longitudinal, convexa transversalmente y con su cara dirigida hacia la base de la lengua. La superficie laríngea es convexa en el sentido longitudinal, cóncava en el transversal y con su cara situada dorsocaudalmente (Getty y col, 1982). Ambas superficies presentan una túnica mucosa, la cual posee un epitelio estratificado escamoso no cornificado (excepto en el ser humano, que presenta un epitelio pseudoestratificado columnar ciliado con exocriocitos caliciformes en la superficie laríngea) y una lámina propia de tejido conectivo colágeno laxo, rica en glándulas salivares menores (Banks, 1986; Bacha y Wood, 1993; Eroschenko y col, 1993). En su porción central presenta una placa de cartilago elástico (cartilago epiglótico) (Eroschenko y col, 1993), cuyas fibras aparecen más fragmentadas que las que se localizan en la oreja (Keith y col, 1977). El vértice de la epiglotis termina en punta en el caballo, la cabra, el perro y el gato; está redondeada en el toro, la oveja y el cerdo; se relaciona dorsalmente con la parte caudal del paladar blando (Getty y col, 1982). Es la epiglotis la única estructura en el que son numerosas las perforaciones de su placa de cartilago, por gran número de glándulas salivares menores (Keith y col, 1977; Getty y col, 1982).

b) Fisiología.

Esta estructura es importante por la estrecha relación anatómica y fisiológica que existe a este nivel, entre los sistemas digestivo y respiratorio (Brobeck y col, 1981; Getty y col, 1982, Bowman y Rand, 1984). La epiglotis es importante para la protección de la vía del paso del aire en las vías aéreas superiores y para la modificación del sonido (Keith y col, 1977). Todos los animales son capaces de tragar y respirar simultáneamente, pero el ser humano ha perdido tal habilidad y debe cerrar el paso del aire con la epiglotis en el momento de tragar, por lo que no es difícil imaginar que las propiedades de la elastina del cartilago epiglótico son fundamentales para que esta estructura lleve a cabo su función (Keith y col, 1977).

La primera etapa de la deglución, lo mismo que la masticación, pueden ser iniciadas voluntariamente, aunque en condiciones normales es un acto reflejo. La segunda y tercera etapas son totalmente involuntarias (Brobeck y col, 1981). Al igual que la masticación, la deglución puede producirse por el estímulo de áreas adecuadas de la corteza cerebral o por estimulación de receptores locales, aún en sujetos descerebrados. Los receptores para la iniciación del reflejo de deglución están situados en las proximidades de la entrada de la orofaringe en todos los animales, pero su distribución es algo diferente según las especies (Brobeck y col, 1981). Las fibras nerviosas eferentes que intervienen en el acto de la deglución se originan en los nervios hipogloso, glosofaríngeo y vago. Los nervios hipogloso y glosofaríngeo están

vinculados principalmente en la etapa bucofaringea (Brobeck y col, 1981). De este modo, aunque situados diferentes, el centro de la deglución está íntimamente relacionado con el centro respiratorio (Brobeck y col, 1981). En la primera parte del acto de la deglución la boca se cierra y la lengua se eleva contra el paladar duro, de manera que el bolo alimenticio es impulsado hacia atrás a la faringe, provocando estimulación de los receptores de estiramiento en la pared faringea e iniciando diversos reflejos (Bowman y Rand, 1984). Las vías nasales se cierran al elevarse el paladar blando y la entrada de la tráquea se cierra por desplazamiento hacia abajo de la epiglotis y hacia arriba de la tráquea; una onda de contracción se dirige hacia abajo en dirección de la faringe y el extremo faringeo del esófago se relaja para admitir el bolo (Bowman y Rand, 1984). Esto impide el paso del bolo alimenticio hacia los pulmones, que causaría asfixia o muerte neumónica por aspiración (Brobeck y col, 1981).

OBJETIVOS

A) GENERAL:

Describir histológicamente al cartilago elástico de la epiglotis de tres especies domésticas: canideo (*Canis familiaris*), suino (*Sus scropha*) y ovino (*Ovis ovis*), con especial énfasis en las fibras elásticas de este tejido.

B) PARTICULARES:

a) Determinar las diferencias histológicas del cartilago elástico de la epiglotis, entre las tres especies consideradas.

b) Relacionar la morfología de las fibras elásticas del cartilago epiglótico de cada una de las especies citadas, con la edad de los animales muestreados.

MATERIAL Y METODOS.

El presente trabajo se llevó a cabo en el laboratorio de Histología (antes Histología/Histopatología) de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán (U.N.A.M.), ubicado en el edificio L-7, planta alta.

La metodología a seguir en este trabajo ha sido dividida en 4 partes, a saber:

- A) Recolección y procesamiento de muestras histológicas.
- B) Coloración de preparaciones histológicas obtenidas.
- C) Observación e interpretación al microscopio óptico.
- D) Toma de fotografías.

A continuación se hará un desglose de las actividades anteriores:

A) RECOLECCION Y PROCESAMIENTO DE MUESTRAS HISTOLOGICAS.

Las muestras de epiglotis de las especies consideradas fueron recolectadas en el Area de perreras de la Sección de Ciencias Morfológicas de la F.E.S. Cuautitlán, y en el Rastro Municipal de Tlaine pantla, Estado de México. El procedimiento fue el siguiente: Inmediatamente después de la muerte del animal, se cortó el órgano completo desde su base y, en el caso de los animales de mayor tamaño, se realizó un corte completo por el plano mediano, para

obtener así dos porciones de la estructura. Las muestras así obtenidas se lavaron en agua y se fijaron por inmersión en formalina neutra al 10% (Luna, 1963).

Se obtuvieron muestras de epiglotis de las tres especies consideradas, de acuerdo al siguiente cuadro:

ESPECIE	EDADES	# DE MUESTRAS
Canídeo	1 mes	10
	6 meses	10
	1 año	10
	2-3 años	10
	5 años o más	10
	<u>Total:</u>	50
Ovino	1 mes	3
	6 meses	10
	1 año	10
	2 años	8
	3 años o más	9
	<u>Total:</u>	40
Suino	1 mes	10
	6-12 meses	20
	<u>Total:</u>	30

Las muestras recolectadas fueron procesadas para su estudio histológico por la siguiente variante del método de inclusión en

parafina (Luna, 1963):

PASOS	TIEMPO	SOLUCION
<u>Deshidratación</u>		
1	1 hora	Alcohol 70%
2	1 hora	Alcohol 80%
3	1 hora	Alcohol 95%
4	1 hora	Alcohol 100%
5	1 hora	Alcohol 100%
6	2 horas	Alcohol 100%
<u>Aclaramiento</u>		
7	1 hora	Xileno.
8	1 hora	Xileno.
9	2 horas	Xileno.
<u>Infiltración en Parafina.</u>		
10	2 horas	Parafina.
11	2 horas	Parafina.

A partir de los bloques obtenidos después de la infiltración y la inclusión de las muestras, se obtuvieron cortes con el microtomo de 5 μ m de grosor.

Es importante señalar que de cada bloque de parafina obtenido (correspondiente a cada muestra), se realizaron de 3 a 12 cortes semi-seriados, obteniéndose en promedio 75 cortes de cada edad considerada, para cada especie.

El material requerido en esta etapa del trabajo fue el siguiente:

1) Equipo.

Histokinette (American Optical Co., tipo E-7326)

Mechero Bunsen

Jarra de aluminio de 500 ml

Rejilla de inclusión

Microtomo (American Optical Co., Mod. 320)

Afilador de cuchillas (American Optical Co., Mod. 926)

Cuchillas de corte para microtomo.

Baño de flotación de tejidos (Chicago Surgical & Electrical Co.)

Platina térmica (Clinical Scientific Equipment Co.)

Pinzas de disección

Portaobjetos

Cubreobjetos

Bisturi No. 4 con hoja No. 24

Balanza de triple brazo (Ohaus Scale Corp.)

Estufa bacteriológica (Casa Ríos)

2) Cristalería.

Vasos de precipitado de 1000 ml.

3) Reactivos.

Formalina neutra al 10%.

- 1) Formaldehido al 37-40% 100.0 ml
 - 2) Agua destilada 900.0 ml
 - 3) Fosfato monobásico de sodio 4.0 g
 - 4) Fosfato dibásico de sodio (anhidro)..... 6.5 g
- Alcohol etílico a concentraciones porcentuales de 80°, 95° y 100°
- Xileno
- Parafina para inclusión
- Grenetina

B) COLORACION DE PREPARACIONES HISTOLOGICAS OBTENIDAS.

Las coloraciones utilizadas fueron las siguientes:

a) Método de orceína de Tánzer-Unna (Clark, 1973).

Con este método, las fibras elásticas se tiñen de café intenso a púrpura, los núcleos de azul brillante a oscuro, y el resto de tejido conectivo de café pálido.

1) Preparación del colorante.

- Orceína natural1.0 g
- Alcohol 70 % 100.0 ml
- Acido clorhídrico concentrado..... 1.0 ml

2) Método de tinción.

- Se filtró la solución de orceína y se calentó con los cortes histológicos (previamente desparafinados en xileno e hidratados en alcoholes graduales descendentes) en cajas

de Koplin, en una estufa bacteriológica a 56-60°C, durante un tiempo que dependió de la muestra trabajada (según la especie): canideos 90 min, suinos 1 h y ovinos 40 min.

- Se lavaron los cortes con alcohol al 70%, durante 10 seg.
- Después se lavaron con agua destilada, para remover todo el exceso de ácido y colorante, durante 15 seg.
- Se diferenciaron y deshidrataron en alcohol al 95%, seguido de alcohol absoluto.
- Se aclararon con xileno y se realizó su montaje utilizando resina sintética.

b) Método de Hematoxilina y Eosina (Luna, 1963)

Esta técnica no es específica para fibras elásticas, sin embargo, se incluye como control para la técnica anterior. Con H. E. las fibras elásticas se tiñen débilmente de rosa (Cormack y Ham, 1989; Fawcett, 1987; Junqueira, 1988), la colágena de rosa más o menos intensa y los núcleos de color morado.

1) Preparación de soluciones colorantes.

Hematoxilina de Harris

Cristales de hematoxilina.....	5.0 g
Alcohol 100%.....	50.0 ml
Sulfato de amonio y/o aluminio/potasio	100.0 g
Agua destilada.....	1000.0 ml
Oxido de mercurio (rojo).....	2.5 g

Eosina alcohólica al 1%

Solución stock:

Eosina Y, soluble en agua..... 1.0 g

Agua destilada..... 20.0 ml

Disolver y agregar:

Alcohol 95%..... 80.0 ml

Solución stock de eosina..... 1 parte

Alcohol 80%..... 3 partes

Agregar 0.5 ml de ácido acético glacial a cada 100 ml del colorante, antes de ser usado.

2) Método de tinción.

- Los cortes se desparafinaron y rehidrataron secuencialmente en xileno, alcohol absoluto, alcohol 96°, 90°, 80°, 70° y 60° y agua bidestilada.
- Se tiñeron durante 10 minutos en Hematoxilina de Harris.
- Se enjuagaron en agua corriente.
- Se diferenciaron en alcohol ácido, durante unos segundos, y se revisó la diferenciación en el microscopio; los núcleos podían ser claros u oscuros con respecto al fondo.
- Se lavaron en agua corriente por espacio de 5 min.
- Se viraron en agua amoniacal (6 con carbonato de litio) hasta obtener un color azul nítido.
- Se lavaron en agua corriente por 5-10 min.

- Se tiñeron con eosina por 3-5 min.
- Se deshidrataron en alcohol al 95% y despues en alcohol absoluto hasta remover el exceso de eosina; se hicieron dos cambios de 2 min. y se revisó en un microscopio compuesto de campo claro el tono obtenido.
- Se deshidrataron en alcohol absoluto; se hicieron dos cambios de 3 min. cada uno.
- Se aclararon en xileno; 2 cambios de 10 min. cada uno.
- Se realizó su montaje, utilizando resina sintética.

c) Método de Van Gieson (Luna, 1963).

Esta tinción se usó como control, ya que colorea selectivamente las fibras de colágena de color rosa intenso a rojo, mientras que el resto de las estructuras tisulares se observan café pálido.

1) Preparación del colorante.

Hematoxilina férrica de Weigert.

Solución A:

Cristales de hematoxilina 1.0 g
 Alcohol al 95% 100.0 ml

Solución B:

Cloruro férrico al 29% (acuoso) 4.0 ml
 Agua destilada 95.0 ml
 Acido clorhidrico concentrado 1.0 ml

Para uso en partes iguales de las soluciones A y B:

Solución de Van Gieson.

Fucsina Ácida al 1% (acuosa) 2.5 ml
Acido pícrico saturado (acuoso) 97.5 ml

2) Método de tinción:

- Los cortes se desparafinaron en xileno, se hidrataron utilizando alcoholes de mayor a menor concentración, y finalmente se llevaron hasta agua bidestilada.
- Se tiñeron 10 min en la solución de hematoxilina de Weigert.
- Se lavaron brevemente en agua destilada.
- Se tiñeron 1-3 min en la solución de Van Gieson.
- Se deshidrataron en dos pasos de alcohol al 95% y dos en alcohol absoluto, 2 min. cada uno, y se aclararon con xileno, dos cambios de 10 min. cada uno.
- Se realizó el montaje de los cortes, utilizando resina sintética.

De cada bloque, se tiñeron de forma alternada los cortes obtenidos, con los métodos de Tánzer-Unna y H. E. Asimismo, de cada bloque se coloreó un corte con el método de Van Gieson.

Además de los reactivos arriba indicados, el material necesario para la coloración de las preparaciones histológicas obtenidas fue el siguiente:

1) Equipo.

Agitadores magnéticos

Magnetos

Báscula

Papel filtro

Espatula

Microscopio compuesto binocular de campo claro (Carl Zeiss Co.)

2) Cristalería.

Probeta de 100 ml

Matraz de 250 ml

Vasos de precipitado de diversa capacidad

Vasos de Koplín

Cajas para tren de coloración

Canastillas para coloración

Embudos

Frascos de cristal ámbar con tapón esmerilado

C) OBSERVACION E INTERPRETACION AL MICROSCOPIO OPTICO.

Las preparaciones histológicas obtenidas fueron observadas para su estudio morfológico en un microscopio compuesto de campo claro utilizando los objetivos de 4x, 10x, 40x y 100x.

El material necesario para esta operación fue el siguiente:

1) Equipo.

Microscopio compuesto tetraocular de campo claro (American

Optical Co.), con transformador para fuente de luz.

Aceite de inmersión

Papel para limpiar lentes

D) TOMA DE FOTOGRAFÍAS.

Esta operación se llevó a cabo para la preservación de los datos obtenidos y para facilitar la difusión de los mismos. La toma de fotografías se realizó en la Unidad de Microscopía Electrónica, del Departamento de Física del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del I.P.N. Se utilizaron lentes oculares de 10x y lentes objetivas de 3.2x, 10x y 40x. El factor de corrección del optovar (adaptador fotográfico para el microscopio) es de 2.5 y el factor de corrección del negativo fotográfico es de 0.25. Las impresiones de los negativos fueron ampliaciones 4x cuando se utilizó la lente objetiva de 3.2x, y ampliaciones 3x cuando se utilizaron las lentes objetivas de 10x y 40x.

Para este paso se utilizó lo siguiente:

1) Equipo.

Multimicroscopio compuesto binocular de campo claro, contraste de fases, interferencia y fluorescencia (Carl Zeiss, Co.).

Cámara fotográfica reflex (Winder Co., Mod. M 35).

Exposímetro (Carl Zeiss, Co., Mod. MC 63)

Regulador de fuente de luz (Carl Zeiss Co.)

Película para impresión Kodak (Ektacolor Gold 160 135-36)

RESULTADOS

A) CANIDEOS.

Hematoxilina y eosina.

Desde el punto de vista histológico, la epiglotis de los canideos consta de una mucosa que envuelve al órgano, y una placa subyacente de cartilago elástico (cartilago epiglótico), que rodea totalmente a un cojinete central de tejido adiposo.

a) Mucosa.

En los canideos estudiados, con edades fluctuantes entre 1 mes y cerca de 10 años, esta túnica no presenta cambios relevantes en su estructura. La mucosa recubre a la epiglotis, desde la base hasta el Apice del órgano. Presenta así 2 caras ó superficies: 1) cara lingual, que se extiende desde la base de la epiglotis, como continuación extrema de la mucosa dorsal lingual, hasta el Apice del órgano. 2) cara laríngea, que se proyecta desde el Apice hasta la base de la epiglotis, y se continúa insensiblemente con la mucosa laríngea. Tanto en la superficie lingual como en la laríngea, la mucosa de la epiglotis presenta 2 componentes: **epitelio y lámina propia.**

Epitelio. Este es de tipo estratificado escamoso no cornificado, el cual es más grueso y con crestas en la cara lingual, siendo más delgado en la cara laríngea, donde no forma crestas. Sin embargo, a diferencia de lo reportado en el ser humano, este epitelio nunca se transforma en epitelio de tipo respiratorio en todo lo largo de la cara laríngea, siendo invariablemente estratificado, aún cuando presenta sólo 6 capas de células (un estrato basal y un espinoso, más 3 capas de células escamosas) en sus porciones más delgadas; ocasionalmente se observaron en ambas caras algunas yemas gustativas.

Lámina propia. Esta es de tejido conectivo colágeno laxo, rica en vasos sanguíneos y pequeños fascículos nerviosos, a nivel de la cara laríngea, con gran número de glándulas de tipo seroso, mucoso o seromucoso. En la cara lingual este tejido es más laxo que en la cara laríngea, con infiltración de tejido adiposo blanco, especialmente hacia la base de la epiglotis, donde también se observa parte del músculo estriado esquelético derivado de la lengua. De hecho, en los perros más desarrollados se observa como este músculo se interpone entre la lámina propia y el pericondrio, de tal modo que el epitelio y la lámina propia se engrosan y forman crestas y papilas altas. Por otra parte, en la epiglotis esta lámina propia se continúa insensiblemente con el pericondrio fibroso del cartilago elástico subyacente.

b) Cartilago epiglótico.

A diferencia de la túnica mucosa, el cartilago epiglótico presenta cambios importantes en relación a la edad de los individuos estudiados.

En perros de 1 mes de edad, debajo de la lámina propia se encuentra una delgada placa de cartilago elástico, tanto a nivel de la cara lingual como laringea. A su vez, esta placa de cartilago envuelve a un cojinete central de tejido adiposo blanco, característico de la epiglotis de los carnívoros. Este cartilago posee un pericondrio típico, conformado por un estrato fibroso, rico en fibroblastocitos, y un estrato condrogénico, con condroblastocitos aplanados u ovoides. A partir de este pericondrio, se derivan ocasionalmente una especie de trabéculas de tejido conectivo colágeno compacto irregular, que atraviesan la matriz cartilaginosa hasta llegar al tejido adiposo central e inclusive pueden llegar a contactar con el pericondrio de la placa cartilaginosa de la cara opuesta. Este pericondrio es rico en vasos sanguíneos, y las trabéculas que derivan de él llevan dichos vasos hasta el tejido adiposo central. Esto es interesante desde el punto de vista morfofuncional, ya que este cartilago pareciera no ser tan avascular como el cartilago hialino clásico.

En relación a la matriz cartilaginosa, esta tiene un grosor variable, tendiendo a adelgazarse hacia la base (sobre todo del lado lingual) y hacia el ápice de la epiglotis, donde parece transformarse gradualmente en tejido conectivo de aspecto mesenquimatoso, con gran número de células semejantes a

fibroblastocitos. En la matriz propiamente dicha, se observan abundantes condrocitos y condroblastocitos dentro de sus respectivas lagunas, con gran proporción de grupos isogénicos. También se observan entre la población de condrocitos, células semejantes a fibroblastocitos y fibrocitos, cuyo número parece aumentar conforme la placa se adelgaza en las zonas referidas, ó conforme se aproxima su límite con el tejido adiposo subyacente. Por otra parte, entre las lagunas se distinguen fibras elásticas birrefringentes, de color rosa pálido y grosor variable, que en ocasiones atraviesan totalmente la matriz cartilaginosa, desde el pericondrio hasta el tejido adiposo subyacente.

En relación al cojinete adiposo central, este es abundante y rico en vasos sanguíneos, los cuales provienen del pericondrio y lámina propia de la mucosa. Además de los adipocitos uniloculares típicos, se encuentran fibroblastocitos y fibrocitos. Se observan las trabéculas derivadas del pericondrio y casi siempre atraviesan el cojinete de lado a lado. Hacia el ápice de la epiglotis el cojinete adiposo tiende a desaparecer y se transforma gradualmente en el tejido conectivo de aspecto indiferenciado que ocupa esa región, bajo la lámina propia. Hacia la base del órgano, el tejido adiposo es muy abundante, contactando con la lámina propia de la cara lingual y con la mucosa laríngea del lado opuesto. Asimismo, puede contactar con el cartilago tiroideo (de tipo hialino), situado caudalmente a la epiglotis.

En perros de 6 meses de edad, la placa cartilaginosa tiende a engrosarse en algunas áreas, si bien otras parecen tener más tejido

adiposo. El cartilago de estos individuos tiende a adoptar en las zonas más anchas un color rosa más intenso y obscuro, con lagunas cartilaginosas bien diferenciadas, y sin la presencia de las células con aspecto de fibroblastocitos. En uno de 10 individuos estudiados, se encontraron zonas de cartilago en degeneración: lagunas vacías ó con condrocitos con núcleo picnótico, matriz cartilaginosa fracturada y de tonalidad más basófila. Estas zonas estaban rodeadas por una cápsula delgada de tejido conectivo ordinario, que las separaba no sólo del cartilago de aspecto normal, sino en ocasiones, del tejido adiposo circundante.

En perros de 1 año de edad, las placas de cartilago de ambas caras del órgano tienden a ensancharse notoriamente, disminuyendo un poco la cantidad de tejido adiposo. Asimismo, la matriz de las zonas más anchas está perfectamente diferenciada, de tonalidad rosa a lila, con abundantes lagunas y condrocitos, así como fibras elásticas gruesas y delgadas, siempre birrefringentes y de color rosa pálido. En uno de 10 individuos estudiados se hallaron algunas zonas de cartilago en degeneración, semejantes a las descritas.

En perros de 2 a 3 años, hay un mayor ensanchamiento de las placas de cartilago, especialmente de la placa de la cara laríngea. La distribución del cartilago permite la formación de puentes de tejido cartilaginoso, que se derivan desde ambas placas hacia el tejido adiposo del centro. Este cartilago parece estar delimitado del tejido adiposo por una delgada capa de pericondrio. La matriz cartilaginosa es de aspecto bien definido, de tono basófilo, con abundantes lagunas y condrocitos. Las fibras elásticas parecen

menos abundantes, pero son de mayor grosor.

Por otra parte, las zonas de cartilago en degeneración aparecen ya en varios individuos, e inclusive se denotan algunas regiones con un tejido semejante a cartilago fibroso, con pocas lagunas y gran número de células semejantes a fibroblastocitos, inmersos en una matriz de aspecto homogéneo y color rosa grisáceo. También se observan en esta zona algunos adipocitos aislados ó en pequeños grupos de 3 ó 4 células.

En perros de 5 años ó más, el aspecto general del cartilago y el cojinete adiposo es semejante al arriba descrito, pero las zonas de degeneración cartilaginosa son más abundantes y las regiones con cartilago de aspecto fibroso, se observaron no sólo en mayor número, sino con mayor amplitud, ocupando a veces gran parte de la zona central del órgano, a nivel intermedio entre la base y el ápice.

Tänzer-Unna.

Con este método se observa con cierto detalle la estructura histológica de la epiglotis, si bien la técnica está descrita como específica para elastina. El color observado en las estructuras histológicas es de un color marrón pálido, mientras que las estructuras ricas en elastina (v.g. fibras elásticas) se tiñen con un color marrón a púrpura intenso.

Siendo el interés de nuestro trabajo el estudio de las fibras elásticas del cartilago epiglótico, y puesto que no se detectaron

características notables en la mucosa del órgano con esta técnica, nos limitaremos a describir los aspectos estructurales del cartilago epiglótico en cuestión.

En perros de 1 mes de edad, la matriz cartilaginosa, de color marrón pálido, presenta abundantes fibras elásticas, de un color marrón intenso. Se distinguen 2 tipos generales de fibras, unas delgadas y sinuosas que tienden a ramificarse, disponiéndose entre las lagunas de condrocitos, y otras gruesas, que a veces tienden a fragmentarse y parecen sobreponerse a las lagunas, además de rodearlas. Ambos tipos de fibras presentan un trayecto ondulado. El pericondrio presenta muy pocas fibras, y éstas son de aspecto delgado, al parecer derivadas de la matriz.

Es interesante mencionar que las fibras no sólo están limitadas a la matriz cartilaginosa, sino que están presentes también (y de grosor variable) en las trabéculas de tejido conectivo que atraviesan el tejido adiposo de lado a lado del órgano, así como en el tejido conectivo de aspecto indiferenciado que se localiza en el ápice del órgano, donde las fibras son muy abundantes. En este último tejido, a gran aumento es posible distinguir que en gran parte de los fibroblastocitos presentes, hay vacuolas de un material de aspecto espumoso, ó bien totalmente vacías, lo que podría indicar la presencia de grasa. De ser así, la acumulación de grasa en estas células, visible en diferentes grados, desde células con algunas vacuolas hasta células adiposas diferenciadas totalmente, permite suponer que esta línea de fibroblastocitos sea preadipocítica.

En perros de 6 meses de edad, las placas de cartilago, aunque de mayor grosor, parecen tener una cantidad semejante de fibras, en relación a los perros de un mes. El resto de las características son semejantes a las ya descritas. En el individuo que presentó las zonas degenerativas de la matriz, estas se pigmentaron de un color marrón ó púrpura intenso, disminuyéndose el detalle celular.

En los perros de un año de edad, el aspecto de las fibras elásticas es muy semejante al ya descrito, si bien parece ser que la cantidad de fibras delgadas es mayor que el de las fibras gruesas, formando incluso unas redes densas en la matriz del cartilago. Respecto a las zonas de degeneración cartilaginosa, éstas fueron de caracter similar al ya descrito; en aquellas zonas de este tipo que se pigmentaron un poco menos, parece ser que hay menor cantidad de fibras elásticas. Por otra parte, en dos individuos más, se detectaron algunas zonas de matriz cartilaginosa, de aspecto normal con H. y E., con una coloración marrón ó púrpura más intensa que el resto de la matriz, de marrón pálido. Las demás características de interés, son semejantes a lo ya descrito para individuos de 1 mes.

En perros de 2 años en adelante, al parecer la cantidad de fibras gruesas es ya más abundante en relación a las fibras delgadas, siendo el resto de las características similares a lo ya descrito arriba. Las zonas de matriz de aspecto normal, pero más pigmentada con esta coloración, también son más abundantes en estos individuos.

Van Gieson.

Con este método, los diversos elementos tisulares de la epiglotis se tiñen de color café pálido, mientras que las estructuras ricas en fibras colágenas se tiñen de color rosa intenso a rojo. En todos los cortes observados, fueron positivas a la tinción la lámina propia de la mucosa, el pericondrio fibroso y las trabéculas que envía al cojinete adiposo central, así como el tejido cartilaginoso de tipo fibroso, observado en perros de mayor edad.

B) OVINOS.

Hematoxilina y Eosina.

La epiglotis de los ovinos consta de una mucosa y una placa central de cartilago elástico (cartilago epiglótico).

a) Mucosa.

Al igual que en canideos, esta túnica se divide en 2 regiones: una superficie ó cara lingual y una superficie ó cara laríngea. En ambas superficies también encontramos como constituyentes de la mucosa un epitelio de tipo estratificado escamoso no cornificado, ó bien paracornificado (en la cara lingual), y una lámina propia de tejido conectivo colágeno laxo, rica en vasos sanguíneos y nervios, así como gran número de glándulas salivares menores y sus

respectivos ductos, de epitelio simple cuboide. En la base del órgano, encontramos en ocasiones una gran zona de tejido adiposo blanco que rodea a la placa de cartilago, extendiéndose hasta cerca del epitelio de superficie, tanto de la cara laringea como de la lingual.

A diferencia de lo observado en canideos, en esta especie si se detectaron cambios en la mucosa, en relación a la edad de los individuos estudiados, por lo que se hará la descripción correspondiente de acuerdo a este parámetro:

1) Cara lingual. En ovinos de 1 a 6 meses de edad, el perfil de esta superficie es uniforme y el epitelio que la recubre posee de 10 hasta 25 estratos de grosor y forma crestas prominentes, siendo generalmente de tipo paracornificado.

En la lámina propia, muy gruesa, encontramos como constituyentes principales gran número de glándulas salivares menores mucosas, serosas y seromucosas, que se localizan de dos maneras: Algunas de tamaño pequeño y de tipo seroso ó mucoso, que se localizan en forma dispersa, debajo del epitelio, y una gran mayoría de mayor tamaño y de tipo seromucoso, suprapericondrial, que se encuentra recubriendo casi en su totalidad a la placa de cartilago epiglótico, desde la base hasta el ápice del órgano. Algunos ductos de estas glándulas pueden apreciarse en corte oblicuo, en contacto con el epitelio de superficie.

Por otra parte, a partir de la base del órgano, se observa una gran zona de músculo estriado esquelético que se introduce desde la

superficie, por debajo del epitelio, y envía fibras a todo lo largo de la cara lingual, por encima de los grandes acumulos de glándulas salivares que recubren al cartilago epiglótico (ocasionalmente se entrecruzan con los adenómeros). El numero de fibras musculares va disminuyendo gradualmente conforme se aproximan al ápice del órgano, desapareciendo en su totalidad, poco antes de llegar a él. En ovinos de 7 a 11 meses, el aspecto de la mucosa lingual es semejante a los animales de 1 a 6 meses; si bien la masa muscular descrita se ve aumentada considerablemente en su grosor. la distribución global de la base hacia el ápice, descrita en animales de menor edad, se mantiene. En la base del órgano, este tejido muscular se relaciona con gran cantidad de tejido adiposo blanco. En animales de 1 a más de 3 años, el grosor del epitelio se ve engrosado considerablemente, presentando hasta 35 estratos, manteniéndose la proporción relativa de los demás componentes.

2) Cara laríngea. En animales de 1 a 11 meses, la superficie de la cara laríngea es lisa y uniforme, su epitelio posee 5 a 10 estratos de grosor y forma crestas muy pequeñas; este epitelio tiende a adelgazarse un poco más hacia el ápice del órgano. En animales de 1 a más de 3 años de edad se observaron algunas yemas gustativas dentro del epitelio, el cual no vario de grosor.

En todos los animales estudiados, la lámina propia es delgada y posee también glándulas salivares menores, distribuidas de manera semejante a las de la superficie lingual, dispersas, pequeñas y mucosas ó serosas, ó bien, grandes, seromucosas y recubriendo casi

en su totalidad al cartilago epiglótico central. Sin embargo, tanto en número como en tamaño, la población de glándulas de esta cara es menor que en la cara lingual.

b) Cartilago epiglótico.

En este componente de la epiglotis se detectaron menos cambios en relación a la edad que los detectados en canideos, pero aún así es conveniente reseñarlos dado su interés morfológico individual:

En ovinos de 1 a 6 meses de edad, está constituido por una placa única de cartilago elástico, de perfil muy irregular, siendo mucho más gruesa en la base del órgano, y adelgazándose gradualmente conforme se desplaza hacia el ápice del órgano.

La placa está envuelta en su totalidad por un pericondrio típico, cuyo estrato fibroso envía en ocasiones proyecciones que envuelven a las glándulas salivares adyacentes a manera de capsula, ocasionalmente ramificándose y formando septos incompletos entre grupos de adenómeros. Sin embargo, en estos casos las glándulas siempre se hallan separadas de la matriz cartilaginosa, por una capa delgada de pericondrio. El estrato condrogénico del pericondrio posee gran número de condroblastocitos, aplanados en su mayoría.

La matriz cartilaginosa es rica en condrocitos, siendo las lagunas correspondientes muy amplias, dejando poco espacio de matriz entre ellas. El aspecto de esta matriz es muy homogéneo, de color violeta muy pálido, salvo por la presencia de un material de color rosa claro y de naturaleza birrefringente, que en las regiones centrales

de la matriz forma acúmulos que envuelven totalmente a las lagunas, dejando un espacio pequeño de matriz entre el borde de la laguna y dicho material. Conforme se acerca al pericondrio, este material se va haciendo menos denso, de forma tal que, con mayor aumento, es posible observar que está constituido por fibras muy delgadas, las cuales, ya cerca del pericondrio son perfectamente discernibles, siendo de trayecto ondulado, con gran tendencia a ramificarse y entrecruzarse, dirigiéndose hacia el pericondrio mismo. Debido a su comportamiento tintorial con la tinción de rutina y por su apetencia por la orceína (ver abajo), se concluye que este material corresponde a elastina, que a su vez forma fibras elásticas. En varios grupos isogénicos, el tabique de matriz que se forma entre los condrocitos respectivos también está infiltrado por fibras elásticas.

Siendo la superficie de este cartilago epiglótico muy irregular, presenta gran número de invaginaciones de anchura y profundidad variable (en casos extremos forman verdaderos septos que dividen parcialmente a la placa en fracciones). Estos procesos invaginantés son ocupados por las glándulas descritas en su parte superficial media (rara vez hasta las partes más profundas), así como por vasos sanguíneos arteriales y venosos, que llegan hasta lo más profundo de estos procesos, junto con el pericondrio correspondiente y cierta cantidad de tejido adiposo blanco. Estos procesos se observan ocasionalmente en corte transversal, como áreas semicirculares revestidas de pericondrio y con vasos sanguíneos en su interior. Es importante mencionar que el pericondrio de estas

zonas es muy delgado, de tal modo que la distancia que separa a los condrocitos circundantes de los vasos señalados es mínima. Por otra parte, material semejante a elastina rodea estos espacios, entre el pericondrio y la matriz. En algunos casos, la matriz que rodea a estos espacios presenta más bien un aspecto semejante al mesenquima precursor del cartilago. En algunos cortes estas zonas de aspecto condroide, son abundantes y amplias, tal vez relacionadas tangencialmente a estas porciones invaginantes del pericondrio.

En algunas regiones de la matriz, hay pequeñas zonas donde los núcleos de los condrocitos son más pequeños y oscuros que en el resto de la población, las lagunas que rodean a estas células son más pequeñas y el aspecto de la matriz se asemeja más a tejido conectivo colágeno, si bien hay fibras elásticas delgadas presentes. En otras zonas, la matriz adquiere una tonalidad más violeta y los condrocitos presentan un citoplasma basófilo y con pequeñas inclusiones del mismo tono. Todas estas regiones atípicas ocupan en conjunto menos del 5% de la matriz observada y posiblemente representen zonas degenerativas del tejido.

En ovinos de 7 a 11 meses, el aspecto general de la placa es semejante a lo ya descrito, si bien, dado el crecimiento normal de estos animales, es de mayor tamaño.

Por otra parte, la placa tiende a ser ocasionalmente de perfil muy irregular hacia la base del órgano, donde, es posible observar una transformación gradual del tejido cartilaginoso en tejido adiposo; en uno de los casos observados, en la base del órgano, y a partir de la porción de placa subyacente a la mucosa laríngea, se detectó

un cambio gradual hacia el tejido de aspecto condroide ya descrito, en la porción central de la placa, con menos fibras elásticas; finalmente, las células que se localizan en este tejido se ven sustituidas por adipocitos típicos, las cuales prácticamente constituyen la porción de la placa subyacente a la mucosa laríngea, dándole una consistencia laxa al tejido, que tiende a dispersarse por la presión ejercida durante el procesamiento de la muestra. En algunas zonas, el tejido adiposo contacta directamente con las glándulas salivares que rodean a la placa, así como con el tejido muscular de la base, mientras que en otras zonas se halla cubierto por una porción de cartilago diferenciado y cubierto por el pericondrio.

En otros casos, se observaron focos de adipocitos dentro de la placa, con características de transformación semejantes a la descrita. Es interesante señalar que estos focos, así como el cambio gradual de una población celular en otra, no ocurre a nivel de pericondrio. Por lo mismo, es importante diferenciar estas regiones que literalmente se mezclan unas con otras, de aquellas zonas en las que se ven invaginaciones del pericondrio, con tejido adiposo asociado por fuera del cartilago (es decir, *por encima del pericondrio*), y que en corte transversal pudiesen confundirse con las primeras.

En ovinos de 1 a más de 3 años, la elastina forma un retículo homogéneo de color rosa, que rodea a cada una de las lagunas cartilaginosas, dejando un pequeño espacio de matriz violeta claro, periférico a cada condrocito. En algunas áreas el retículo de

elastina es un poco menos densa que en otras, pero en general su aspecto es uniforme. En las proximidades del pericondrio, las fibras elásticas constituyentes del retículo se adelgazan y ramifican, introduciéndose en el pericondrio fibroso. En los animales de mayor edad la red de elastina se torna más densa aún, observándose de un color rosa homogéneo. En estos casos se observó también un componente granular pequeño, periférico a la red elástica, al parecer también formado por elastina, por su apetencia por la orceína. Este material podría representar elastina que se desprende de las fibras gruesas del retículo, ó bien, fibras de diverso calibre en corte transversal. Estos "gránulos" siempre se localizan entre la fibra y la laguna, nunca dentro de ella. El resto de las estructuras histológicas observadas son semejantes a las ya descritas para animales de menor edad.

Tänzer-Unna.

Con este método los componentes histológicos se observan de una tonalidad marrón ó café pálido, mientras que las estructuras elásticas se observan de un color marrón rojizo a púrpura. En animales jóvenes, la matriz cartilaginosa presenta una tonalidad intensa que está dada por el retículo de elastina (de color rosa con la tinción de rutina) que rodea a las lagunas cartilaginosas, las cuales se observan muy pálidas y con sus condrocitos de color café claro y núcleos oscuros. En algunas zonas este material reticular es menos denso, de tal forma que se aprecia que está

constituido por haces gruesos de fibras. los cuales, ya cerca del pericondrio son más delgados y con las fibras elásticas individuales perfectamente discernibles, siendo estas de trayecto ondulado, con gran tendencia a ramificarse y entrecruzarse, dirigiéndose hacia el pericondrio mismo. Por este motivo, este pericondrio presenta abundantes fibras elásticas.

En animales adultos, el retículo elástico de la matriz es muy denso y está acompañado de un componente granular pequeño, con gran apetencia por la orceína. Estos "gránulos" siempre se localizan entre la fibra y la laguna, nunca dentro de ella; es probable que correspondan a haces de fibras de diverso calibre cortados transversalmente. En varios grupos isogénicos, el tabique que se forma entre los condrocitos respectivos también está infiltrado por fibras elásticas. Las fibras elásticas también son perfectamente discernibles en el tejido condroide que rodea a las invaginaciones del pericondrio y en las zonas de transición hacia tejido adiposo, encontrándose inclusive entre los adipocitos mismos.

Van Gieson.

Al igual que en canideos, con esta técnica en general las estructuras histológicas de la epiglottis se tiñen de café claro y los componentes colágenos lo hacen de color rosa intenso a rojo. En este caso, fueron positivas la lámina propia de la mucosa (incluyendo las regiones ricas en glándulas) y el pericondrio fibroso, así como algunas fibras localizadas entre las zonas de

transición hacia tejido adiposo. El retículo elástico de la matriz cartilaginosa se observa café claro.

C) SUINOS.

Hematoxilina y Eosina.

La epiglotis de los suinos está constituida por una mucosa y una placa central de cartilago elástico (cartilago epiglótico).

a) Mucosa.

Al igual que en las especies anteriores, la mucosa de la epiglotis está constituida por un epitelio y una lámina propia. A esta tunica también se le divide en dos regiones de acuerdo a la superficie epiglótica que recubre: cara ó superficie lingual y cara ó superficie laríngea.

1) Cara lingual.

En cerdos de 1 mes de edad, el epitelio que recubre esta superficie es de tipo estratificado escamoso no cornificado, con 4 a 8 estratos de grosor. La lámina propia subyacente es de tejido conectivo colágeno laxo, rica en vasos sanguíneos y pequeños fascículos nerviosos, y presenta un número discreto de glándulas salivales menores de tipo seromucoso, las cuales hacia la base del órgano se tornan abundantes, rodeando a la placa de cartilago e inclusive, llegando a contactar directamente con el tejido

cartilaginosa (apenas separadas por una delgada lámina de tejido conectivo), puesto que el pericondrio se fusiona con el estroma de estas glándulas. Asimismo, es posible observar una delgada banda de **tejido muscular estriado esquelético** que se interpone entre el tejido conectivo de la lámina propia y las glándulas que rodean al cartilago, de modo similar a lo descrito para el ovino, si bien este músculo no es tan abundante como en esa especie. El músculo se observa más grueso en la base y se va adelgazando hasta llegar al ápice de la epiglotis.

Hacia la base del órgano la lámina propia se infiltra con gran cantidad de **tejido adiposo blanco**, el cual en algunas regiones se entremezcla con el pericondrio fibroso y el cartilago elástico.

En animales de 6 a 12 meses de edad, el epitelio es más grueso (8 estratos en promedio), las glándulas están más desarrolladas y el tejido muscular que está en la cara lingual está mucho más desarrollado, asociado con tejido adiposo blanco y a veces rodeado por glándulas salivares. El tejido adiposo ya es más abundante en general en la lámina propia, siendo esto característico de esta especie.

2) Cara laríngea.

En cerdos de 1 mes de edad, el epitelio es semejante al de la cara lingual, pero mucho más delgado, con 4 estratos como máximo. Lo mismo sucede con la lámina propia, que es más delgada, aunque también presenta glándulas salivares menores, las cuales son pequeñas y la relación de sus ductos con el epitelio de superficie

es muy aparente. Las glándulas se relacionan con el cartilago epiglótico de manera semejante a como ocurre en la cara lingual. En animales de 6 a 12 meses, el epitelio es más grueso (7 capas en promedio) y aumenta la cantidad de tejido adiposo y de glándulas salivares. En particular el tejido adiposo es muy abundante.

b) Cartilago epiglótico.

La placa de cartilago es de perfil irregular, con un pericondrio bien desarrollado, que presenta bien delimitados sus estratos fibroso (de tejido conectivo colágeno compacto irregular) y condrogénico, este último con gran cantidad de condroblastocitos pequeños y de forma aplanada. Este pericondrio se adapta a la superficie irregular del cartilago e inclusive forma procesos invaginantes semejantes a los del ovino, en los cuales penetran ductos glandulares salivales y/o vasos sanguíneos de diverso calibre. Estos procesos también se observan en corte transversal, como huecos "revestidos" de pericondrio y con las estructuras mencionadas en su interior.

La matriz cartilaginosa presenta una población de condrocitos y condroblastocitos pequeños, de forma irregular, muy abundantes, en sus respectivas lagunas cartilaginosas e inmersos en una matriz que se colorea de rosa claro, presentando además un aspecto fibroso birrefringente, muy tenue, dado por las fibras elásticas (dato corroborado con la tinción de Tánzer-Unna).

En general el aspecto de la matriz es muy uniforme en toda la placa: es un cartilago en proceso terminal de diferenciación, con

gran cantidad de células (reconocibles ya como condrocitos y condroblastocitos en lagunas) y relativamente poca substancia intercelular.

Por otra parte, ocasionalmente se observan en esta matriz pequeñas zonas con focos de adipocitos, sin separación evidente por pericondrio, es decir, en contacto directo con el cartilago. Además, hacia la base del órgano, el tejido adiposo de la lámina propia a veces llega a rebasar el límite pericondrial, y los adipocitos se entremezclan con el tejido cartilaginoso de modo semejante a lo descrito para el ovino, pero sin que se aprecie un tejido de transición entre ambos tipos. En vez de éste, se observan gran cantidad de células con vacuolas citoplasmáticas vacías y de diverso tamaño, posiblemente de grasa, lo cual significaría que son preadipocitos o condrocitos infiltrados de grasa (ver Discusión). Estas regiones se hallan bien vascularizadas, aún en presencia del cartilago vecinal. De cualquier modo, estas zonas son mucho más pequeñas que las descritas para el ovino y siempre se limitan a la base de la epiglottis. Se observaron en 5 de 10 individuos estudiados.

Finalmente, es importante mencionar que, a diferencia de lo observado en las otras dos especies, la placa de cartilago epiglótico del cerdo forma en la base una especie de hoz en ángulo recto, apuntando hacia la cara laríngea.

En animales de 6 a 12 meses se observa, en comparación con los de 1 mes, una disminución proporcional del número de condrocitos, aumentando el volumen de la matriz, pero las lagunas se aprecian de

mayor tamaño y de perfil elíptico. En la matriz se aprecian haces gruesos y birrefringentes de fibras elásticas, de color rosa pálido, junto con el aspecto fibroso fino general de dicha matriz. El aspecto de esta matriz es mucho más diferenciado que el de los animales de un mes. Hay gran cantidad de grupos isogénicos, de 2 ó 3 células.

Las zonas aisladas de adipocitos dentro de la matriz aún son escasas y pequeñas, pero el tejido adiposo de la base de la epiglotis es muy abundante y en ocasiones infiltra el cartilago de la manera arriba descrita, si bien en algunos animales ya se aprecia con claridad el tejido de transición de aspecto mesenquimatoso (condroide), entre el tejido adiposo y el cartilago elástico, en vez de la sola presencia de células vacuoladas.

Por otra parte, en esta edad ya es común observar procesos invaginantes del pericondrio en corte transversal, distribuidos por la matriz del cartilago.

Tänzer-Unna.

Al igual que en las otras dos especies, los elementos tisulares no elásticos de la epiglotis se observan de un tono café pálido, mientras que las fibras elásticas se tiñen de marrón intenso a púrpura rojizo.

En la matriz cartilaginosa de los cerdos de 1 mes de edad, se aprecia una malla de fibras elásticas muy finas y abundantes, que rodean a las lagunas cartilaginosas, en cuya periferia se agrupan

formando haces un poco más gruesos. Este patrón es uniforme en toda la matriz, aunque cerca de los límites de la placa, se forman haces un poco más gruesos de fibras que se disponen entre las lagunas, de modo más o menos perpendicular al pericondrio, de manera similar a lo que se observa en el canideo. A partir de estos haces gruesos se derivan de nuevo fibras delgadas que infiltran al pericondrio y le dan la tonalidad rojiza correspondiente. En las zonas de infiltración adiposa, la presencia de fibras es notoria, distribuyéndose inclusive entre los adipocitos. En estas zonas las fibras forman haces más gruesos que en la matriz cartilaginosa. En animales de 6 a 12 meses las fibras elásticas finas de la matriz cartilaginosa son muy abundantes, de tal modo que a pequeño aumento se aprecia la matriz de una tonalidad general rojiza. Además, cada laguna está rodeada de una zona rica en elastina, más densa que el resto de la matriz; además, el tabique de matriz que separa las células de los grupos isogénicos también se infiltra de este material elástico. Por otra parte, el pericondrio también es rico en fibras elásticas.

Van Gieson.

Al igual que en la especie anterior, resultaron positivas a la tinción la lámina propia de la mucosa, el pericondrio fibroso y parte del tejido conectivo de sostén del tejido adiposo. En todos los animales estudiados, el patrón de fibras elásticas del cartilago epiglótico es totalmente negativo, de color café pálido.

D) FIGURAS



FIG. 1. MATRIZ CARTILAGINOSA ELASTICA (Epiglottis, perro, 1 mes). Tinción: Tánzer-Unna. En este caso es posible distinguir 2 patrones de fibras elásticas: uno de haces gruesos que se disponen perpendicularmente en relación a la placa de cartilago epiglótico (G), y otro de fibras finas que se distribuye por toda la matriz, aunque con densidad variable (F). Nótese como el material elástico parece en ocasiones superponerse a los elementos celulares. Aumento final: 750x.

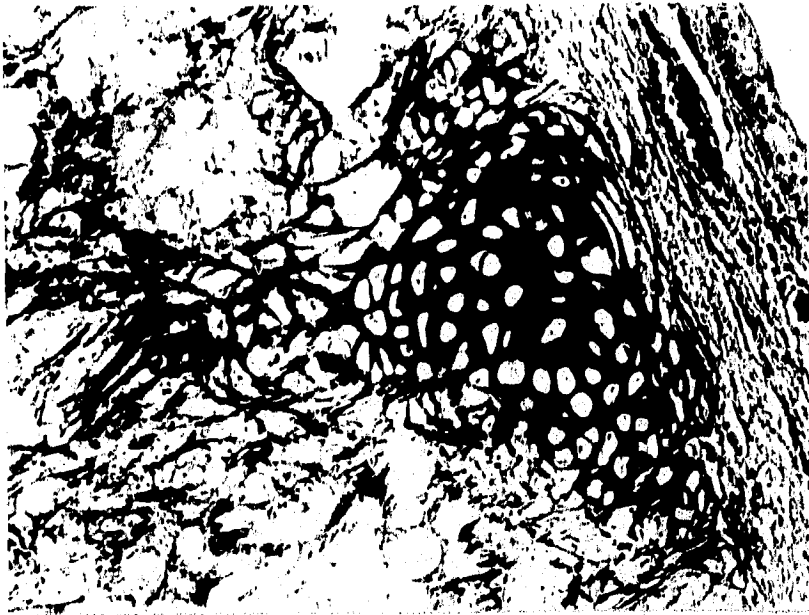


FIG. 2. CARTILAGO ELASTICO (Epiglotis, perro, 3 años). Tinción: Tönzer-Unna. Nótese como la placa de cartilago presenta en su porción más diferenciada una gran densidad de fibras elásticas, que prácticamente envuelven a las lagunas (I); este patrón se va haciendo más fino hacia el pericondrio, donde ya se aprecian haces delgados en la porción condrogénica, paralelos al perfil de la placa (flecha grande). En la zona inferior de tejido condroide, las lagunas son escasas y más pequeñas, pero se observan haces gruesos de fibras, que se entrecruzan y ramifican (cabecera de flecha). Asimismo, se aprecian haces delgados entre las células adiposas del cojinete central (v blanca). Aumento final: 187.5x.



FIG. 3. MATRIZ CARTILAGINOSA ELASTICA (Epiglotis, perro, 1 año). Tinción: Tánzer-Unna. En esta imagen se aprecia el patrón de fibras delgadas (flechas), que tienden a formar redes muy densas (R) que prácticamente rodean a las lagunas cartilaginosa. Compárese esta fotografía con las equivalentes del ovino y del suino. Aumento final: 750x.

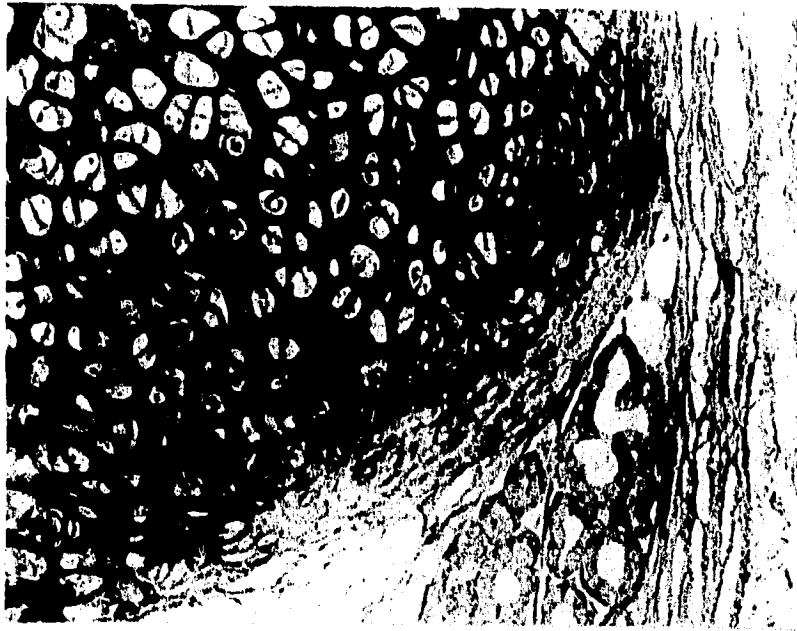
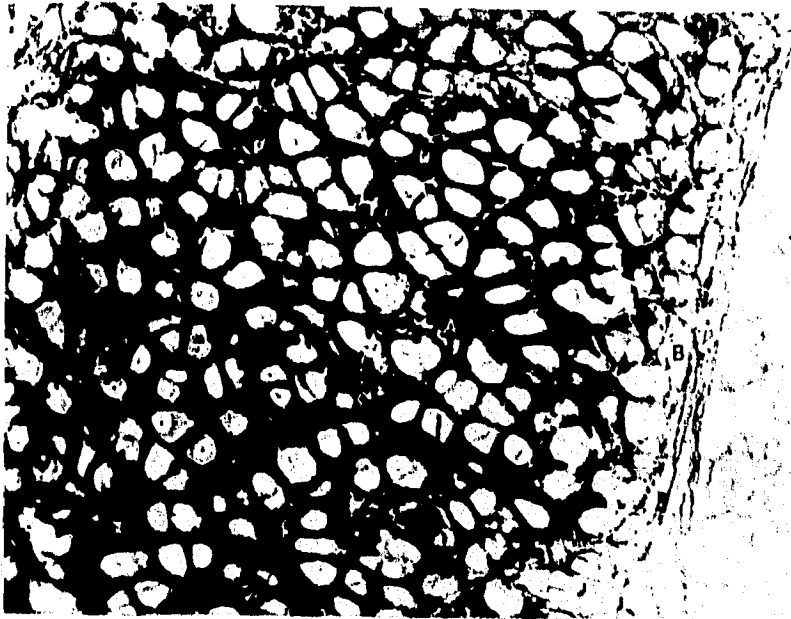


FIG. 4. PERICONDRIO Y MATRIZ CARTILAGINOSA (Epiglotis, ovino, 3 meses).
Tinción: Tánzer-Unna. El patrón reticular denso de las fibras es muy claro en la matriz del cartilago (1), pero ya en el pericondrio condrogénico se aprecia que dicho retículo está a su vez constituido por fibras delgadas (flecha). En algunas porciones del pericondrio fibroso hay una ligera infiltración de fibras elásticas. Observe como algunos de los condrocitos cercanos al pericondrio presentan posibles vacuolas de grasa. Aumento final: 187,5x.



**FIG. 5. PERICONDRIO Y MATRIZ CARTILAGINOSA (Epiglottis, ovino, 3 años).
Tinción: Tánzer-Unna. El patrón reticular denso de las fibras es uniforme
en toda la matriz del cartilago (A) y en el pericondrío fibroso se
observan fibras elásticas, paralelas a la placa de cartilago (B). Compare
con la figura 4. Aumento final: 187x.**

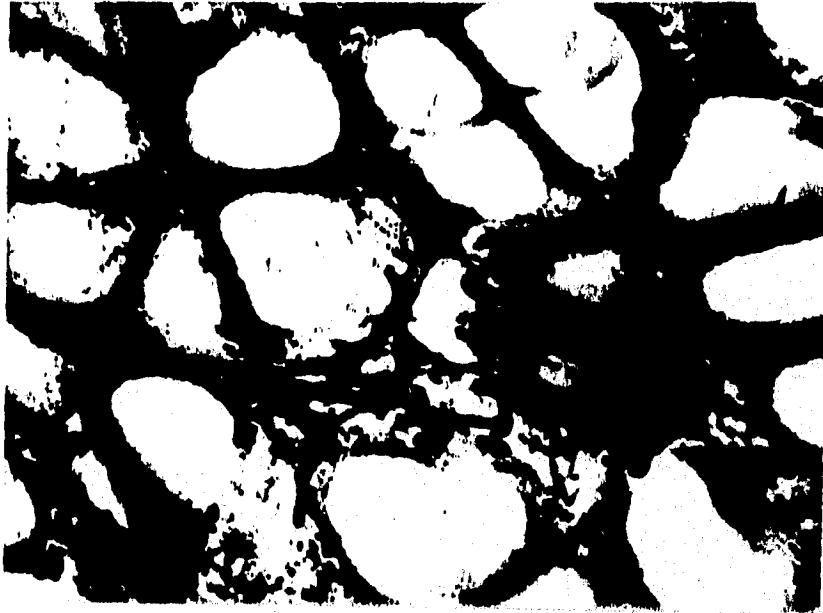


FIG. 6. MATRIZ CARTILAGINOSA ELASTICA (Epi-glottis, ovino, 2 años). Tinción: Tánzer-Unna. La densidad de las haces tridimensionales que rodean a las lagunas queda de manifiesto en el corte tangencial mostrado (1). También se aprecia que el material está constituido por haces gruesos de fibras elásticas (2). Notese el material granular, posiblemente haces de fibras elásticas cortados transversalmente (3). Aumento final: 750x.



FIG. 7. MATRIZ CARTILAGINOSA ELASTICA (Epiglottis, cerdo, 1 mes). Tinción: Tánzer-Unna. Observe el patrón de fibras elásticas delgadas (1) que se distribuye por toda la matriz, entre las numerosas lagunas de condrocitos. Algunas de estas fibras se unen para formar haces de mediano grosor (2). Note los grupos incipientes de fibras que se agrupan en algunos tabiques de matriz que separan las células de los grupos isogénicos (3). Compare con la matriz del suino de 6 meses (Fig. 9). Aumento final: 750x



**FIG. 8. PERICONDRIO Y MATRIZ CARTILAGINOSA (Epiglotis, cerdo, 6 meses).
Tinción: Tánzer-Unna. Mientras que la porción fibrosa del pericondrío es más bien delgada (F), la porción condrogénica presenta numerosos estratos de condroblastocitos aplanados, rodeados de abundante material elástico (C). Observe que en esta especie la placa de cartilago se halla rodeada de tejido adiposo blanco. Para una descripción de la matriz cartilaginosa, consulte la figura 9. Aumento final: 187,5x.**



**FIG. 9. MATRIZ CARTILAGINOSA ELASTICA (Epiglotis, cerdo, 6 meses).
Tinción: Ténzer-Unna. Nótese el patrón de fibras elásticas finas de la
matriz (M), cuya densidad es variable, y las regiones perilagunares más
densas (P). Algunos condrocitos presentan posibles vacuolas de grasa (V).
Aumento final: 750x.**

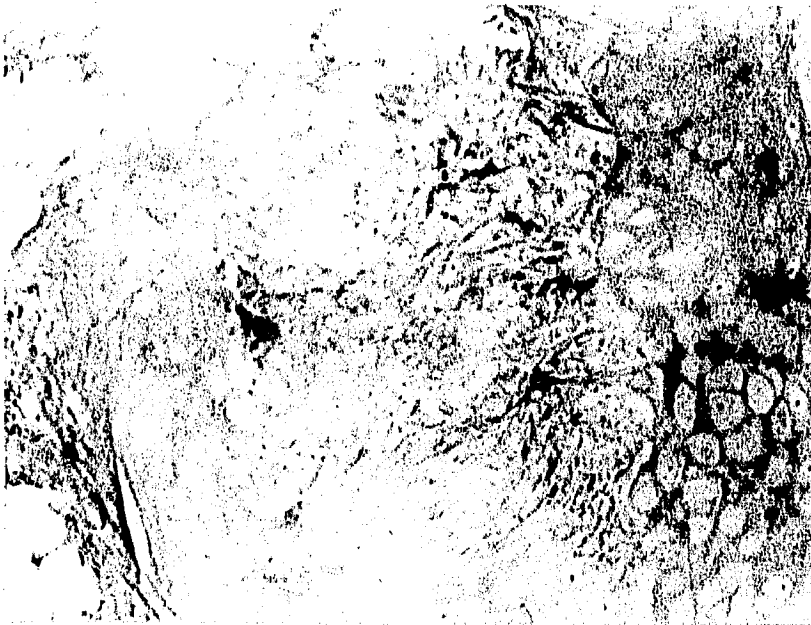


FIG. 10. CARTILAGO EPIGLOTICO: ZONA DE TEJIDO DE ASPECTO CONDROIDE (Epiglotis, perro, 5 años). *Tinción: Van Gieson.* Gracias a la coloración empleada, se observa colágena en algunas porciones de la matriz cartilaginosa, cercanas al pericondrio (I), y en la región con aspecto condroide, con pocas lagunas y sin tejido adiposo (C). Aumento final: 187.5x.

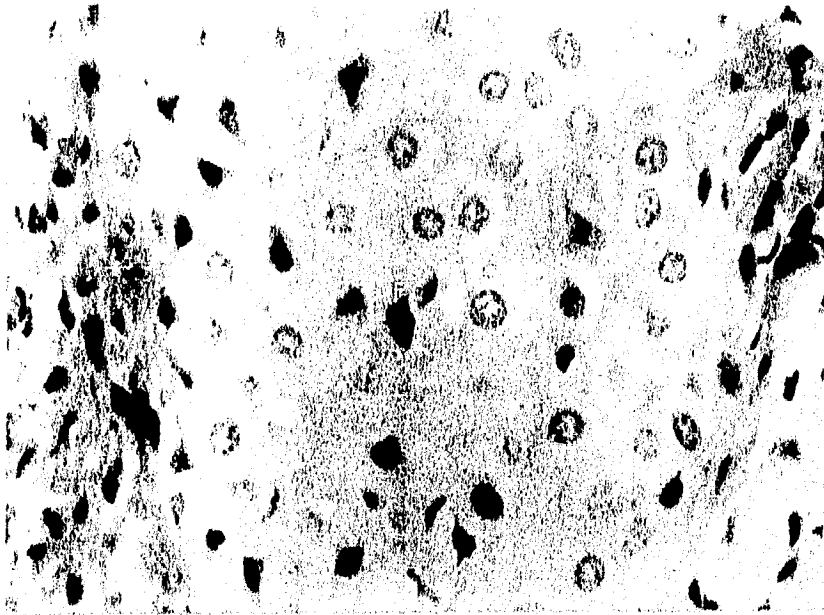


FIG. 11. MATRIZ CARTILAGINOSA ELASTICA (Epiglotis, perro, 1 mm). Tinción: Hematoxilina y eosina. Observe que los condroblastocitos son el tipo celular predominante, con su forma redondeada y núcleos eucromáticos (C). La substancia intercelular es escasa (sin embargo, compare con la figura 1, para revisar el patrón de fibras elásticas). Asimismo, entre la población se aprecian unas células semejantes a fibroblastocitos (F), que al parecer se derivan del pericondrio. Estas células son más abundantes hacia la frontera del tejido cartilaginoso con el tejido adiposo, por lo que tal vez sean preadipocitos que migran desde pericondrio. Aumento final: 750x.

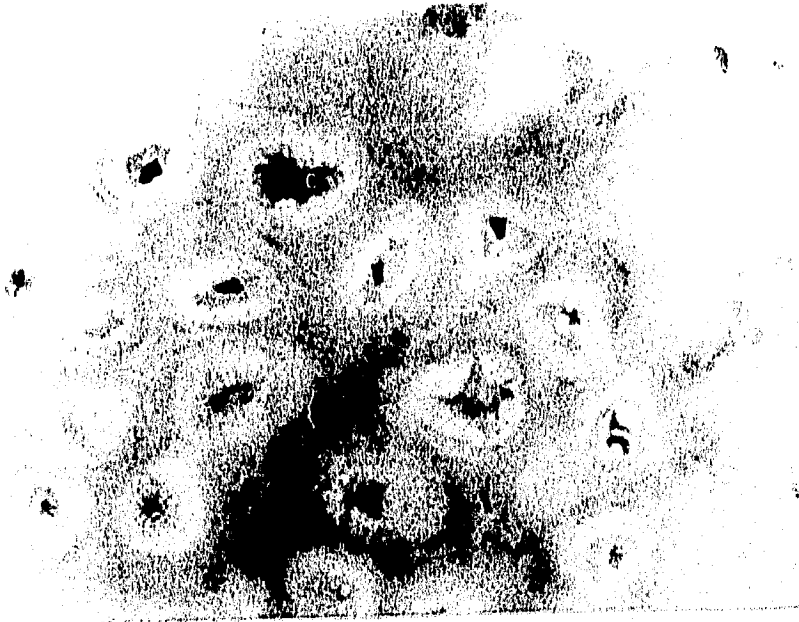


FIG. 12. MATRIZ CARTILAGINOSA ELASTICA (Epiglottis, perro, 3 años).
Tinción: Hematoxilina y eosina. En este caso, el material rosáceo de la
matriz que rodea a las lagunas es abundante y corresponde a elastina
(compare con la figura 2, equivalente). Los condrocitos presentan
citoplasma acidófilo y núcleos pequeños (C). Su morfología es irregular,
con proyecciones citoplásmicas. Note que hay un material violeta claro que
rodea a las células en el interior de cada laguna. Aumento final: 750x.

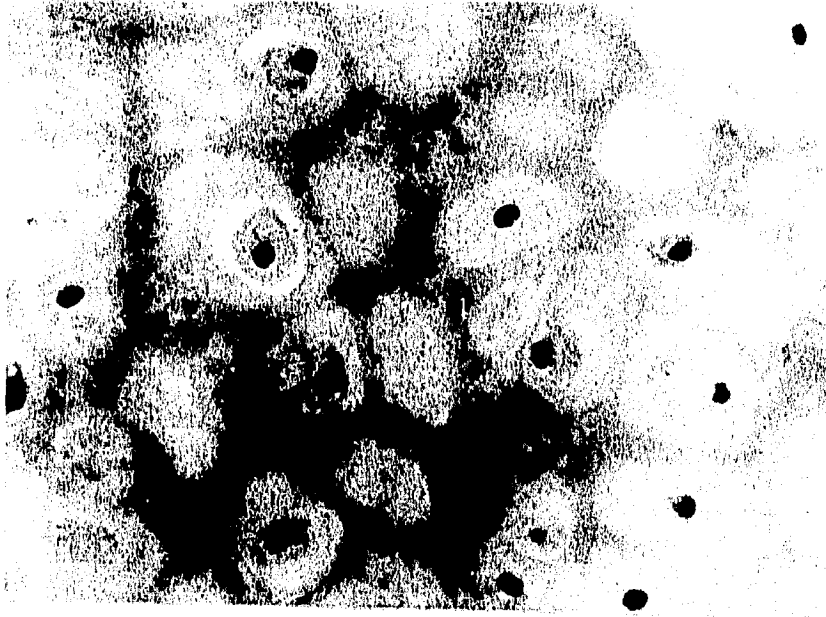


FIG. 13. MATRIZ CARTILAGINOSA ELASTICA (Epiglotis, ovino, 1 mes). Tinción: Hematoxilina y eosina. Observe como desde temprana edad, el reticulo de fibras elásticas de la matriz ya es evidente (1), aún con la tinción de rutina. Por otra parte, los condrocitos (C) tienen forma redondeada y perfil dentado, sus núcleos son pequeños y heterocromáticos. Compare con las figuras 4, 5 y 6, (de la misma especie), y 11, 12 (de canideo) y 14 (de cerdo). Aumento final: 750x.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

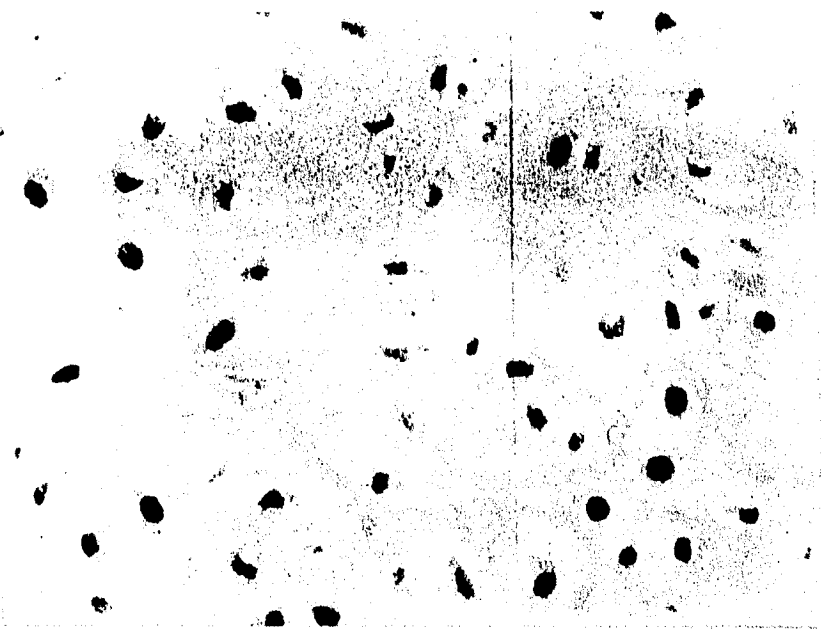


FIG. 14. MATRIZ CARTILAGINOSA ELASTICA (Epiglotis, cerdo, 1 mes). Tinción: *Heamatoxilina y eosina*. En este caso los condrocitos y condroblastocitos son pequeños (C), rodeados de gran cantidad de substancia intercelular, la cual presenta fibras elásticas apenas discernibles con la tinción de rutina (I). Compare con las figuras 7 y 15. Aumento final: 750x.

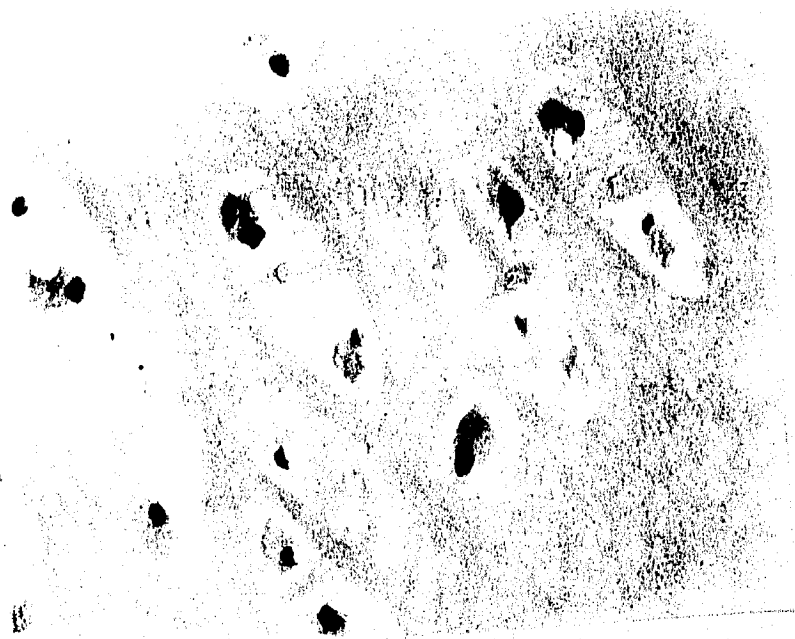


FIG. 15. MATRIZ CARTILAGINOSA ELASTICA (Epiglotis, cerdo, 6 meses).
Tinción: Hematoxilina y eosina. A esta edad los condrocitos son relativamente menos abundantes, pero son de mayor tamaño, con citoplasma acidófilo y forma irregular, dispuestos dentro de lagunas amplias y elípticas (c). La substancia intercelular es abundante (1). A excepción de algunos haces gruesos (3) las fibras elásticas casi no se distinguen. Compare con las figuras 9 y 14. Aumento final: 750x.



FIG. 16. CARTILAGO ELASTICO (Epiglotis, perro, 6 meses). Tinción: Hematoxilina y eosina. En el extremo derecho de la fotografía se aprecia el epitelio estratificado escamoso del borde laringeo de la epiglotis (b) y debajo la lámina propia de tejido conectivo colágeno laxo (l). En el extremo izquierdo se aprecia la lámina propia de la mucosa lingual (m). Observe como entre las dos placas de cartilago subyacentes, relativamente delgadas (c), se halla un amplio cojinete de tejido adiposo blanco (a), atravesado de lado a lado por trabéculas de tejido conectivo colágeno laxo, derivadas desde el pericondrio de ambos lados. Aumento final: 80x.

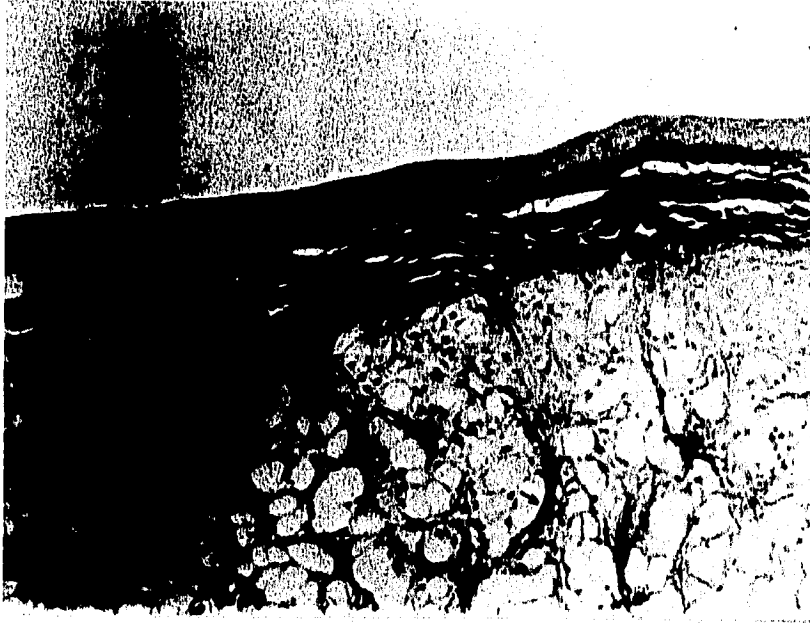


FIG. 17. PERICONDRIO Y MATRIZ CARTILAGINOSA (Epiglotis, perro, 6 meses).
Tinción: Van Gieson. Con la tinción empleada, se observan fibras de colágena en la lámina propia de la mucosa laríngea (M), en el pericondrio (P) (que se confunde con facilidad con la lámina referida), y en las trabéculas del cojinete central de tejido adiposo (flecha), notándose su origen desde el pericondrio con facilidad. Además, en la matriz del cartilago también se aprecia un número pequeño de fibras colágenas. Compare con la figura 16. Aumento final: 187.5x.

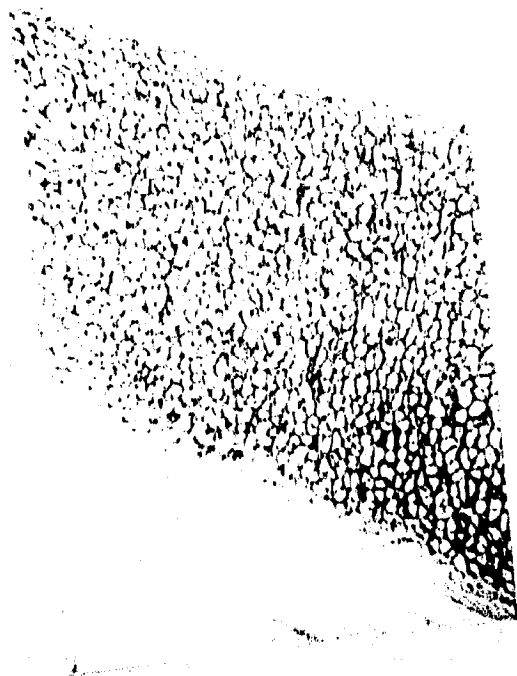


FIG. 18. CARTILAGO EPIGLOTICO (Epiglottis, ovino, 7 meses). Tinción: Tánzer-Unna. Nótese el retículo denso de fibras elásticas, que ocupa casi la totalidad de la matriz cartilaginosa en esta especie. Asimismo, la especificidad de la tinción es ilustrada. Para detalles de la matriz cartilaginosa y el pericondrio consulte las figuras 4, 5 y 6. Aumento final: 80x.



FIG. 19. PERICONDRIO Y MATRIZ CARTILAGINOSA (Epiglotis, ovino, 1 año).
Tinción: Van Gieson. Con esta tinción, se observan fibras de colágena en la lámina propia de la mucosa laríngea (M) y en el pericondrio fibroso (P), prácticamente fusionado con dicha lámina. Notese que el pericondrio condrogénico (C) y la matriz cartilaginosa (*) son negativos. Compare con las figuras 4 y 5. Aumento final: 187,5x.



FIG. 20. CARTILAGO EPIGLOTICO (Epiglottis, cerdo, 1 mes). Tinción: Tánzer-Unna. En este campo se aprecia la uniformidad de la placa de cartilago, con numerosas lagunas, rodeadas de un retículo de haces finos de fibras elásticas, prácticamente en toda la placa de tejido cartilaginosa. A veces el pericondrio emite proyecciones al interior de la matriz (A), pero esto es mucho menos común que en el ovino. En algunos animales se detectaron pequeños focos adiposos en la matriz (dato no mostrado). Compare con la figura 7. Aumento final: 80x.



FIG. 21. PERICONDRIO (Epiglottis, cerdo, 1 mes). Tinción: Van Gieson. Se detectaron fibras de colágeno en la lámina propia (LP) de la mucosa epiglótica y en el pericondrio fibroso (PF). Nótese como el pericondrio condrogénico (PC) y la red fina de la matriz de cartilago (M) se observan de un tono café claro, negativo para la tinción. Aumento final: 750x.

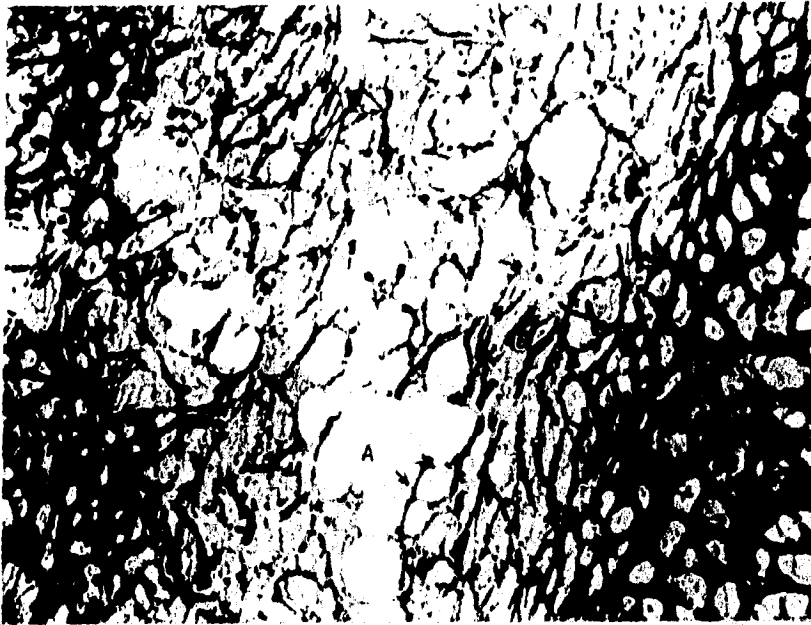


FIG. 22. CARTILAGO EPIGLOTICO: REGION ADIPOSA DE LA MATRIZ CARTILAGINOSA (Epiglottis, ovino, 2 años). Tinción: Tönzer-Unna. En este campo se aprecia la matriz diferenciada en el extremo derecho (B), y su paulatina transformación en un tejido condroide (C), poco antes del tejido adiposo que ocupa la región central (A). Nótese la ausencia de alguna estructura pericondrial que delimite al tejido adiposo del cartilago, así como la presencia de fibras elásticas (flecha), aun entre las células adiposas. Compare con la figura 23. Aumento final: 187.5x.

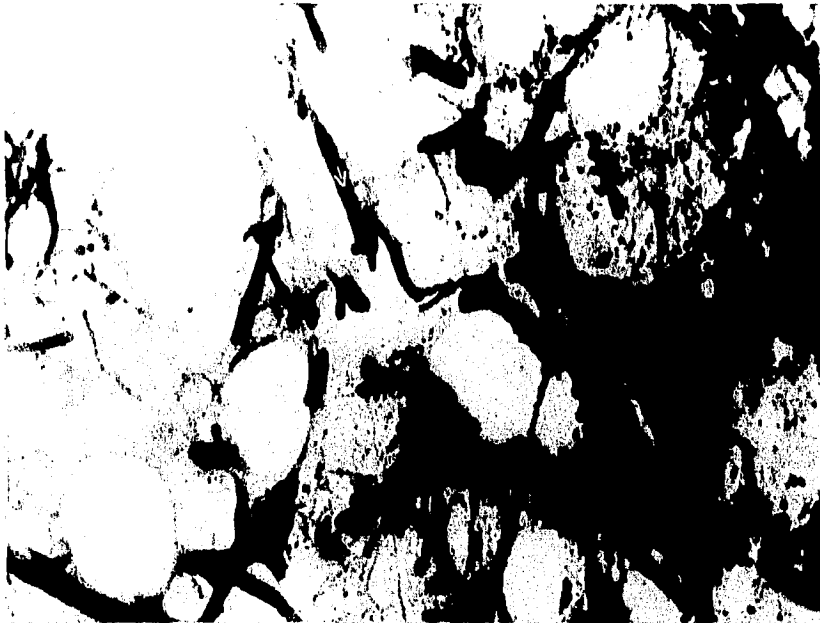


FIG. 23. REGION ADIPOSITA DE LA MATRIZ CARTILAGINOSA (Epiqlotis, ovino, 3 años). Tinción: Tünzer-Unna. En este campo se observe del lado izquierdo parte del tejido condroide que precede al tejido adiposo (derecha). Hay 2 tipos de estructuras elásticas: unos haces gruesos de fibras (flecha) y un material fibrogranular fino (1). Compare con la figura 22. Aumento final: 750x.

DISCUSION

A) CANIDEOS.

a) Mucosa.

Como característica relevante de esta túnica, encontramos la ausencia de un epitelio de tipo respiratorio (pseudoestratificado columnar ciliado con exocinocitos caliciformes) en la cara laríngea de la mucosa, tal como se reporta en el ser humano (Eroschenko, 1993). Es interesante destacar que en ninguna de las tres especies estudiadas en el presente trabajo se presentó dicho epitelio, siendo sustituido por uno de tipo estratificado escamoso de grosor y cornificación variables. Esta diferencia parece indicar un grado de especialización mayor en funciones respiratorias, para la cara laríngea de la epiglottis humana. Si consideramos que el ser humano, a diferencia de los animales domésticos, no es capaz de respirar durante la deglución de los alimentos (Keith y col., 1977), pudiese ser esta característica propia de especie una consecuencia de su desarrollo evolutivo (postura bípeda, que definitivamente cambia el patrón de gravedad y de circulación aérea y de fluidos a ese nivel).

b) Cartilago epiglótico.

A diferencia de lo observado con la túnica mucosa, el cartilago epiglótico si presenta cambios de interés conforme aumenta la edad

del individuo. En primera instancia destaca la presencia de el cojinete de tejido adiposo blanco, situado en la porción central de la placa de cartilago. Esta estructura está reportada en diversos carnivoros (Bacha y Wood, 1991) y su significado funcional podria ser brindar un amortiguamiento para el paso de una gran masa de alimento contra la epiglottis, evitando la fractura del cartilago por la presión que ejerceria el bolo alimenticio. Esto es factible si consideramos los hábitos alimenticios de los animales pertenecientes a este orden, que usualmente digieren grandes trozos de alimentos prácticamente sin masticar, y ocasionalmente duros (huesos pequeños, cartilagos, masas musculares con alto contenido de colágena, etc.).

Otra característica interesante es la presencia de las trabéculas de tejido conectivo colágeno compacto irregular, que transportan vasos sanguíneos hacia el tejido adiposo, desde el pericondrio, atravesando literalmente la matriz cartilaginosa de lado a lado. Considerando la cercanía de estos vasos con el tejido cartilaginoso, es difícil pasar por alto que este cartilago no parece ser tan avascular como el cartilago hialino clásico; inclusive, dada la alta densidad celular del cartilago epiglótico, es factible que la sola nutrición por difusión desde el pericondrio fuese insuficiente. En las tres especies estudiadas se observa de un modo ó de otro cierta cercanía estructural entre vasos sanguíneos y la matriz cartilaginosa. En el cerdo y el ovino se forman procesos pericondriales que se introducen en la matriz y acercan notoriamente a los vasos sanguíneos con las células.

Por otra parte, también es importante destacar las características del tejido de aspecto indiferenciado que ocupa la porción apical del cartilago epiglótico. Este tejido, con células de aspecto mesenquimatoso parece dar origen a una línea preadipocítica, si tomamos en cuenta la presencia de vacuolas vacías de diverso tamaño en esta población celular. Si bien es necesario confirmar la naturaleza exacta de estas vacuolas, mediante una tinción con rojo oleoso ó bien con Sudán III en cortes por congelación, la estrecha relación de estas células con los adipocitos del cojinete central y con los condroblastocitos y condrocitos del cartilago de los perros de un mes, permite suponer la existencia de dos líneas celulares: una de preadipocitos y otra de precondrocitos; alternativamente, otros autores han propuesto la existencia de una sola línea de precondrocitos, que posteriormente se infiltrarían de grasa para formar los "adipocitos" de la región central (Bradamante y col., 1991). De hecho, se sabe que los condrocitos pueden almacenar cantidades importantes de lípidos (Fawcett, 1987). Considerando que tanto condrocitos como adipocitos, tienen el mismo origen embriológico, es necesario hacer estudios con marcadores de diferenciación celular para aclarar este punto. Sin embargo, sea cual sea el destino de la célula precursora, parece ser que esta ya posee su capacidad de sintetizar elastina, como lo demuestra la presencia de fibras elásticas entre la población celular de esta zona apical, aún antes de presentar el patrón morfológico típico del condrocito. Esto es factible si sabemos que una población de células con aspecto de fibroblastocitos sintetiza fibras elásticas.

en el tejido conectivo de la lámina propia y submucosa de diversos órganos. Es importante mencionar que este tejido de aspecto indiferenciado prácticamente desaparece en individuos de más de 6 meses, adquiriendo el cartilago un aspecto más diferenciado y disminuyendo proporcionalmente la cantidad de tejido adiposo conforme aumenta la edad. También es posible observar la presencia de un tejido semejante al cartilago fibroso en ciertas zonas centrales del cartilago epiglótico de perros de más de 5 años. Este tejido fue positivo a Van Gieson. La presencia de este tejido tal vez tenga que ver con la falla en el recambio tisular en perros de mayor edad, asociado con las zonas de tejido degenerado, que se discute más adelante. Es muy probable que la presencia de este tejido colágeno disminuya la capacidad elástica de la estructura y por lo tanto la eficiencia funcional de la misma. Este cambio también ha sido reportado en gatos (Egerbacher y col., 1995).

En relación al patrón de fibras elásticas presente en este cartilago, se observó que es de dos tipos: unas fibras delgadas y ramificadas, que forman redes que pueden ser muy densas, dando una tonalidad marrón a la matriz, teñida con Tánzer-Unna. Estas fibras delgadas también se pueden agrupar y constituir unas fibras gruesas y de trayecto ondulado que se disponen preferentemente de modo perpendicular al pericondrio. En perros de 1 a 6 meses de edad no hay predominio de alguno de los dos tipos de fibras, pero ya en perros de un año empieza a predominar el patrón de fibras gruesas, las cuales ya son muy abundantes en perros de 2 años en adelante. Este comportamiento estructural nos permite suponer que los

entrecruzamientos de desmosina entre la elastina preexistente, se van haciendo más abundantes conforme la edad del individuo aumenta, originando fibras más gruesas, o bien, que se sintetiza elastina *de novo*, la cual se va entrecruzando con la elastina preexistente. No debe descartarse que ambos mecanismos ocurriesen. Para dilucidar este aspecto se sugiere la medición morfométrica de la elastina en cortes histológicos seriados del cartilago epiglótico de individuos de diferentes edades. Si la cantidad relativa de elastina aumenta conforme la edad, sería indicativo de que hay incremento real de la proteína en el tejido.

Finalmente, la presencia de zonas encapsuladas de aspecto degenerado en la matriz cartilaginosa y su aumento en relación a la edad, parece indicar una falla gradual en el recambio tisular o en la manutención y/o nutrición del mismo. En ausencia de una historia clínica asociada a estas zonas patológicas, es poco lo que se puede señalar de repercusiones clínicas de las mismas, aunque es probable que sea mínima o nula, ya que las muestras fueron tomadas de animales clínicamente sanos.

B) OVINOS.

a) Mucosa.

En primer término, destaca la ausencia de epitelio respiratorio del lado laríngeo (aspecto ya discutido anteriormente en la sección de canideos), siendo en esta especie el epitelio de superficie en su

totalidad de tipo estratificado escamoso cornificado o paracornificado, de grosor considerable, especialmente en adultos. Dado el tipo de alimentación, predominantemente fibrosa y con un roce continuo sobre la superficie de la cavidad oral, esta adaptación epitelial es común en los rumiantes (Deilman, 1993). Debido a la continuidad estructural de la epiglotis con la lengua, el epitelio es similar para ambas estructuras.

Otro aspecto de interés es la presencia de gran número de glándulas salivares menores, probablemente debido a la salivación que es requerida durante el proceso de la masticación y rumia del bolo alimenticio fibroso, característico de la alimentación de estos animales. De nuevo, la cercana relación anatómica de la epiglotis con las estructuras orales, parece influir en la presencia de este tipo de componentes en su estructura.

La presencia de tejido muscular estriado esquelético relativamente abundante en este órgano, pareciera estar relacionado con el mecanismo voluntario del flujo retrógrado del bolo alimenticio durante la rumia (Frandsen y Whitten, 1985).

b) Cartilago epiglótico.

A diferencia del canideo, esta estructura no presenta cambios muy relevantes en su estructura en relación a la edad de los individuos estudiados. En primera instancia destaca el perfil sumamente irregular de la placa de cartilago, con gran número de procesos pericondriales que penetran a la matriz cartilaginosa, llevando consigo además del tejido pericondrial, tejido adiposo blanco,

glándulas salivales y vasos sanguíneos arteriales y venosos. En los espacios observados, se vió que la distancia entre estos vasos sanguíneos y la matriz es muy corta, aumentando además la relación vascular global del tejido, lo cual parece apoyar el razonamiento de un cartilago elástico menos avascular que el cartilago hialino típico.

En relación al patrón de fibras elásticas de la matriz, éste es muy denso, ya desde las edades más tempranas, lo cual se refleja en el aspecto macroscópico del cartilago, más amarillento y más elástico que el de las otras dos especies. La funcionalidad de esta característica morfológica parece ser de nuevo relacionada con el hábito alimenticio de la especie considerada: la deglución de un bolo alimenticio voluminoso, que comprime a su paso la epiglotis, pero de consistencia suave, de modo tal que dicha compresión es gradual y debe ser soportada eficientemente por el patrón elástico correspondiente. Nótese que en esta especie el patrón denso de fibras se mantiene muy semejante ya desde temprana edad, por lo que es difícil saber si aumenta la cantidad de fibras al avanzar la edad. De nueva cuenta, se propone el análisis morfométrico para contribuir a la resolución del problema.

Finalmente, es importante mencionar las regiones de conversión adiposa de la matriz, ya que parece que el fenotipo adiposo y el condrocítico son de nuevo, como en la especie anterior, de estrecha relación embriológica. La evidencia morfológica pareciera indicar que un cierto grupo de condrocitos se transforma en adipocitos, desde el momento en que en zonas amplias de cartilago bien

diferenciado aparecen zonas más pequeñas de tejido adiposo, sin embargo, no se puede destacar el fenómeno inverso y mucho menos, el que existan células progenitoras que en un momento dado, den origen a ambos tipos. De nuevo, se propone el uso de marcadores de diferenciación celular (v.g. proteínas del tipo de los filamentos intermedios) ó de anticuerpos contra estos marcadores *in situ*, para contribuir a la resolución del problema. Es interesante que entre el tejido adiposo y el cartilaginoso se observa una población de células de aspecto indiferenciado, tal vez intermedias (¿ó progenitoras?) entre ambos tipos celulares. También es significativo que estas zonas de tejidos diferentes no estén separadas entre sí por pericondrio ó tejido derivado de él, como sucede en el canideo, evidenciando una relación más estrecha en el ovino que en el caso del perro.

C) SUINOS.

a) Mucosa.

Al igual que en las otras dos especies, la cara laríngea carece de un epitelio respiratorio, siendo sustituido por un epitelio estratificado escamoso con cornificación variable, semejante al del perro. Por otra parte, de modo semejante al ovino, presenta también un abundante número de glándulas salivales, aspecto probablemente relacionado también al hábito de masticación de los alimentos por parte de esta especie (Frandsen y Whitten, 1985).

La presencia de tejido muscular estriado esquelético en la lámina propia de la epiglótis del cerdo, en proporción semejante al perro, pero menor que en el ovino, parece indicar que en las primeras dos especies, la función del tejido está relacionada al acto mismo de la deglución, mientras que en los ovinos, participa además, en el mecanismo de la rumia, como se explicó arriba.

Finalmente, en el cerdo, la presencia de tejido adiposo es mucho mayor que en las otras dos especies estudiadas, especialmente hacia la base del órgano. Esto parece estar relacionado con la idiosincrasia de la especie, caracterizada por su alta capacidad de acumular grasa en sus diversas regiones corporales (Nussahag, 1966).

b) Cartilago epiglótico.

Dentro de los aspectos relevantes de la estructura del cartilago epiglótico de esta especie tenemos lo siguiente:

Al igual que en el ovino, presenta procesos pericondriales que introducen a la matriz vasos sanguíneos. Al parecer su función es semejante a la propuesta para el ovino, de modo tal que este cartilago elástico también estaría más "irrigado" que su contraparte hialina.

En relación al patrón de fibras elásticas, y de modo semejante a lo que sucede en el perro, es posible distinguir 2 tipos de fibras: delgadas, que se distribuyen por toda la matriz, muy abundantes en los cerdos de un mes; y fibras gruesas, inicialmente de distribución perilagunar y después, en adultos, ocupan casi toda la

matriz del cartilago. De nuevo, faltaria dilucidar si el cambio del patron de fibras elasticas ocurre debido a la sintesis gradual de elastina nueva conforme avanza la edad o si solo se trata de un aumento en los enlaces de desmosina de fibras preexistentes, o bien, estan involucrados ambos mecanismos.

Finalmente, se hace destacar la presencia de pequenos focos adiposos en la matriz del cartilago, sin separacion evidente entre ambos tejidos por pericondrio. Aqui es interesante la ausencia de las celulas de aspecto indiferenciado que se aprecian en las regiones semejantes de la epiglotis del ovino; en vez de ellas se encuentran celulas semejantes a fibrocitos con gran numero de vacuolas vacias de tamano variable, probablemente de grasa. A reserva de la comprobacion de este dato con tinciones de rojo oleoso o Sudán III, la presencia de estas celulas parece reforzar la hipotesis de la presencia de verdaderos preadipocitos mas que de condrocitos infiltrados de grasa. Por supuesto, no se puede descartar el origen comun de ambos tipos celulares y, para confirmar lo anterior, es conveniente realizar los estudios de diferenciacion celular propuestos.

CONCLUSIONES.

1) El patrón de distribución de las fibras elásticas del cartilago epiglótico es diferente en las tres especies estudiadas y probablemente forma parte de las adaptaciones evolutivas para el tipo de alimentación de cada una de estas especies.

2) En las tres especies, la densidad de las fibras elásticas, independientemente de su patrón característico de distribución, parece aumentar con la edad, sin que esto esté necesariamente relacionado con un aumento real de la cantidad de elastina.

3) La cercanía de los vasos sanguíneos en regiones profundas de la matriz cartilaginosa, ya sea a través de trabéculas de tejido conectivo colágeno (en el canideo) ó de procesos invaginantes del pericondrio (en el ovino y el suino), permite suponer una naturaleza menos avascular para el cartilago elástico epiglótico, al menos en las tres especies consideradas, que la descrita para el cartilago hialino clásico.

4) La tendencia del cartilago epiglótico en las tres especies estudiadas, a asociarse con depósitos de tejido adiposo blanco, plantea dos preguntas: a) ¿el origen de tejido adiposo es desde una línea preadipocítica verdadera, ó bien a partir de la infiltración

adiposa de condrocitos preexistentes?; y b) ¿Existe una célula progenitora única para el condrocito y el adipocito en este tejido? En este contexto, deben realizarse diversos estudios de diferenciación celular, utilizando marcadores específicos *in situ*.

BIBLIOGRAFIA

ANDERSON, M.L.S. y ELLIOTT, J.R. A dye-binding assay for soluble elastin. Biochemical society transactions. Vol 19 (1991) p. 388S.

BACHA Jr, J.W. y WOOD, M.L. Color atlas of veterinary histology. 2a. Ed. Lea & Febiger, E.U.A. 1991. pp. 19-20, 162-165.

BANCROFT, D.J. y STEVENS, A. Theory and practice of histological techniques. 3a Ed. Churchill livingstone, E.U.A. 1990. pp. 93-105.

BANKS, J.W. Applied veterinary histology. 2a. Ed. Williams & Wilkins, E.U.A. 1986. pp. 108-118.

BOWMAN, C.W. y RAND, J.M. Farmacología: bases bioquímicas y patológicas aplicaciones clínicas. 2a. Ed. Interamericana, México. 1984. pp. 25.1-25.3.

BRADAMANTE, Z. KNEZEVIC, K.L. SVAJGER, L.B. y SVAJGER, A. Diferentiation of the secondary elastic cartilage in the external ear of the rat. Int. journal dev. biol. Vol 35 (1991) pp. 311-320.

BRAVERMAN, M.I. Elastic fiber and microvascular abnormalities in aging skin. Clinics in geriatric medicine. Vol 5 (1989) pp. 69-90.

BROBECK, R.J. Bases fisiológicas de la práctica médica. 10a Ed. Editorial Médica Panamericana. México. 1983. pp. 191.

CLARK, G. Staining Procedures. 3a Ed. Biological Stain Commission. E.U.A. 1973. pp. 62-63.

COLMATTI, A. POLETTI, A. CARBONE, A. VOLPIN, D. y BRESSAN, M.G. Extracellular matrix of lymphoid tissues in the chick. The journal of histochemistry and cytochemistry. Vol 37 (1989) pp. 757-763.

CORREA, P. STELLA, A.J. TAMAYO, P.R. y CARBONELL., M.L. Texto de patología. 2a. Ed. La Prensa Médica Mexicana. México., 1976. pp. 814-816.

DELLMANN, D.H. Histología Veterinaria. 2a. Ed. Acribia S.A. España. 1993. pp. 32-35.

DELLMANN, D.H. y BROWN, M.E. Histología Veterinaria. 2a. Ed. Acribia S.A. España. 1976. pp. 32-35, 165-166.

DEMPSEY, W.E. VIAL, D.J. LUCAS, V.R. y LANSING, I.A. Characterization of the reaction between orcein and the elastic fibers of the ligamentum nuchae of the horse. Anat. Rec. Vol 113 (1952) pp. 197-213.

EROSCHENKO, P., y DI FIORE. Atlas of histology with functional correlation. 7a Ed. Lea & Febiger. E.U.A., 1993. pp. 214-215.

EGERBACHER, M. KRESTAN, R. y BOCK, P. Morphology, histochemistry, and differentiation of the cat's epiglottic cartilage: A supporting organ composed of elastic cartilage, fibrous cartilage, myxoid tissue, and fat tissue. The Anatomical Record. Vol 242. (1995) pp. 471-482.

FAWCETT W, D. Tratado de histología. 11a. Ed. Interamericana/Mc. Graw Hill, España. 1987. pp. 136-173, 188-198.

ESTRADA F. , E. ZAMORA P, L. y MANZANO R, P. Manual de técnicas histológicas. 1a. Ed. AGT Editor S.A. México. 1992. pp. 9-25, 30-53, 93-107.

FRACASSINI, S.A. FIELD, M.J. SMITH, W.J. y STEPHENS, S.G.W. The ultrastructure and mechanics of elastic ligaments. Journal of ultrastructure research. Vol 58 (1977) pp. 244-251.

FRANDSON, D.R. Y WHITTEN H, E. Anatomía y fisiología de los animales domésticos. 3a Ed. Interamericana. México, 1985. pp. 6-9.

GETTY, R. Anatomía de los animales domésticos. 5a Ed. Salvat Editores. México. 1982. pp. 138, 567-568, 1024-1025, 1419, 1716.

GIESE, C.A. Fisiología celular y general. 5a Ed. Interamericana. México. 1979. pp. 56-67.

GRAU, H. y WALTER, P. Histología y anatomía microscópica comparada de los animales domésticos. 1a. Ed. Editorial Labor S.A. España. 1975. pp. 43-46.

GRAY, R.W. SANDBERG, B.L. y FOSTER, A.J. Molecular model of elastin structure and function. Vol 246 (1973) pp. 461-466.

HAM W, A. y CORMACK H, D. Tratado de histología. 5a Ed. Interamericana. Mexico. 1985. pp. 350.

HAY, D.E. Cell biology of intracellular matrix. 2a Ed. Plenum. E.U.A., 1991. pp. 79-109.

HESSE, I. The occurrence of elastic system fibres in the matrix of normal articular cartilage. Cell and Tissue Research. Vol 248 (1987) pp. 589-593.

ICHIMURA, T. y HASHIMOTO, H.P. Three-dimensional fine structure of elastic fibers in the perivascular space of some circumventricular organs as revealed by high-voltage electron microscopy. Journal of Ultrastructure Research. Vol 81 (1982) pp. 172-183.

JUNQUEIRA, L.C. y CARNEIRO, J. Histología básica. 3a Ed. Salvat Editores S.A. México. 1987. pp. 135-142.

KEITH, A.D. Paz, A.M. GALLOP, M.P. y GLIMCHER, J.M. Histologic and biochemical identification and characterization of an elastin in cartilage. The Journal of Histochemistry and Cytochemistry. Vo. 25 (1977) pp. 1154-1162.

KREUTZ, W. The vascularization of epiglottic cartilage, a histological investigation. Anat Anz. Vol 148(5) (1950) pp. 428-439.

KRSTIC, V.R. General histology of the mammal. an atlas for students of medicine and biology. 1a Ed. Spring-Verlag Berlin Heidelberg, New York-Tokyo, Alemania. 1985. pp. 134-135, 176-179.

LEESON, S.T. LEESON, R.C. y PAPARO, A.A. Texto/atlas de histología. 6a Ed. Interamericana/Mc graw hill. Mexico. 1988. pp. 159-160, 166.

LEUTHARDT, F. y EDLBACHER, S. Tratado de química fisiológica. 14a Ed. Aguilar Madrid, España. 1962. pp. 731-734.

LUNA, G.L. Manual of histologic staining methods of the Armed Forces. Institute of Pathology. 3a Ed. Mc Graw Hill. E.U.A. 1963. pp. 3, 16, 34, 35, 36, 38, 39, 76, 78-80.

MANDER, K.T.S. MANDER, N.L. y CARMICHAEL, G.G. The staining mechanism of aldehyde-fuchsin, with reference to the oxytalan fiber in the mouse. The Journal of Histochemistry and Cytochemistry. Vol 16 (1968) pp. 480-485.

MECHAN, P.R. Modulation of elastin synthesis; In vitro models. Methods in enzymology. Vol 144 (1987) pp. 232-247.

NAKANURA, H. KANAI, C. y MIZUHIRA, V. An electron stain for elastic fibers using orcein. The Journal of Histochemistry and Cytochemistry. Vol 25 (1977) pp. 306-308.

NIELSEN, H.E. y BYTZER, P. High resolution scanning electron microscopy of elastic cartilage. Journal anat. Vol 129 (1979) pp. 823-831.

NUSSAHAG, W. Compendio de anatomía y fisiología de los animales domésticos. 1a Ed. Acribia. España. 1966. pp. 32-34, 38-39.

ORTEN M, J. y NEUHAUS W, O. Bioquímica humana. 10a Ed. Médica Panamericana. México. 1990. pp. 343-346, 429, 431, 435, 511.

PETRUSKA, A.J. y SANDBERG, B.L. The amino acid composition of elastin in its soluble and insoluble state. Biochemical and Biophysical Research Communications. Vol 33 (1968) pp. 222-228.

PUCHTLER, H. y MELOAN, N.S. Orcein, collastin and pseudo-elastica; a re-investigation of Unna's concepts. Histochemistry. Vol 64 (1979) pp. 119-130.

RAWN, J.D. Bioquímica. Vol I. 1a Ed. Interamericana/Mc Graw Hill. México. 1989. pp. 94-98.

ROSS, R. The elastic fiber. The Journal of Histochemistry and Cytochemistry. Vol 21 (1973) pp. 199-208.

RUBIN, E. y FALBER, L.J. Patología. 1a Ed. Médica panamericana. México. 1988. pp. 62-68.

SOEEMAN, Jr A.W. y SOEEMAN, A.W. Fisiopatología clínica. 5a Ed Interamericana. México. 1978. pp. 398-401.

STRYER, L. Bioquímica. 3a Ed. Editorial Reverte S.A. Mexico. 1938. Tomo I. pp. 280-281.

UITTO, J. Connective tissue biochemistry of the aging dermis. Clinics in geriatric medicine. Vol 5 (1989) pp. 127-147.

WELSCH, U. y STORCH, V. Estudio comparado de la citología e histología animal. 4a Ed. URMO S.A. de Ediciones. México. 1976. pp. 78-89.

WHITE, A. y HANDLER, P. Principios de bioquímica. 2a Ed. Mc Graw Hill. México. 1983. pp. 117, 875-878.