



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTILÁN**

MANUAL DE LABORATORIO DE HISTOLOGÍA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA:
ANTONIO REYES CAMPOS

ASESOR: M.V.Z. JORGE TORRES MARTÍNEZ



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

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

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

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



DEPARTAMENTO DE
EXAMENES PROFESIONALES

DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
P R E S E N T E

ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijares
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán

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

Manual de Laboratorio de Histología

que presenta el pasante: Antonio Reyes Campos
con número de cuenta: 9555640-2 para obtener el título de :
Químico Farmacéutico Biólogo

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 25 de Octubre de 2005

PRESIDENTE	<u>MVZ. Jorge Torres Martínez</u>	
VOCAL	<u>MFC. Ma. Eugenia R. Posada Galarza</u>	
SECRETARIO	<u>QFB. Ma. Esther Revuelta Miranda</u>	
PRIMER SUPLENTE	<u>QFB. Gabriela Escalante Reynoso</u>	
SEGUNDO SUPLENTE	<u>Dra. Norma Laura Delgado Buenrostro</u>	

AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIAS

Dedico este trabajo a la FFS-Cuautitlán, que fue la institución que me permitió continuar mis estudios y concluir así mi formación profesional, además de que fue el lugar que me brindó sus servicios, excelentes profesores y admirables amigos y amistades y tiempos gratos.

Dedico también este trabajo al Instituto Politécnico Nacional, ya que es la institución en donde inicié mi formación académica en forma, adquirí experiencia y me preparó para iniciar mi carrera en la FFS-Cuautitlán.

Para evitar omisiones, dedico este trabajo a mis Amigos, con quienes pasé buenos momentos, tanto con los viejos y entrañables amigos que nunca desaparecen, como con las amistades que se han desvanecido con el tiempo, pero que sin embargo recuerdo con mucho cariño, así como las amistades con las que ahora convivo y con las que vendrán.

Obviamente, los mayores agradecimientos y la especial dedicatoria es a mis Padres:

Mamá Chela, Papá Joño; pues fueron ellos quienes me enseñaron las principales reglas de la vida, me vieron crecer, me demostraron confianza, me dieron respeto y amor...y eso es lo más importante para mí. Gracias.

A mis hermanas: Momy y Sandy, que con ellas crecí y fuimos educados de la misma manera. Es con quienes comparto el mismo cariño, que es muy grande, y son ellas que se han encargado de hacer mas grande a nuestra unión familiar (y también han aumentado el número de integrantes en la familia). Ahora con mi sobrino Paco (que es y seguirá siendo un hermano para mí), mi sobrino Ángel y mi cuñado Julio.

A Jorge Torres, por haber tenido la paciencia más grande del mundo y brindarme la confianza de que terminaría este trabajo. Gracias.

Por último, pero no por eso menos importante, dedico este trabajo a ustedes, alumnos de nuevas generaciones y espero sea de provecho para su formación académica.

" Si se acepta que el total es mayor a la suma de sus partes, cada ser humano es en esencia un cúmulo de células fascinante y hábilmente complicado".

- Ramzi S. Cotran, M.D. (1932 - 2000) -

Autor asociado de Patología Humana, Robbins, S; Kumar, V y Cotran, R.

ÍNDICE GENERAL

	PAGINA
1. RESUMEN	1
2. OBJETIVOS	2
3. INTRODUCCIÓN	3
4. METODOLOGÍA	7
5. MANUAL	10
5.1 SOLUCIONES Y REACTIVOS COMUNES DE USO HISTOLÓGICO	11
5.2 TOMA DE MUESTRAS	33
5.3 TÉCNICAS DE PROCESAMIENTO DE MUESTRAS	40
5.4 INTERPRETACIÓN: COLORACIÓN HISTOLÓGICA Y FORMAS CELULARES	52
5.5 EPITELIOS	64
5.6 TEJIDO CONECTIVO	79
5.7 CITOLOGÍA SANGUÍNEA	93
5.8 TEJIDO MUSCULAR	98
5.9 TEJIDO NERVIOSO	104
5.10 PRINCIPIOS BÁSICOS Y GENERALES DE PATOLOGÍA CELULAR	113
6. DISCUSIÓN	160
7. CONCLUSIONES	161
8. GLOSARIO	162
9. BIBLIOGRAFÍA	169

ÍNDICE DESCRIPTIVO

	PÁGINA
1. RESUMEN	1
2. OBJETIVOS	2
2.1 OBJETIVO GENERAL	2
2.2 OBJETIVOS PARTICULARES	2
3. INTRODUCCIÓN	3
4. METODOLOGÍA	7
5. MANUAL	10
5.1 SOLUCIONES Y REACTIVOS COMUNES DE USO HISTOLÓGICO	11
5.1.1 REACTIVOS FIJADORES	11
5.1.1.1 EL FORMOL COMO FIJADOR DE RUTINA.....	13
5.1.1.2 FORMOL AL 10 %.....	15
PRÁCTICA 1 PREPARACIÓN DE FORMOL AL 10 %	16
5.1.1.3 LÍQUIDO DE BOUIN.....	17
PRÁCTICA 2 PREPARACIÓN DE LÍQUIDO DE BOUIN	18
5.1.2 REACTIVOS DESHIDRATANTES	19
5.1.3 REACTIVOS OPACANTES	20
5.1.4 REACTIVOS ACLARANTES	20
5.1.5 REACTIVOS “INOFENSIVOS”	21
5.1.5.1 ISOTONICIDAD.....	21
5.1.6 REACTIVOS ABLANDADORES (DESCALCIFICANTES)	24
5.1.6.1 DESCALCIFICACIÓN CON ÁCIDOS.....	24
5.1.6.2 DESCALCIFICACIÓN CON AGENTES QUELANTES.....	25
5.1.7 REACTIVOS AISLADORES	26
5.1.8 REACTIVOS COLORANTES	26
5.1.8.1 CARACTERÍSTICAS DE LOS COLORANTES.....	27
5.1.8.2 CLASIFICACIÓN GENERAL DE LOS COLORANTES PARA HISTOLOGÍA.....	28
5.1.8.3 TINCIÓN CON HEMATOXILINA Y EOSINA (H-E).....	29
5.1.9 REACTIVOS CONSERVADORES	32
5.2 TOMA DE MUESTRA	33
5.2.1 CONSIDERACIONES PARA LA TOMA DE MUESTRA	33
5.2.2 TOMA DE MUESTRA POR PERFUSIÓN INTRACARDIACA	36
PRÁCTICA 3 TOMA DE MUESTRA POR PERFUSIÓN INTRACARDIACA	38

5.3	TÉCNICAS DE PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA	40
5.3.1	CONSIDERACIONES BÁSICAS.....	41
5.3.2	TOMA DE MUESTRA.....	42
5.3.3	FIJACIÓN.....	42
5.3.4	DESHIDRATACIÓN.....	42
5.3.5	ACLARAMIENTO.....	42
5.3.6	INFILTRACIÓN.....	43
5.3.7	INCLUSIÓN EN PARAFINA.....	43
5.3.8	EQUIPO DE PROCESAMIENTO DE MUESTRAS (HISTOQUINETTE).....	44
5.3.9	CORTE (SECCIÓN DE BLOQUES DE PARAFINA EN MICROTOMO).....	45
5.3.10	MONTAJE Y COLORACIÓN (TREN DE TINCIÓN DE H-E).....	46
5.3.11	CONSERVACIÓN DE LOS CORTES O SECCIONES.....	47
5.3.12	INTERPRETACIÓN MICROSCÓPICA.....	48
5.4	INTERPRETACIÓN: COLORACIÓN HISTOLÓGICA Y FORMAS CELULARES	52
5.4.1	TINCIÓN CON HEMATOXILINA Y EOSINA (H-E).....	52
5.4.2	TINCIÓN CON ÁCIDO PERYÓDICO DE SCHIFF (PAS).....	53
5.4.3	TINCIÓN PARA TEJIDO CONECTIVO.....	55
5.4.4	TINCIÓN PARA LÍPIDOS (SUDÁN IV).....	57
5.4.5	TINCIÓN PARA TEJIDO NERVIOSO (ARGÉNTICA DE RÍO HORTEGA).....	58
5.4.6	INTERPRETACIÓN DE LAS FORMAS CELULARES.....	58
PRÁCTICA 4	INTERPRETACIÓN DE SECCIONES DE CORTES HISTOLÓGICOS..... (MORFOLOGÍA CELULAR)	61
5.5	EPITELIOS	64
5.5.1	CLASIFICACIÓN DE LOS EPITELIOS.....	64
5.5.2	EPITELIO ESCAMOSO SIMPLE.....	66
5.5.3	EPITELIO ESCAMOSO ESTRATIFICADO.....	67
5.5.4	EPITELIO CUBOIDE SIMPLE.....	68
5.5.5	EPITELIO CUBOIDE ESTRATIFICADO.....	68
5.5.6	EPITELIO COLUMNAR SIMPLE.....	69
5.5.7	EPITELIO COLUMNAR ESTRATIFICADO.....	70
5.5.8	EPITELIO PSEUDOESTRATIFICADO.....	70
5.5.9	EPITELIO DE TRANSICIÓN.....	72
PRÁCTICA 5	INTERPRETACIÓN DE SECCIONES DEL TEJIDO EPITELIAL.....	73
PRÁCTICA 6	INTERPRETACIÓN DE SECCIONES DEL TEJIDO EPITELIAL GLANDULAR..... EXOCRINO Y ENDOCRINO.	76
PRÁCTICA 7	INTERPRETACIÓN DE SECCIONES DE LA PIEL.....	78

	PÁGINA
5.6 TEJIDO CONECTIVO	79
5.6.1 MATERIAL EXTRACELULAR.....	79
5.6.2 CÉLULAS DEL TEJIDO CONECTIVO.....	80
5.6.3 TIPOS DE TEJIDO CONECTIVO.....	81
5.6.4 TEJIDO ADIPOSO.....	82
PRÁCTICA 8 INTERPRETACIÓN DE SECCIONES DEL TEJIDO CONECTIVO	83
5.6.5 TEJIDO CONECTIVO ESPECIAL.....	84
5.6.5.1 CARTÍLAGO Y HUESO.....	84
PRÁCTICA 9 INTERPRETACIÓN DE SECCIONES DE TEJIDO CARTILAGINOSO Y ÓSEO	87
5.6.5.2 TEJIDO HEMATOPOYÉTICO Y SANGRE.....	88
PRÁCTICA 10 INTERPRETACIÓN DE SECCIONES DEL TEJIDO HEMATOPOYÉTICO LINFOIDE	92
5.7 CITOLOGÍA SANGUÍNEA	93
5.7.1 TOMA DE MUESTRA PARA CÉLULAS SANGUÍNEAS.....	93
PRÁCTICA 11 PREPARACIÓN DE EXTENDIDOS SANGUÍNEOS	94
5.7.2 INTERPRETACIÓN MICROSCÓPICA.....	96
PRÁCTICA 12 INTERPRETACIÓN DE FROTIS SANGUÍNEO	97
5.8 TEJIDO MUSCULAR	98
5.8.1 TEJIDO MUSCULAR LISO.....	99
5.8.2 TEJIDO MUSCULAR ESTRIADO.....	100
5.8.2.1 MÚSCULO ESQUELÉTICO.....	100
5.8.2.2 MÚSCULO CARDIACO.....	102
PRÁCTICA 13 INTERPRETACIÓN DE SECCIONES DEL TEJIDO MUSCULAR	104
5.9 TEJIDO NERVIOSO	105
5.9.1 NEUROGLÍA.....	105
5.9.2 NEURONAS.....	106
5.9.3 EL SISTEMA NERVIOSO.....	107
5.9.3.1 SISTEMA NERVIOSO CENTRAL (SNC).....	108
5.9.3.2 SISTEMA NERVIOSO PERIFÉRICO (SNP).....	110
PRÁCTICA 14 INTERPRETACIÓN DE SECCIONES DEL TEJIDO NERVIOSO	112

	PÁGINA
5.10 PRINCIPIOS BÁSICOS Y GENERALES DE PATOLOGÍA CELULAR	114
5.10.1 LESIÓN Y ADAPTACIÓN CELULAR	115
5.10.1.1 CAUSAS DE LESIÓN, ADAPTACIÓN Y MUERTE CELULAR.....	117
5.10.1.2 MORFOLOGÍA DE LA LESIÓN CELULAR.....	120
5.10.1.3 ADAPTACIÓN CELULAR.....	121
5.10.2 INFLAMACIÓN Y REPARACIÓN CELULAR	123
5.10.2.1 INFLAMACIÓN.....	124
5.10.2.2 CLASIFICACIÓN DE LAS CÉLULAS REGENERATIVAS.....	126
5.10.2.3 REGENERACIÓN PARENQUIMATOSA.....	128
5.10.2.4 REPARACIÓN MEDIANTE TEJIDO CONECTIVO.....	128
5.10.2.5 MECANISMOS QUE PARTICIPAN EN LA REPARACIÓN.....	130
5.10.3 NEOPLASIA	133
5.10.3.1 PROLIFERACIÓN CELULAR NO NEOPLÁSICA.....	134
5.10.3.1.1 HIPERPLASIA.....	134
5.10.3.1.2 METAPLASIA.....	136
5.10.3.1.3 DISPLASIA.....	138
5.10.3.2 PROLIFERACIÓN CELULAR NEOPLÁSICA.....	139
5.10.3.2.1 DIFERENCIACIÓN Y ANAPLASIA.....	140
5.10.3.2.2 RITMO DE CRECIMIENTO Y PROGRESIÓN TUMORAL.....	142
5.10.3.2.3 ENCAPSULACIÓN E INVASIÓN.....	144
5.10.3.2.4 METÁSTASIS.....	145
5.10.4 CÁNCER	146
5.10.4.1 CARACTERÍSTICAS DE LAS CÉLULAS TRANSFORMADAS.....	154
 PRÁCTICA 15 ANATOMÍA GENERAL	 159
 6. DISCUSIÓN	 160
 7. CONCLUSIONES	 161
 8. GLOSARIO	 162
 9. BIBLIOGRAFÍA	 169

ÍNDICE DE RECUADROS Y FIGURAS

No. Figura o Diagrama	Descripción	Página
2-1	Hematoxilina.	30
2-2	Hemateína.	30
2-3	Complejo Aluminio-Hemateína unido a un grupo fosfato de los ácidos nucleicos.	31
2-4	Eosina.	31
3-1	Órgano tubular.	34
3-2	Cortes y vistas de un órgano tubular.	34
3-3	Corte de un órgano parenquimatoso.	35
3-4	Diagrama de la perfusión cardiaca.	39
4-1	Sección de nervio periférico.	48
4-2	Perspectiva de células hepáticas.	49
4-3	Estructuras tridimensionales que son seccionadas por un plano de corte.	49
4-4	Sección de estructuras tridimensionales.	49
4-5	Cortes seriados en un tejido y sus secciones.	50
4-6	Varias direcciones de corte de una estructura tubular.	50
4-7	Cortando una estructura tubular curveada.	50
4-8	Tejido plano compuesto por una sola capa celular.	51
4-9	Cortando una tejido de forma esférica.	51
5-1	Reacción de PAS, 1er. paso [oxidación con ácido peryódico].	53
5-2	Reacción de PAS, 2o. paso [Reactivo de Schiff].	54
6-1	Epitelio escamoso simple.	66
6-2	Epitelio escamoso estratificado.	67
6-3	Epitelio escamoso estratificado queratinizado.	67
6-4	Epitelio cuboide simple.	68
6-5	Epitelio cuboide estratificado.	68
6-6	Epitelio columnar simple.	69
6-7	Epitelio columnar simple con microvellosidades.	69
6-8	Epitelio columnar estratificado.	70
6-9	Epitelio pseudoestratificado.	70

ÍNDICE DE RECUADROS Y FIGURAS (continuación)

No. Figura o Diagrama	Descripción	Página
6-10	Cilio.	71
6-11	Movimiento ciliar.	71
6-12	Epitelio de transición [relajado].	72
6-13	Epitelio de transición [distendido].	72
7-1	Hematopoyesis y sitios en donde se llegan a desarrollar algunas células.	89
8-1 (a, b, c)	Esquema de preparación de extendidos sanguíneos.	95
8-2	Porcentaje celular sanguíneo en un adulto normal.	96
11-1 (a, b)	Comparación entre células normales e hiperplásicas.	136
11-2	Metaplasia.	137
11-3	Displasia.	138
11-4 (a, b)	Comparación entre diferenciación y anaplasia.	141
11-5	Porcentaje de defunciones por sexo para tumores malignos, 1997-2004	147
11-6 (a, b)	Distribución porcentual de las principales causas de defunción por tumores malignos según sexo, 2004.	148
11-7	Comparaciones entre tumores benignos y malignos.	150

1. RESUMEN

La Histología es parte fundamental para el desarrollo profesional de cualquier estudiante de las ciencias médicas y de la salud, y por lo mismo, merece especial atención en su enseñanza, así como en su comprensión. Por tal motivo, muchas facultades, universidades, institutos, etc., que cuentan con la enseñanza en carreras relacionadas al área médica y de la salud, imparten la Histología como materia básica dentro de su plan de estudios o la incluyen dentro de alguna asignatura afín.

La Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán (FES-Cuautitlán), en donde se imparte la carrera de **Químico Farmacéutico Biólogo** (QFB), como carrera relacionada con el área médica y de la salud, no cuenta con la asignatura de Histología, pero se imparte la asignatura de Morfofisiología, que en cierta forma está relacionada con la Histología. Por otro lado, la carrera de QFB actualmente presenta un tronco común de asignaturas hasta el 7º semestre, después la carrera se divide en dos orientaciones de especialidad: orientación Farmacia y orientación Bioquímica Clínica.

Recientemente, la FES-Cuautitlán ha determinado la desaparición de la carrera de Químico Farmacéutico Biólogo, con la consiguiente aparición de dos carreras nuevas, mismas que parten de lo que era el QFB y considerando las orientaciones con las cuales se complementaba. Las nuevas carreras que se forman son: **Licenciado en Farmacia** y **Licenciado en Química Bioanalítica**. Estas dos nuevas carreras pretenden darle un mayor impulso a los alumnos al egresar, proporcionándoles un perfil y una orientación más definida para cada área, permitiendo que tengan un mejor desempeño como futuros profesionistas de la salud.

Uno de los cambios, dentro del nuevo plan de estudios de las carreras es que la asignatura de Morfofisiología desaparece como materia básica. Sin embargo, para la carrera de Licenciado en Química Bioanalítica se ha incluido la asignatura de Anatomía e Histología, misma que se complementará con otras asignaturas, como Fisiología. Ahora se requerirá preparar al profesionista en la parte histológica con mayor profundidad.

Por tal motivo, se propone este trabajo como ayuda didáctica a las nuevas generaciones de la carrera de Licenciado en Química Bioanalítica, la opción que se presenta es:

- Exponer este trabajo como propuesta para elaborar un Manual para el Laboratorio de Histología como apoyo a la asignatura de Anatomía e Histología.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

- Realizar un Manual para el Laboratorio de Histología que servirá como apoyo a la asignatura de Anatomía e Histología perteneciente a la carrera de Licenciado en Química Bioanalítica que se impartirá ahora en la FES-Cuautitlán.

2.2 OBJETIVOS PARTICULARES

- Instruir al alumno en las bases de técnicas histológicas, en el uso y aplicación de reactivos, toma y procesamiento de muestras y, desempeño dentro del laboratorio.
- Enseñar al alumno a identificar y reconocer los diferentes tipos de células y tejidos en función de las características morfológicas que poseen, así como las características que adquieren después de los tratamientos realizados en ellos.
- Introducir al alumno en los principios básicos de Patología Celular como complemento comparativo al estado “normal” de la célula.
- Ampliar la visión de la Histología como una disciplina que requiere bases interdisciplinarias y que además complementa el desarrollo profesional en diferentes áreas dedicadas a la salud.

3. INTRODUCCIÓN

La Histología (del gr. *Histos*.-Tejido y *logos*.- estudio o tratado), es la ciencia que estudia los tejidos y sus componentes. La Histología estudia cortes de tejidos de plantas y animales a nivel microscópico. Dichos cortes son extremadamente delgados y muy pálidos como para poder apreciarse a simple vista. El espesor de los cortes de tejido que se estudian oscilan en unidades de micras (para microscopía óptica), nanómetros e incluso °Angstroms (para microscopía electrónica). Siendo entonces requerido el microscopio para su estudio, a esta rama de la Biología se le conoce también como Anatomía Microscópica.

Existen varias disciplinas relacionadas con la Histología, como lo es su antecedente primario, la Anatomía, misma que mantiene los pilares de las ciencias médicas. En su origen, la Anatomía se remonta desde tiempos antiguos y cobra gran importancia emergiendo de las Artes. Grandes artistas, como Da Vinci, dibujaron varias láminas que representaban al cuerpo humano, posteriormente el científico Vesalius dibujó también el cuerpo humano con un detalle artístico impresionante. Para esto se recurrió a la disección, práctica no muy bien vista por algún sector social y que de hecho fue prohibida. Muchos laboratorios clandestinos llegaron a exhumar cadáveres con el fin de practicar la disección y hacer estudios anatómicos. Actualmente se practica la disección en diversos planteles de educación de ciencias médicas y ahora podemos ver representaciones anatómicas y disecciones en diferentes textos, incluso por medios electrónicos se ha difundido ampliamente y existe la posibilidad de estudiar disecciones anatómicas en diferentes páginas de Internet.

La Histología se basa en el estudio de las partes anatómicas obtenidas de una disección, dándoles un tratamiento previo para poder ser vistas en el microscopio y así estudiar los diferentes componentes de los tejidos obtenidos. Así mismo, la Histología, en sus inicios, requirió de ciertas aplicaciones artísticas para poder representar esquemáticamente lo observado en el microscopio. En estos tiempos, es posible fotografiar tejidos en sus diferentes coloraciones y podemos observarlas en libros, revistas de divulgación científica, vías de comunicación electrónicas, etc.

La Histología, además de que nos permite comprender la fisiología de los organismos multicelulares en función de la morfología que presentan los componentes de sus tejidos y células, nos ayuda a comprender otras áreas como: inmunología, hematología, patología, patología diagnóstica, etc., puesto que la Histología presenta un enfoque íntegro de estructura y función celulares.

El laboratorio de Histología nos permitirá estudiar y conocer las estructuras celulares y/o histológicas y nos permitirá relacionar la función que desempeñan en un organismo. Para dicho propósito, emplearemos técnicas especiales que involucran la toma y tratamiento de muestras, así como la observación e interpretación de las mismas.

Este laboratorio, al igual que el de otras asignaturas, pretende aplicar los conocimientos teóricos y reforzarlos. En este caso, la apreciación visual resulta por demás importante, ya que se requiere ante todo dar interpretación de laminillas que contienen un sin número de arreglos celulares y/o tisulares. Con tiempo y adiestramiento seremos capaces de diferenciar, clasificar e identificar a qué órgano pertenecen tales estructuras celulares y nos podremos dar idea de la función que realizan al observarlas en el microscopio, así como detectar posibles anomalías para fines de diagnóstico.

Antes de observar laminillas debemos conocer los tratamientos previos que se les da a las muestras para poder ser observadas. Estos tratamientos se basan en las propiedades físicas y químicas de células y tejidos, los cuales no exceden muchas veces los conocimientos básicos que se han adquirido a lo largo de la carrera, por lo que el recordar los conceptos de estas propiedades nos agilizará el estudio de las técnicas generales de tratamiento de las muestras. Así mismo debemos tener en cuenta las propiedades bioquímicas de la célula y de los sistemas en general. Sólo así podremos utilizar o pensar en algún tratamiento histológico con mayor criterio. Por lo anterior podemos decir que la Histología es realmente una recopilación de información de diferentes áreas y disciplinas, y esto la ha hecho una materia totalmente interdisciplinaria.

Para estudiar a la materia es necesario deshacerla y desmenuzarla en las partes más pequeñas que la constituyen y analizarlas para posteriormente integrarlas todas y tratar de dar una explicación general, en este caso, de la materia misma. Al igual, un organismo vivo que se va a estudiar requiere separarse en sus partes, esto es, y siguiendo un orden decreciente, en: sistemas, órganos, tejidos, células, componentes subcelulares, componentes químicos dependiendo del nivel que requerimos. Si requerimos un mayor detalle de estudio, mayor será el nivel decreciente al que debemos llegar.

Actualmente, las nuevas técnicas histológicas han permitido el estudio de los tejidos hasta niveles moleculares. Así mismo, el estudio y la aplicación de las nuevas técnicas histológicas se han vuelto más complejas. La histoquímica, por ejemplo, utiliza métodos químicos e inmunológicos (inmunohistoquímica e inmunocitoquímica) a nivel molecular. Obviamente al trabajar a dichos niveles de complejidad, se requieren materiales y laboratorios muy sofisticados. Por ejemplo, se ha determinado que la proteína p27^{BBP}, presente en levaduras y en mamíferos incluyendo al hombre, parece que se ha conservado durante la evolución. Esta proteína es esencial para la génesis de ribosomas y también está implicada en la funcionalidad de filamentos intermediarios celulares y algunas proteínas denominadas integrinas. La hipótesis de la conservación de la p27^{BBP} durante la evolución se postula después de que se determina la presencia de una proteína muy similar a la p27^{BBP} y con sus mismas propiedades inmunológicas en los tejidos de animales primitivos como la *Sepia officinalis*, animal cefalópodo invertebrado. La proteína encontrada en dicho animal se detectó por métodos inmunohistoquímicos, utilizando una técnica indirecta de inmunoreacción con

impregnación de oro en secciones ultradelgadas de piel humana y tejido de la Sepia y evaluados por microscopía electrónica. ^(Bairati y col, 2005)

Sin embargo, estudiar las técnicas y los métodos básicos resulta de gran importancia, ya que sus principios pueden ser extrapolados y en algunas ocasiones se puede escalar a niveles más elevados, como el que se acaba de mencionar.

Finalmente, para desempeñarse en este laboratorio, es necesario (como en cualquier otro laboratorio) seguir con las normas de seguridad generales de laboratorio, con las cuales podremos asegurar un desempeño eficiente y totalmente seguro.

La seguridad e higiene en un laboratorio es ahora una de las características más importantes con que éste debe contar, dada la experiencia de actos y condiciones inseguras que se dan por diferentes motivos, sobre todo por actos de negligencia, malas costumbres y hasta ignorancia. Esto ha motivado a que se investigue más en este campo se amplíe y se difunda por todos los medios posibles, a tal grado de que ahora se puede encontrar información específica en higiene y seguridad en un sin número de referencias bibliográficas y páginas electrónicas. Se ha concluido que el sufrir un accidente de laboratorio resulta, en la mayoría de los casos, por condiciones y/o por actos inseguros donde la persona responsable es totalmente consciente de las malas condiciones de su área de trabajo y de las acciones poco seguras que realiza.

Es importante definir que es una condición insegura y un acto inseguro. Una **condición insegura** es cualquier falla o defecto dentro del ambiente de trabajo, equipo y/o herramienta de trabajo que representa un peligro o riesgo físico y que entonces puede ocasionar algún accidente. Un **acto inseguro** es la manera incorrecta de ejecutar un trabajo o cualquier acción que pueda provocar un accidente. Por ejemplo, alguien que está realizando una actividad mientras que su mesa de trabajo quedó impregnada con alguna sustancia inflamable, está trabajando en condiciones inseguras. Decidir trabajar sobre la mesa impregnada de dicha sustancia, ya sea consciente o inconscientemente, es un acto inseguro que puede desencadenar en un accidente.

Consideraciones básicas son casi suficientes para trabajar con seguridad, como por ejemplo:

1. Usar bata de laboratorio.
2. Utilizar el equipo correcto en caso necesario: goggles, guantes, cubrebocas.
3. Utilizar el material indicado para la práctica.
4. No ingerir alimentos ni fumar dentro del laboratorio.
5. Mantener limpio el lugar de trabajo, antes, durante y después de trabajar.
6. Tener bien claro que es lo que se va a realizar en la práctica.
7. Seguir las instrucciones del profesor o responsable de laboratorio.
8. Conocer las características principales de los reactivos utilizados en el laboratorio.

Para el último punto es importante mencionar que actualmente todas las sustancias grado reactivo, que son las que se encuentran en el envase de origen, presentan en la etiqueta del fabricante las características principales de cada sustancia, así como los posibles riesgos a la salud que pudieran presentar. La mayoría presentan pictogramas como símbolo general del efecto que provocan a la salud y/o al medio ambiente, así como leyendas de advertencia, por lo que es importante observarlas antes de trabajar con dichos reactivos.

Los reactivos de trabajo, los cuales han sido preparados a partir de las sustancias de grado reactivo, diluyéndose a concentraciones específicas requeridas, se deberán etiquetar correctamente indicando el nombre de la sustancia, la fecha de preparación, posible fecha de caducidad y señales de advertencia en caso de sustancias peligrosas que atenten con la salud, tales como ácidos concentrados, álcalis concentradas, sustancias orgánicas volátiles, sustancias inflamables* y/o explosivas, sustancias altamente tóxicas, etc. Para estos casos es muy importante que consultemos la referencia adecuada, investigar un poco acerca de las sustancias de trabajo que se preparen y mantenerlos en recipientes adecuados, en condiciones que no alteren su reactividad aumentándola y haciéndolos igualmente peligrosos. Conocemos referencias bibliográficas que podemos consultar antes de comenzar una práctica (INDEX MERCK).

Los desechos biológicos como: hisopos con muestras de exudados, frotis citológicos, tejidos, fluidos corporales, animales de laboratorio muertos, y los desechos punzocortantes como: lancetas usadas, jeringas y agujas, equipo de venoclisis, hojas de bisturí, etc., deberán ser depositados en contenedores especiales para desechos biológicos o desechos punzocortantes respectivamente, o en su caso envueltos cuidadosamente en papel para ser incinerados.

Las consideraciones anteriores de higiene y seguridad, entonces, son aplicables a todos los laboratorios. En el laboratorio de histología, la mayoría de las veces, no representa riesgos por el tipo de actividad que se realiza, esto es, cuando las prácticas son básicamente la observación de laminillas en el microscopio, pero sí lo es cuando se realizan técnicas histológicas como toma y tratamiento de muestras.

Respetar ciertas normas básicas es importante y aplicable en la vida profesional, ya que actualmente muchas industrias (farmacéuticas, farmoquímicas, químicas, etc.) y hospitales, tiene programas de evaluación de accidentes.

* Inflamable proviene de la preposición latina *in*- que significa en y se complementa con *flammare*.- que significa llama. Así que literalmente, inflamable quiere decir “en llama”. Sin embargo, existe la posibilidad de que el prefijo *in* también se refiera a *intens*, esto es, que intensifica. Siendo así, literalmente sería algo que “intensifica la llama”, o como lo dice su definición.-algo que es fácil de crear llama o de prenderse. Este caso especial muestra que el prefijo *in* no siempre denota una negación, como se aplica en algunas otras palabras. Así se aclara cómo erróneamente algunas personas piensan que inflamable quiere decir “que no produce llama”. Por lo tanto, nunca se debe utilizar la palabra flamable, ya que ésta denominación, además de ser incorrecta, no existe en español.

4. METODOLOGÍA

Este trabajo se realizó básicamente por investigación bibliográfica, de dónde se resume y se toman textos específicos que se consideraron como los que mejor se adaptan al manual, y además se enriquece, en algunos casos, con ciertos detalles y recomendaciones de acuerdo a la experiencia laboral adquirida.

El formato del manual se presenta como sigue:

- Un índice general del contenido de la tesis, y que indica también el contenido general de cada capítulo del manual.
- Un índice específico donde se indica la ubicación de cada capítulo, subcapítulo y cada práctica.
- Un índice de figuras y diagramas, donde también se especifica la ubicación de cada uno.
- Capítulos y subcapítulos que llevan una secuencia lógica de acuerdo a lo que se requiere ir conociendo gradualmente, los cuales contienen: definiciones, descripciones y teoría general. Esto es en sí el marco teórico de ésta tesis.
- Una práctica de laboratorio que se incluye, en algunos casos, al final de cada capítulo o subcapítulo, según se consideró indispensable como complemento al desarrollo teórico. Cada práctica contiene sus objetivos, un breve resumen de la práctica, material a utilizar y los pasos a seguir, mismos que se detallan en secuencia lógica en forma clara y concisa, como un instructivo de trabajo. El formato de las prácticas es diferente, con otro tipo de letra y tamaño, esto con el fin de diferenciarlas del contenido teórico del manual.
- Glosario, el cual puede ser consultado en cualquier momento por el estudiante. Este refuerza el conocimiento y el lenguaje que se debe utilizar y que se requiere para un curso de Histología.
- Bibliografía, la cual está conformada por textos actualizados, otros que son de ediciones pasadas en donde se revisaron temas históricos importantes, textos de actualización como revistas de divulgación científica y páginas electrónicas. Con esto el estudiante puede recurrir a los textos utilizados en la elaboración del manual, donde se puede ampliar y profundizar más sobre un tema específico.

El manual se inicia con las sustancias que generalmente se emplean en Histología, exhortando al alumno a que investigue previamente las características

fisicoquímicas generales de las sustancias y los posibles riesgos a la salud que éstas pueden causar. Este primer capítulo formará al alumno un mejor criterio para la correcta aplicación de sustancias y reactivos. Se incluyen prácticas de preparación de algunos reactivos, mismas que son muy básicas y ya muy conocidas por el alumno, pero es de vital importancia que se apliquen en la forma en que se describen en el manual. Esto reforzará aún más el desarrollo profesional del estudiante, cuidando ciertos detalles de laboratorio que con el tiempo se van perdiendo, ya que actualmente el ámbito laboral donde se pueda desenvolver el futuro profesionista es cada vez es más demandante y exigente, además de que recrimina fuertemente aspectos básicos que no se cumplen, como lo es una simple preparación de soluciones cuando ésta se realiza sin cuidado alguno.

El manual se continúa con la toma de muestras histológicas y su procesamiento, pasos muy importantes y críticos. Muchas veces, el éxito de una interpretación o diagnóstico histológico, depende en gran medida de la correcta toma de muestra y de su procesamiento. En el ámbito laboral, un diagnóstico histológico no acertado causado por una toma de muestra errónea o por un tratamiento deficiente de la misma, puede significar la muerte de un paciente.

En general, los primeros capítulos están relacionados con aspectos prácticos, esto es, manejo de materiales y sustancias, además de la toma, manejo y procesamiento de muestras. De esta forma, al término de los capítulos previos, el alumno ahora conocerá que y cómo va a interpretar la muestra tomada en el microscopio.

Así, los próximos capítulos son básicamente dedicados a la interpretación. Interpretar células y tejidos requiere de un buen entrenamiento para poder adquirir la destreza en el reconocimiento morfofisiológico. Se trata de que el alumno encuentre sentido en lo que observa con la función que realizan las células, tejidos y órganos presentados en el microscopio. Para interpretar correctamente se requiere primero conocer los diferentes tipos de tinción que existen en Histología y saber que coloraciones adquieren los tejidos después del tratamiento. De esta forma, el capítulo que sigue está dedicado a los diferentes tipos de tinción histológica, posteriormente se induce al reconocimiento e identificación de las diferentes características celulares que podemos encontrar, así como los diferentes arreglos histológicos.

En los siguientes capítulos aprenderemos a interpretar tejidos complejos que componen a un organismo, iniciando con epitelios, después con algunos órganos parenquimatosos y tejidos especializados, así como algunas glándulas. Es importante que el alumno aprenda a comparar lo que observa en clase con lo encontrado en diferentes textos de atlas histológicos.

El manual concluye con una breve introducción a los principios básicos de Patología Celular. Es importante mencionar que sólo se introduce al alumno al conocimiento básico de los cambios que se presentan entre las células y tejidos

normales, con los patológicos y por ningún motivo se pretende tener éste capítulo como un tratado de la Patología Celular, por lo que el alumno tendrá que buscar una bibliografía extensa si requiere comprender más sobre un tema específico.

Se decidió dejar el capítulo de Patología Celular al último debido a que muchas veces, durante el curso normal de la asignatura de Histología, se hace mención esporádica de los cambios que se pueden encontrar en células o tejidos en estado patológico. Así que los principios básicos y generales de Patología Celular resultan ser un complemento durante el curso normal de la asignatura y puede ser usado según el juicio del profesor o por interés propio del alumno. Lo que sí es muy importante mencionar, es que con éste capítulo se enfatiza la importancia de la Histología como materia básica para cualquier profesión encaminada a la salud.

Se presenta una última práctica, en donde se practica la disección de un cuerpo. Dicha práctica pretende integrar todos los conocimientos (teóricos y prácticos) adquiridos durante el curso de la asignatura y reforzar a la parte de Anatomía como complemento importante de la Histología.

Por último es importante mencionar que en algunas prácticas se hace énfasis en acatar las indicaciones del profesor o responsable de laboratorio. No se incluye un capítulo dedicado a higiene y seguridad, sin embargo en la parte final de la introducción de ésta tesis se mencionan algunos principios básicos. La higiene y seguridad en laboratorio es de suma importancia para un desarrollo exitoso de cada práctica realizada.

5. MANUAL DE HISTOLOGÍA

A continuación se presenta el “Manual de Laboratorio de Histología”, mismo que ya cuenta con su propio marco teórico en cada capítulo desarrollado y en cada práctica.

El contenido general del manual es el siguiente:

- 5.1 SOLUCIONES Y REACTIVOS COMUNES DE USO HISTOLÓGICO**
- 5.2 TOMA DE MUESTRAS**
- 5.3 TÉCNICAS DE PROCESAMIENTO DE MUESTRAS**
- 5.4 INTERPRETACIÓN: COLORACIÓN HISTOLÓGICA Y FORMAS CELULARES**
- 5.5 EPITELIOS**
- 5.6 TEJIDO CONECTIVO**
- 5.7 CITOLOGÍA SANGUÍNEA**
- 5.8 TEJIDO MUSCULAR**
- 5.9 TEJIDO NERVIOSO**
- 5.10 PRINCIPIOS BÁSICOS Y GENERALES DE PATOLOGÍA CELULAR**

5.1 SOLUCIONES Y REACTIVOS COMUNES DE USO HISTOLÓGICO.

Los reactivos utilizados en Histología son sustancias químicas que provocan modificaciones en los tejidos. Estas modificaciones pueden ser de tipo físico o químico. (Kiernan, 1990)

La ventaja que se obtiene al modificar los tejidos con diferentes reactivos es que de esta forma podemos estudiar detalles que no podríamos apreciar si observamos a los tejidos tal como son. Por ejemplo, bajo el microscopio de luz, los tejidos aparecen transparentes, por lo que no podríamos apreciar más que algunos contornos débilmente visibles. Por fortuna, algunos reactivos como los colorantes, crean contrastes y podemos diferenciar los principales componentes celulares o estructuras altamente específicas. La técnica de coloración que se elija deberá proporcionarnos la mayor información posible. (Kiernan, 1990)

Los reactivos que se utilizan nos permiten conservar los tejidos, mismos que adquieren una consistencia que nos ayuda a un mejor manejo después de la toma de muestras. Es indispensable conocer mejor a los reactivos, darles el uso apropiado y de esta forma obtener la mejor información posible al observar una muestra de tejido. Existe una gran cantidad de reactivos empleados y una manera práctica de clasificarlos es de acuerdo a las modificaciones que provocan en los tejidos. (Kiernan, 1990)

5.1.1 REACTIVOS FIJADORES

El propósito de la fijación de los tejidos es mantenerlos en un estado lo más parecido al que tenían cuando estaban vivos y tratar de preservarlos el mayor tiempo posible. Los fijadores son sustancias que cumplirán con ese propósito, dependiendo de la técnica de procesamiento, la coloración que se va a escoger y el tipo de muestra que se analizará. (Allen y col, 2004; Kiernan, 1990; Sanpritter y col, 1981)

Entre los objetivos que debe cumplir un fijador se encuentran los siguientes:

- a) Proteger el tejido del ataque bacteriano.
- b) Evitar la autólisis.
- c) Insolubilizar los constituyentes celulares que se pretenden estudiar.
- d) Evitar distorsiones y retracciones.
- e) Preparar las diversas estructuras para posteriores tratamientos, actuando como mordente para tinciones o impregnaciones metálicas, o para desencadenar reacciones químicas específicas (histoquímica).

Es importante saber que no todos los fijadores de uso común en Histología cumplen con todos los objetivos mencionados, sin embargo es posible escoger

algunos que cubran la mayor parte de los objetivos y tomando en cuenta el tipo de tejido y estudio que es requerido o recomendado. No obstante, y por fortuna, la mayoría de los fijadores son buenos agentes antisépticos, por lo que en caso de manejar muestras de alto riesgo infeccioso el riesgo de contagio será bajo. ^(Cormack, 1988; Kiernan, 1990; Weiss y col, 1982)

Existen varios tipos de fijadores, clasificados principalmente en cinco grupos de acuerdo a los grupos funcionales que los componen:

- Aldehídos.
- Mercuriales.
- Alcoholes.
- Agentes oxidantes.
- Picratos.

Los aldehídos comprenden a la solución acuosa de formaldehído, mejor conocida como **Formol[†]** o **Formalina** y el Glutaraldehído. La fijación se lleva a cabo por uniones cruzadas con las proteínas, particularmente entre los residuos de lisina. Estas uniones no provocan gran alteración de las proteínas. ^(Kiernan, 1990)

Los fijadores mercuriales trabajan por un mecanismo aún desconocido, el más común es el líquido de Zenker. Su mejor aplicación es sobre tejidos hematopoyéticos y reticuloendoteliales. Estos fijadores deberán utilizarse con mucho cuidado, debido a su alta toxicidad. ^(Weiss y col, 1982)

Los **alcoholes** generalmente utilizados son el metanol y el etanol, son desnaturizantes de proteínas, y por lo tanto, generalmente no se emplean en tejidos, ya que los vuelven duros y quebradizos. Por otro lado, son muy buenos para fijar frotis citológicos, ya que actúan rápidamente. Una característica es que los frotis obtenidos y fijados con alcoholes presentan un buen detalle nuclear. Algunos aerosoles especiales para citología contienen alcohol y son muy utilizados para fijar frotis para estudios de Papanicolaou, pero irónicamente, muchos citotecnólogos utilizan fijadores en spray para el pelo, puesto que resultan ser muy eficaces y más baratos. ^(Kiernan, 1990; Fentanes y col, 1990; Klatt, 1994)

Los **agentes oxidantes** como los permanganatos, los dicromatos y el Tetróxido de osmio (más utilizado) se utilizan para microscopía electrónica. También forman uniones cruzadas con las proteínas, pero desgraciadamente causan una excesiva desnaturización. ^(Kiernan, 1990)

Los **picratos** son los que incluyen al ácido pícrico y/o mezclas de fijadores con éste. El más utilizado es el **líquido de Bouin**, el cuál contiene Formol y ácido

[†] El término Formol designa al Formaldehído en solución y se ha utilizado desde hace mucho tiempo. Por la terminación pudiera pensarse que el formol es un tipo de alcohol, sin embargo, como ya sabemos, es en realidad un aldehído. Algunos autores prefieren usar el término Formalina para evitar la confusión, pero no es muy común emplearlo, por esta razón se seguirá usando el término Formol en este manual.

acético glacial. Estos fijadores tiñen de amarillo los tejidos que tocan, incluyendo la piel. El mecanismo de acción aún no se conoce. ^(Geneser, 2000)

A continuación se describirán las características principales de los dos fijadores más utilizados en histología, que es el **Formol al 10%** y el **líquido de Bouin**.

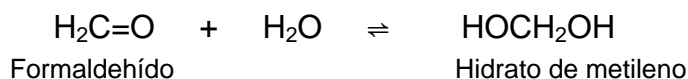
5.1.1.1 EL FORMOL COMO FIJADOR DE RUTINA

Se considera al formol puro (o formalina) a la solución comercial que viene al 37–40% (w/v) del gas Formaldehído en agua, esto es, 37-40% peso/volumen. ^(Kiernan, 1990)

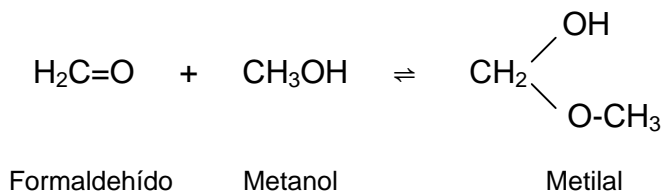
Es el líquido fijador más común en Histología, pero no por esto es el mejor. El uso se basa debido a que las soluciones diluidas proveen buenas características de fijación, da mayor consistencia a los tejidos proporcionándoles dureza, es compatible con la mayoría de los agentes colorantes, permite preservar durante mucho tiempo los tejidos sumergidos en él (hasta 10 años o tal vez más) sin deteriorarlos mucho y su costo no es muy elevado. ^(Kiernan, 1990; Bloom, 1988; Privat y col, 2000)

El formaldehído (CH₂O) en solución acuosa forma precipitados blanquecinos de un polímero que se llama paraformaldehído, que es HO(CH₂O)_nH, donde n = 6-100. Este precipitado se observa en recipientes viejos de formol, y la reacción de polimerización se acelera con la luz. ^(Kiernan, 1990)

La solución acuosa de formaldehído presenta un equilibrio entre el mismo formaldehído y el metilen glicol (hidrato de metileno):

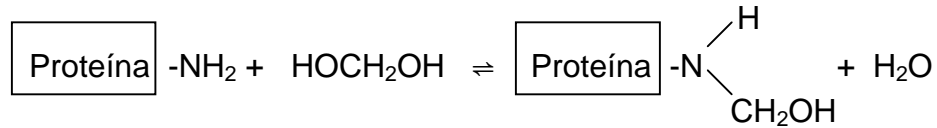


El equilibrio se desplaza muy lentamente a la derecha de forma espontánea, y con el tiempo, el hidrato de metileno aumenta y favorece la formación del precipitado de paraformaldehído en el formol que ha sido guardado durante mucho tiempo. Por esta razón, la solución comercial de formol contiene aproximadamente un 10 % (v/v) de metanol, el cual estabiliza e inhibe la polimerización, ya que forma un hemiacetal (metilal) con el formaldehído, el cuál es más estable que el hidrato de metileno:

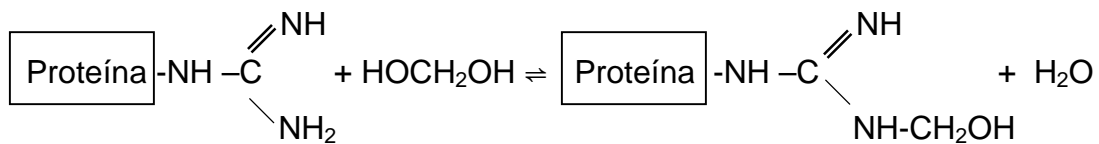


El formaldehído reacciona con muchas partes de las moléculas que conforman a las proteínas, donde el metilen glicol (hidrato de metileno) formado, se une a varios grupos funcionales para formar hemiacetales y aductos relacionados. Por ejemplo, con aminas primarias:

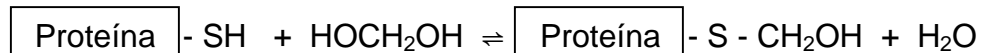
N-terminal de los aminoácidos y cadenas laterales de lisina:



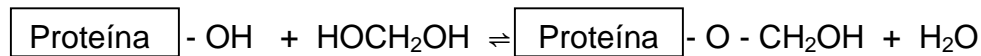
Con los grupos guanidil de las cadenas laterales de arginina:



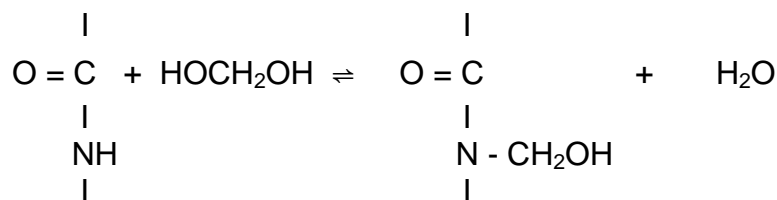
Con los grupos sulfidril de la cisteína:



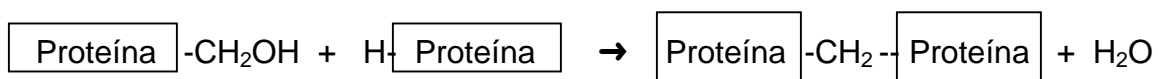
Con los grupos hidroxilo de los alifáticos serina y treonina:



Con nitrógenos de amida (en uniones peptídicas accesibles):



Todas estas reacciones son reversibles al agregar agua o alcohol, así que la simple adición de formaldehído a grupos $-\text{NH}_2$, $-\text{NHC}(\text{NH})\text{NH}_2$ y $-\text{SH}$ de las proteínas no contribuyen significativamente a la fijación. Pero de cualquier manera, todos los aductos de hemiacetal formados presentan grupos hidroximetil libres, los cuales son capaces de reaccionar con los grupos funcionales más convenientes de las proteínas:



De esta forma, las diferentes moléculas proteínicas podrán unirse por puentes metileno, los cuales son químicamente estables, además de ser los responsables de las uniones cruzadas de proteína, características en la fijación con formaldehído. No obstante, esta reacción resulta muy lenta, por lo que se requeriría de una a dos semanas para completar la reacción. Sin embargo, para propósitos histoquímicos, 24 horas es un tiempo razonable en el cuál se puede obtener una adecuada fijación, excepto para tejido del sistema nervioso, que sí requiere de un tiempo considerable para que se lleve a cabo una fijación completa y así tener un manejo óptimo de éste. (Kiernan, 1990)

El formaldehído preserva a la mayoría de los lípidos y reduce la solubilidad de los fosfolípidos en agua. Existen algunas únicas reacciones químicas conocidas entre el formaldehído y los lípidos bajo condiciones de fijación ordinarias, sin embargo, estas probablemente son reversibles con la simple adición de agua, y en algunos casos, la prevención de reacción histoquímica con otros lípidos debidos a su oxidación (probablemente a glicol), reacción favorecida por el oxígeno ambiental más que por el formaldehído. Si la fijación resulta ser muy prolongada (3 meses a 2 años), algunos dobles enlaces pueden ser atacados, formando nuevos productos, los cuales son más solubles en agua que los lípidos originales. (Kiernan, 1990; Privat y col, 2000)

El formaldehído no presenta reacciones significativas con los carbohidratos, así que todas las mucosubstancias pueden estar presentes después de la fijación con formaldehído, sin embargo cantidades apreciables de glucógeno se pierden. (Kiernan, 1990)

5.1.1.2 FORMOL AL 10%

En histología se utiliza una concentración de la solución de formol al 10% (v/v), preparada a partir de la solución comercial de formol (que contiene un 37-40% de formaldehído) y diluyéndose con agua destilada y desionizada. (Kiernan, 1990)

La solución final de formol al 10% contendrá aproximadamente una concentración del 4% de formaldehído (w/v). (Kiernan, 1990)

A continuación se preparará una solución de formol al 10% para su uso en las demás prácticas de laboratorio.

Es importante que se consideren las reglas de seguridad para la preparación de este reactivo por ser irritante y tóxico.

PRÁCTICA 1 PREPARACIÓN DE FORMOL AL 10%

OBJETIVO

Preparar la solución fijadora más comúnmente utilizada en la toma de muestras para histología para su posterior uso en prácticas siguientes.

INFORMACIÓN BÁSICA

Se considera formol puro o formalina al 100% a la solución comercial que contiene un 37-40% (w/v) de formaldehído en agua (37-40% peso/volumen). Las soluciones de formol que se usan en histología varían del 3-25%, siendo la más común la solución al 10%. Las soluciones se deben almacenar en lugares frescos y secos, fuera del alcance de la luz solar para evitar su pronta oxidación y polimerización.

El formaldehído penetra rápidamente en los tejidos, no obstante el proceso de fijación es lento, por lo que se recomienda mantener a los tejidos sumergidos en la solución un tiempo mínimo de 24 horas. La fijación se lleva a cabo debido a que el formol provoca la unión cruzada de las proteínas de los tejidos.

MATERIAL:

1 matraz volumétrico de 1000 mL
1 pipeta volumétrica de 100 mL
1 perilla de caucho
2 vasos de precipitado de 250 mL
1 pizeta
1 frasco de 1 L de capacidad con tapa

REACTIVOS:

- Formol al 100% solución comercial
- Agua destilada

ECOLOGÍA, HIGIENE Y SEGURIDAD

El formol es muy irritante, por lo que no debe inhalarse ni acercarse a los ojos y mucho menos debe ingerirse. Se tiene que evitar todo contacto físico con este reactivo. En caso de algún accidente avisar inmediatamente al responsable del laboratorio. Los desechos se vaciarán en un contenedor apropiado.

Es importante recordar que *nunca se deberá pipetear directamente del contenedor de la solución reactivo comercial de cualquier sustancia, ya que se debe evitar contaminarla*, siempre se debe verter a un vaso de precipitado una porción aproximada de la cantidad de sustancia que se requerirá (siempre agregar un pequeño exceso) y de éste se deberá pipetear.

EQUIPO:

Bata de laboratorio de manga larga

INSTRUCCIONES

1. En un vaso de precipitado de 250 mL verter 100 mL de formol comercial al 100%. (se puede considerar el agregar aproximadamente 10 mL de exceso).
2. Pipetear volumétricamente 100 mL de la solución del vaso de precipitado que contiene el formol al 100% y adicionar a un matraz volumétrico de 1000 mL, el cual deberá contener previamente 200 mL de agua destilada.
3. Llevar hasta el aforo con agua destilada y mezclar hasta homogeneizar.
4. Verter la solución en el frasco de 1L y tapar bien.
5. Rotular el frasco con los siguientes datos en orden de importancia:
FORMOL AL 10%, fecha de preparación, fecha de caducidad, laboratorio al cual pertenece el reactivo, número de equipo y grupo de los integrantes del mismo.

5.1.1.3 LÍQUIDO DE BOUIN

Este fijador permite conservar las características morfológicas, especialmente del tejido conectivo. También conserva el glucógeno y tejidos muy delicados como embriones, testículo, tejido gastrointestinal y endocrino, por lo que es muy importante utilizarlo en trabajos de histología, ya que la distorsión de los tejidos es mínima, no obstante que las estructuras intracelulares, como el núcleo, se preservan pobremente. (Torres y col, 1995)

El líquido de Bouin contiene formol y ácido pícrico. Este último es el que le da la coloración amarilla a los tejidos. Hasta el momento no se conoce exactamente su mecanismo de acción, pero se sabe que este reactivo precipita proteínas de los tejidos formando picratos, despolimeriza los ácidos nucleicos, no obstante que la cromatina se conserva, pero la fijación nuclear es muy difícil que se lleve a cabo (razón por la cual no se preserva bien el núcleo), el aparato de Golgi y los lípidos prácticamente se destruyen, y por desgracia este líquido tiende a contraer los tejidos, sobre todo cuando los tejidos permanecen periodos muy largos en esta solución. Por esta razón, se recomienda mantener los tejidos durante un tiempo comprendido entre 8 y 24 horas, después se deberán enjuagar con agua corriente hasta que el color amarillo se reduzca o desaparezca y por último se colocarán en alcohol etílico al 70 %, donde se pueden mantener indefinidamente. (Kiernan, 1990)

Algunos autores consideran que no es necesario enjuagar, además de que el mismo ácido pícrico brinda coloración, sin embargo puede dificultar otras tinciones, así que se deberá elegir según lo que requiramos, pero la recomendación de realizar enjuagues se aplica en la mayoría de los casos. (Torres y col, 1995; Geneser, 2000)

Es importante mencionar que el líquido de Bouin no puede ser considerado como conservador. (Kiernan, 1990)

Existen características importantes a considerar en el caso de se requiera preparar el líquido de Bouin, por ejemplo; la sal del ácido pícrico en estado seco es altamente explosiva, por lo que su manejo es riesgoso. Se recomienda mantener la sal húmeda. La misma sal comercial se mantiene almacenada en contenedores que contienen agua, y se va agregando constantemente durante ciertos periodos para evitar la evaporación de esta, evitando la deshidratación de la sal. (Chapman & Hall; 1996, Kiernan, 1990)

El ácido pícrico es soluble en agua, la solubilidad aumenta en agua caliente, y es altamente soluble en alcohol, por lo que los excesos de esta sal en los tejidos y la eliminación de color y manchas pueden quitarse fácilmente agregando, como ya se dijo, agua, alcohol o la mezcla agua-alcohol. (Geneser, 2000; Kiernan, 1990; Chapman & Hall, 1996)

Las características generales del formol ya se mencionaron previamente, así que estamos preparados para preparar el líquido de Bouin.

PRÁCTICA 2 PREPARACIÓN DE LÍQUIDO DE BOUIN

OBJETIVO

Preparar la solución fijadora de Bouin que es comúnmente utilizada en histología para tejidos delicados, misma que será utilizada para próximas prácticas.

INFORMACIÓN BÁSICA

El líquido de Bouin contiene una solución acuosa saturada de ácido pícrico en una proporción al 75%, completándose con 25% de formol al 100% (37-40% de formaldehído). A dicha solución se le agrega un exceso del 5% de ácido acético glacial. De esta forma, el líquido de Bouin permite fijar muy bien tejidos delicados y mantiene bien las características morfológicas, por lo que también es un fijador de uso común.

MATERIAL:

1 matraz volumétrico de 100 mL
1 pipeta volumétrica de 75 mL
1 pipeta volumétrica de 5 mL
1 perilla de caucho
4 vasos de precipitado de 250 mL
1 pizeta
1 magneto de 2.5 cm
1 agitador magnético
1 frasco de 1 L de capacidad con tapa

REACTIVOS:

- Formol comercial al 100%
- Solución saturada de ácido pícrico
- Ácido acético glacial

ECOLOGÍA, HIGIENE Y SEGURIDAD

Se tomarán las precauciones mencionadas para el formol y se considerarán también para el ácido acético, ya que también desprende muchos vapores irritantes. El lugar de trabajo deberá ser de alta ventilación. Si es posible, trabajar dentro de campanas de extracción. El ácido pícrico se manejará siempre en solución acuosa, ya que en estado deshidratado resulta ser una sustancia explosiva.

EQUIPO:

Bata de laboratorio de manga larga
Guantes de látex o plástico

INSTRUCCIONES

1. Pipetear 75 mL de una solución saturada acuosa de ácido pícrico y pasarlos a un matraz volumétrico de 100 mL
2. Llevar al aforo a la solución anterior con formol al 100% y mezclar.
3. Pipetear 5 mL de ácido acético glacial y adicionar a la solución anterior y mezclar.
4. Vaciar la solución anterior a un frasco ámbar de 250 mL de capacidad.
5. Rotular el frasco, el cual debe contener los siguientes datos en orden de importancia:
LÍQUIDO DE BOUIN, fecha de preparación, fecha de caducidad, laboratorio al cual pertenece el reactivo, número de equipo y grupo de los integrantes del mismo.

5.1.2 REACTIVOS DESHIDRATANTES

Entre los agentes deshidratantes los alcoholes suelen destacar por sus propiedades y por lo tanto son los más utilizados. Entre los que más se usan están el metanol, el isopropanol y el etanol[‡]. Este último es el más común y se utiliza en diferentes concentraciones, se encuentra comercialmente como alcohol al 70%, alcohol al 96% y como alcohol absoluto, llamado así por que casi presenta una concentración al 100%. Todos los agentes deshidratantes considerados como "absolutos" presentan un contenido menor o igual al 1% de agua. (Kiernan, 1990; Klatt, 1994)

Los alcoholes desplazan el contenido de agua en los tejidos. El proceso de deshidratación puede ser más efectivo si se realiza de forma gradual, esto es, someterlos a concentraciones bajas de alcohol al inicio, para ir pasando gradualmente a concentraciones más elevadas. Exponer los tejidos inmediatamente a una concentración muy alta de alcohol puede "quemarlos". (Kiernan, 1990; Klatt, 1994)

El proceso de deshidratación es muy importante, ya que después de fijar los tejidos en una solución acuosa (como el formol o el líquido de Bouin), para incluirlos en parafina, se requiere eliminar el contenido de agua de los tejidos, por lo que se sumergen en soluciones alcohólicas empezando con alcohol al 70%, posteriormente se sumergen en alcohol al 96 % y por último en alcohol absoluto. (Kiernan, 1990; Klatt, 1994)

Existen otros agentes deshidratantes como la acetona, pero no es muy utilizado como tal debido a que es altamente inflamable y sólo se ocupa en tejidos muy pequeños. El dioxano puede utilizarse sin necesidad de utilizar después agentes aclarantes, pero produce gases muy tóxicos. Estos son algunos motivos por los cuales los alcoholes son los agentes deshidratantes más usados, además de que son menos volátiles y menos tóxicos que la acetona y el dioxano. (Kiernan, 1990; Klatt, 1994)

Una propiedad muy importante de los alcoholes como agentes deshidratantes es que son miscibles con los fijadores acuosos y con los agentes aclarantes (en los cuales será el siguiente paso en los que se someterán los tejidos). Sin embargo, los alcoholes no son totalmente miscibles con la parafina fundida u otro medio de montaje de tipo resinoso. (Kiernan, 1990; Klatt, 1994)

Para los procesos histológicos, la miscibilidad entre los agentes y reactivos utilizados será de gran importancia, ya que de alguna manera esta propiedad dicta la forma correcta en que se irán sometiendo los tejidos.

[‡] Generalmente el término Alcohol se refiere al etanol, sobre todo al etanol al 96%, que es el más común. Algunos autores, y en distintas clases de laboratorio hacen referencia de esta forma.

5.1.3 REACTIVOS OPACANTES

Los alcoholes al igual que el agua y el éter tienen también la propiedad de oscurecer el contorno celular quitando transparencia a la preparación. Los índices de refracción de estas sustancias son menores a 1.40, mientras que el índice de refracción tisular se encuentra alrededor de 1.47. Esto permite que el agente opacante, con menor índice de refracción, haga disminuir la cantidad de luz que atraviesa a los tejidos, haciéndolos opacos y visibles entonces ante la luz expuesta. (Kiernan, 1990; Klatt, 1994; Resnick, 1992)

Los alcoholes resultan ser también los agentes opacantes de mayor uso (además de ser agentes deshidratantes como se describió anteriormente). (Kiernan, 1990; Klatt, 1994)

La propiedad de opacamiento es ideal, y sobre todo útil cuando se requiere observar células aisladas o filamentos libres. El efecto total es el de crear contraste, esto permite ver detalles en los tejidos que no se apreciarían de no ser por éstos agentes. (Kiernan, 1990; Klatt, 1994)

5.1.4 REACTIVOS ACLARANTES

Los elementos tisulares se vuelven transparentes cuando se someten en agentes aclarantes, que tienen índices de refracción mayor que el tisular, así que estos agentes provocan el efecto contrario a lo que los agentes opacantes hacen. (Kiernan, 1990; Klatt, 1994; Resnick, 1992)

Como ya se dijo, el índice de refracción de los tejidos es de aproximadamente 1.47, mientras que para los agentes aclarantes como el xileno o xilol[§], el tolueno y el benceno, presentan índices de refracción de 1.50. Algunos aceites, como el de cedro o de pino, que también son agentes aclarantes, tienen índices de refracción de 1.51 y 1.54 respectivamente. (Kiernan, 1990; Klatt, 1994; Resnick, 1992)

Al volverse los tejidos más transparentes, esto es, cuando los preparados tienen menos contraste, más claros aparecerán y será más fácil la apreciación de los elementos coloreados. (Kiernan, 1990; Klatt, 1994)

Es importante mencionar que estos agentes son miscibles con los agentes deshidratantes, y por lo tanto en los agentes opacantes, así como en los medios de montaje que se utilizan comúnmente con la parafina líquida o agentes resinosos, en los cuales se someterán los tejidos posteriormente. (Kiernan, 1990; Klatt, 1994)

[§] El término Xilol es igualmente muy empleado, aunque tampoco tiene nada que ver con un alcohol, éste más bien es un sistema aromático derivado del benceno con radicales $-CH_3$. Su nombre correcto es Xileno.

5.1.5 REACTIVOS “INOFENSIVOS”

También se conocen como soluciones o sueros fisiológicos. Son líquidos que alteran muy poco o nada la forma y vitalidad de los elementos celulares, y esa es la razón por la cual se utilizan durante el examen in vivo de células y tejidos. (Torres y col, 1995)

Los agentes inofensivos más usados son: soluciones salinas como la de Ringer, la de Locke o la solución salina fisiológica (SSF), que contiene cloruro de sodio en concentración al 0.9% (w/v) en agua destilada y desionizada. Algunos anticoagulantes sanguíneos se pueden considerar como inofensivos, entre ellos se encuentran los citratos, oxalatos, heparina y el ácido etilendiamintetracético (EDTA). (Torres y col, 1995)

Estos agentes, además de no ser tóxicos, no alteran químicamente las estructuras celulares. Esto se debe a que son soluciones isotónicas, esto es, no actúan alterando las presiones osmóticas en los componentes celulares y/o tisulares, lo que sí sucede con soluciones muy concentradas en sales que provocan crenación celular, o soluciones con muy baja concentración de sales ó totalmente desionizadas que provocan hinchamiento y estallamiento celular. (Torres y col, 1995)

5.1.5.1 ISOTONICIDAD

Tanto el plasma sanguíneo como el líquido intersticial tienen una composición muy similar de electrolitos, esto debido a que el plasma contiene una proporción un poco más elevada de proteínas, sin embargo esto no afecta mucho el uso de soluciones isotónicas en ambos fluidos corporales. (Montoreano, 2002)

De acuerdo a las propiedades coligativas, cualquier sustancia que logre llegar a la sangre o tejido intersticial creará un descenso en el punto de congelación de los fluidos corporales, esto es, creará un descenso del punto crioscópico de dichos fluidos. La teoría de la isotonicidad, para determinación por el método crioscópico, se resume de la siguiente manera: (Gennaro, 2003; Martin, 1969; Montoreano, 2002)

Para que una solución sea isotónica, esta deberá crear una depresión del punto crioscópico de los fluidos corporales, siendo un valor absoluto de 0.52°C. Esto significa que el punto crioscópico de los fluidos corporales es de -0.52°C (menos punto cincuenta y dos grados centígrados) en el cuerpo humano y en algunos otros mamíferos. (Gennaro, 2003; Martin, 1969; Montoreano, 2002)

Una mol de cualquier sustancia no electrolítica (que no permite cambio y actividad electrónica) en 1.0 L de solución provoca un descenso crioscópico corporal de 1.86°C, esto es, baja el punto de congelación de los fluidos corporales hasta -1.86°C. Así que es necesario saber la cantidad de sustancia en solución que puede ingresar al cuerpo para que el descenso crioscópico corporal sea de 0.52°C. (Gennaro, 2003; Martin, 1969; Montoreano, 2002)

Por ejemplo, para un no-electrolito como el ácido bórico (H_3BO_3), la cantidad que se requiere para hacer una solución isotónica es de 17.28 g de ácido bórico diluidos en 1 L de agua destilada y desionizada. Esto es, la solución deberá prepararse al 1.728% (w/v) como se demuestra a continuación:

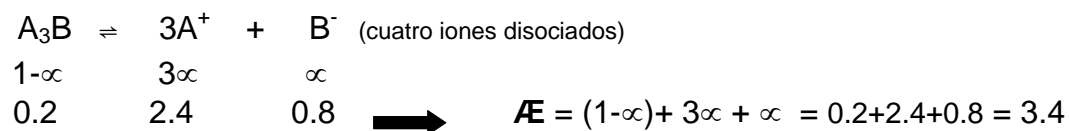
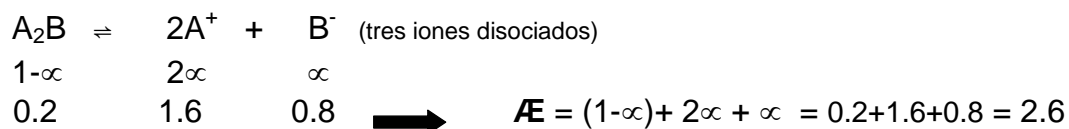
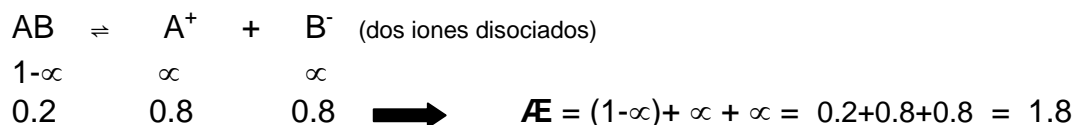
Demostración: Se considera el peso molecular del ácido bórico ($PM_{H_3BO_3}$) que es de 61.8, y que sabemos que crea una depresión del punto crioscópico corporal de $1.86^\circ C$ por ser no-electrolito. Entonces, para preparar 1 L de solución isotónica:

Aplicando la regla de tres correspondiente:

$$\begin{array}{rcl}
 61.8 \text{ g/L}_{(H_3BO_3)} & \text{-----} & -1.86^\circ C \\
 X & \text{-----} & -0.52^\circ C
 \end{array}
 \quad
 \begin{array}{l}
 X = 17.28 \text{ g/L de solución de ácido bórico} \\
 \text{o solución de ácido bórico al 1.728\%}
 \end{array}$$

Para el caso de sustancias electrolíticas no se puede aplicar el mismo principio, ya que el descenso del punto crioscópico corporal que crean depende de cuanto logran disociarse en los fluidos corporales. (Gennaro, 2003; Martin, 1969)

Para electrolitos fuertes se considera que logran una disociación iónica del 80% ($\alpha=0.8$), y la actividad electrolítica que ejercen es directamente proporcional al número de iones disociados. Así mismo, el descenso en el punto crioscópico corporal es, entonces, directamente proporcional a la actividad electrolítica. El valor de la Actividad Electrolítica ($\mathcal{A}E$) resulta de la suma estequiométrica de todos los iones en disolución, por ejemplo: (Gennaro, 2003; Martin, 1969; Montoreano, 2002; Whitten y col, 1998)



Es posible hacer una tabla (como se muestra a continuación), obteniendo los valores de la actividad electrolítica ($\mathcal{A}E$) en función de los iones disociados:

# iones disociados	$\mathcal{A}E$
No electrolito	1
2	1.8
3	2.6
4	3.4
5	4.2

El efecto total de cualquier electrolito sobre el punto crioscópico de los fluidos corporales es:

$$\mathbf{d.p.c.corp (x) = (-1.86^{\circ}\text{C}) (\mathcal{A}E)}$$

Donde:

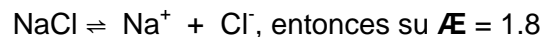
d.p.c.corp (x) = descenso del punto crioscópico corporal que provoca 1 mol de cualquier electrolito.

-1.86°C = descenso del punto crioscópico corporal que provoca 1 mol de cualquier no-electrolito.

$\mathcal{A}E$ = La actividad electrolítica de un electrolito en función de los iones en que se puede disociar.

De esta manera, ahora se podrán preparar diferentes soluciones isotónicas, ya sea con sustancias electrolíticas o no. Sólo hay que recordar que la concentración en la cual se preparen dichas soluciones provoque un descenso de 0.52°C del punto crioscópico corporal. Por ejemplo, la SSF de NaCl se prepara como sigue:

El cloruro de sodio NaCl se disocia en dos iones:



Calculando el d.p.c.corp del NaCl:

$$\mathbf{d.p.c.corp_{NaCl} = (-1.86^{\circ}\text{C}) (1.8) = -3.348^{\circ}\text{C}} \quad (\text{d.p.c.corp que provoca 1 mol de NaCl})$$

$$\text{PM}_{\text{NaCl}} = 58.44 \text{ (peso molecular del NaCl)}$$

Ajustando al punto crioscópico corporal de -0.52°C para que la solución sea isotónica:

$$\begin{array}{rcl} 58.44 \text{ g/L}_{\text{NaCl}} & \text{-----} & -3.348^{\circ}\text{C} \\ \mathbf{X} & \text{-----} & -0.52^{\circ}\text{C} \end{array}$$

$$\mathbf{X = 9.08 \text{ g/L de NaCl } \text{ ó solución al } \mathbf{0.908\% \text{ de NaCl}}$$

En éste ejemplo se demuestra el por qué una solución isotónica de NaCl, mejor conocida como solución salina fisiológica (SSF), está preparada a una concentración de 0.9% (w/v) en agua destilada. Diluir 9.08 g de NaCl en 1 L de agua destilada nos dará el punto crioscópico corporal de -0.52°C.

5.1.6 REACTIVOS ABLANDADORES (DESCALCIFICANTES)

Los tejidos duros como los huesos o la dentina pueden cortarse utilizando un microtomo especial que cuenta con navajas hechas generalmente de diamante, las cuáles son altamente resistentes ante el desgaste expuesto con los tejidos duros. Sin embargo, muchas veces no es posible contar con tal equipo, pero es posible estudiar tejidos duros mediante un proceso denominado **descalcificación**, en el que se utilizan reactivos que permiten "ablandar" dichos tejidos. (Kiernan, 1990; Klatt, 1994)

La descalcificación de huesos y dientes es un proceso químico que se lleva a cabo por la disolución de sus principales componentes, que son los responsables de que dichos tejidos sean duros, principalmente son sales de calcio, mismas que son insolubles en agua. Para la disolución de dichas sales, se utilizan algunos ácidos y algunos agentes quelantes. Estos representan a los principales agentes ablandadores o descalcificantes. (Kiernan, 1990; Klatt, 1994)

Es importante mencionar que el proceso de fijación precederá siempre a la descalcificación. (Kiernan, 1990; Klatt, 1994)

5.1.6.1 DESCALCIFICACIÓN CON ÁCIDOS

Los ácidos más utilizados para descalcificar son los ácidos orgánicos como el ácido fórmico, el ácido acético, el ácido pícrico, ácido láctico y ácido cítrico, entre otros. Desgraciadamente el proceso de descalcificación con estos ácidos es demasiado lento (puede llevar días o semanas) además de que se deben utilizar concentrados, y en el caso del ácido pícrico se utiliza a saturación. (Kiernan, 1990)

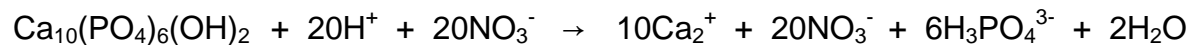
Los ácidos inorgánicos resultan ser más rápidos, ya que actúan en cuestión de horas. Sin embargo, esto conlleva un riesgo, ya que si no se tiene cuidado en el tiempo de exposición, éstos ácidos empezarán a atacar a los tejidos blandos, lo que implicaría destruir la muestra tomada, además de que no dejan trazas de tejido alguno. Con esto se hace énfasis nuevamente de que los tejidos deben someterse a una buena fijación antes de descalcificarlos. Estos ácidos se utilizan en soluciones mas o menos diluidas en una proporción de aproximadamente 7:10. Entre los más utilizados se encuentran el ácido nítrico y el ácido clorhídrico, el primero es el más común para este proceso. (Kiernan, 1990)

El principio se basa en diluir el mineral cálcico de los tejidos. En los animales vertebrados el componente cálcico principal es la **hidroxiapatita**: $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Con la humedad, esta sal "insoluble" se encuentra en equilibrio, en saturación, así que la concentración de iones de calcio es muy baja, y también

para iones fosfatos e hidróxido, así que la reacción siguiente se favorece hacia la izquierda:



En esta reacción, el desplazamiento hacia la derecha se favorece cuando se haya disuelto toda la hidroxiapatita. Esto ocurre si existe un exceso de iones hidrógeno en la solución en donde se encuentra el espécimen. El ácido nítrico (HNO_3) es excelente opción para brindar iones hidrógeno, dando como resultado la siguiente reacción:



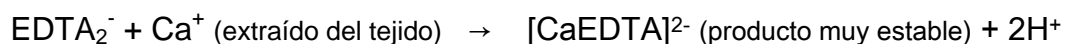
De esta forma la hidroxiapatita, con sus componentes cálcicos y de fosfatos, que estaban totalmente adheridos a los tejidos, termina como iones en disolución. Esto es en sí la descalcificación con ácidos, en específico, con un ácido inorgánico, el ácido nítrico. Sin embargo, la reacción es similar con los demás ácidos, ya que, como se dijo, es el exceso de iones hidrógeno lo que promueve la reacción de descalcificación. (Kiernan, 1990)

5.1.6.2 DESCALCIFICACIÓN CON AGENTES QUELANTES

Un agente quelante es aquel que se combina con un metal iónico para formar un compuesto llamado quelato metálico. Generalmente son compuestos de coordinación, con estructuras voluminosas, están compuestos por una parte quelante, que es la que rodea a algún componente específico, y por el quelato, que generalmente es un metal y es el que precisamente se encuentra rodeado por el agente quelante. (Whitten y col, 1998)

Los quelatos metálicos que se forman en una reacción resultan ser compuestos altamente estables. Esto evita que durante la reacción, el metal extraído de su componente original, se reincorpore nuevamente a su origen. De esta forma, el agente quelante utilizado extraerá el calcio de los tejidos y no permitirá que se vuelva a reincorporar a su componente original que es la hidroxiapatita. (Kiernan, 1990)

El agente quelante por excelencia es el ácido tetraacético de etilendiamina (EDTA). La descalcificación con este agente procede así:



El EDTA extrae el calcio de la hidroxiapatita que se encuentra en el tejido, formándose el producto de reacción, que es el calcio, rodeado ahora en una estructura octaédrica que forma el EDTA, como si fuera un anillo rodeando al calcio. (Kiernan, 1990)

En la descalcificación con EDTA, los iones de hidrógeno no participan en la reacción, de hecho, el medio comúnmente utilizado es alcalino o neutro, y de esta manera se reduce el riesgo de atacar a los tejidos blandos. De esta manera, la descalcificación no es violenta, pero por desgracia, la descalcificación resulta ser un proceso es muy lento. (Kiernan, 1990)

Es importante mencionar que para la descalcificación de un tejido se recomienda utilizar un volumen de la solución veinte veces a la del tejido, ya sea por descalcificación por ácidos o por agentes quelantes. (Kiernan, 1990)

Recientes estudios de descalcificación con EDTA al 5% y con determinación inmunohistoquímica sugieren que algunas proteínas de la matriz ósea están embebidas en la matriz calcificada. Es fácil apartar la matriz ósea del ambiente acuoso durante la descalcificación, pero es difícil remover dichas proteínas, probablemente por que están unidas firmemente entre ellas. Por otro lado, las proteínas de la matriz osteoide se pierden después de la descalcificación, ya que lo más seguro es que éstas se encuentran unidas en diferentes intervalos con los cristales de hidroxiapatita, no unidas entre ellas. (Hosoya y col, 2005)

5.1.7 REACTIVOS AISLADORES

Estos agentes actúan liberando las unidades celulares de los tejidos o facilitan la disociación mecánica. Los agentes que más se utilizan son: ácido nítrico al 25%, hidróxido de sodio o de potasio al 40%, alcohol al 30%, ácido sulfúrico o ácido clorhídrico diluido y ácido pícrico saturado entre otros. (Torres y col, 1995)

5.1.8 REACTIVOS COLORANTES

El efecto de color se debe a la dispersión de la luz sobre diferentes cuerpos, efecto conocido como difracción. Esto es, los objetos, partículas, moléculas y átomos "interrumpen" los frentes de onda de la luz que incide sobre ellos, y cada uno dispersa la luz en forma característica. Además, todos los cuerpos tienen la capacidad de absorber un cierto tipo de radiación electromagnética, mientras que refleja las que no absorbe. De esta manera, los cuerpos presentan una absorción selectiva de las ondas electromagnéticas que los inciden, reflejando el color que no absorben, y es entonces, el color reflejado (y dependiendo de la difracción que éstos colores presentan), el que se manifiesta en los objetos en sus diferentes matices, tonos y brillos. (Resnick, 1992)

Existen cuerpos que aparentemente no presentan ningún color, y por otro lado, existen ciertas partículas que tienen la particularidad de "impregnarse a diversos cuerpos y proporcionarles su color", algunos incluso se encuentran diluidos en algún medio, el cual les puede servir como vehículo para mejorar el flujo sobre los objetos y recubriéndolos en forma eficiente y así brindándoles color. Este es el caso de los colorantes, que dependiendo de sus propiedades fisicoquímicas, modificarán la coloración de los cuerpos.^(Resnick, 1992)

Los colorantes son sustancias que pueden proporcionar su coloración a los objetos, o reaccionan con éstos para crear un color diferente. Esta propiedad permite, en algunos casos, mejorar ciertos aspectos sobre los objetos expuestos como el distinguir algunos detalles que antes no se apreciaban, diferenciar unas estructuras de otras, crear contrastes, realces, tonos y matices.^(Allen y col, 2004; Sanpritter y col, 1981; Leeson y col, 1998; Gartner y col, 2003; Ross, 1997; Cormack, 1988; Burns y col, 1978)

En Histología se utilizan los colorantes para proporcionar detalle estructural de los tejidos, ya que las células, en su mayoría, son transparentes y sus estructuras vistas al microscopio son invisibles o poco aparentes. Aplicando lo que se mencionó, los colorantes utilizados para Histología tienen la propiedad de impregnar los tejidos, otros reaccionan químicamente con los grupos funcionales de las proteínas, lípidos y carbohidratos de los componentes celulares. De esta manera encontramos colorantes que proporcionan su color, otros cambian de color al reaccionar con los componentes celulares, o incluso algunos reactivos que son incoloros, al reaccionar con los tejidos dan origen a una coloración.^(Leeson y col, 1998; Gartner y col, 2003; Ross, 1997; Cormack, 1988; Burns y col, 1978; Kiernan, 1990; Klatt, 1994)

Es importante mencionar que no todas las sustancias coloridas proporcionan su color a los cuerpos, así que no todas las sustancias con color pueden ser consideradas como colorantes.^(Kiernan, 1990)

5.1.8.1 CARACTERÍSTICAS DE LOS COLORANTES

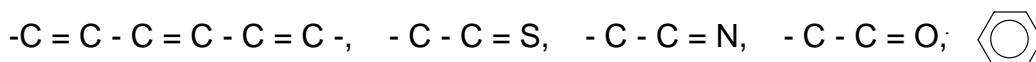
Las moléculas de los colorantes suelen ser complejas, sin embargo, éstas siempre están compuestas por dos partes características, esto ayuda a simplificar un poco la complejidad mencionada. Una de las características es que tienen una parte que es la que aporta color y que además puede ser colorida, ésta es la parte **cromógena**, y que en este caso es la que le dará el color al tejido. A su vez, el grupo cromógeno puede contener un grupo cromóforo, que es un arreglo de átomos que se encuentran dentro del grupo cromógeno y que son responsables de la absorción de la luz en la parte visible del espectro. La otra característica de los colorantes es que tienen una parte **auxócroma**^{**}, que en histología se refiere a la parte que se une al tejido o a un sustrato formando enlaces covalentes, o que

^{**} El término auxócromo tiene aquí una connotación dada por histólogos, sin embargo en Química Orgánica se refiere a un átomo o un grupo de átomos que cambian la longitud de onda a la cual un grupo cromóforo absorbe al máximo.

es capaz de ionizarse para unir moléculas metálicas (mordente) para ayudar a unirse al tejido o al sustrato. El sustrato también puede ser una molécula intermedia que se unirá posteriormente al tejido. (Kiernan, 1990; Wingrove y col, 1992)

Los grupos **cromóforos** casi siempre están formados por arreglos de grupos de átomos que contienen uniones de dobles enlaces, generalmente sistemas conjugados, que en su mayoría son sistemas resonantes que permiten cambiar su estado o arreglo de unión atómica al absorber la luz. Dichos sistemas se encuentran como las uniones carbono-carbono o con otros átomos con dobles ligaduras en **sistemas conjugados resonantes** o formando **sistemas aromáticos**. También se encuentran otros sistemas combinados a los sistemas conjugados como lo son los grupos: nitro, nitroso, indamina, azo, o un grupo especial denominado quinoleinas, además puede incluso haber combinaciones entre dos o más cromóforos en un grupo cromógeno. (Kiernan, 1990; Wingrove y col, 1992)

Grupos cromóforos como sistemas **conjugados resonantes** y/o **aromáticos**:



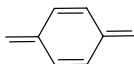
El grupo **nitro**: - NO₂ este es un sistema resonante

El grupo **nitroso**: - N = O

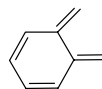
El grupo **indamina**: - N = presente en grupos cromóforos grandes

El grupo **azo**: - N = N -

Las **quinoleinas**:



posición PARA



posición ORTO

5.1.8.2 CLASIFICACIÓN GENERAL DE LOS COLORANTES PARA HISTOLOGÍA

La variedad de los colorantes utilizados en histología es muy amplia. Para fines prácticos se han clasificado, de forma que se consideran tres divisiones generales, que contienen a la mayoría de los colorantes que se usan. Algunos colorantes suelen ser muy comunes y se encuentran perfectamente bien clasificados, algunos otros, que por su limitada utilización y por la complejidad química que presentan, no pueden encasillarse dentro de ninguna de estas divisiones generales. (Kiernan, 1990; Klatt, 1994)

La clasificación de los colorantes para histología es la siguiente: **Catiónicos o básicos, Aniónicos o ácidos y Mordentes**. En el último caso, la carga del mordente depende de cual es el grupo **cromógeno** que contiene, ya que éste es

el que lleva la carga neta, ya sea positiva o negativa, y es el que le dará el carácter ácido o alcalino. (Kiernan, 1990; Klatt, 1994; Cormack, 1988; Leeson y col, 1998; Gartner y col, 2003)

Los colorantes **básicos o catiónicos** reaccionan con las zonas celulares que contienen grupos fosfato PO_4^{3-} y aminoácidos básicos como Arg y Lis que se encuentran en las nucleoproteínas de los ácidos nucleicos. Por esta razón, muchos se utilizan para teñir el núcleo celular, aunque a veces el citoplasma puede captar estos colorantes por la presencia de RNA. Los colorantes catiónicos tienen carga positiva y reaccionan con los grupos funcionales con carga negativa. Por esta razón se dice que las zonas celulares que se tiñen con estos colorantes presentan **basofilia** por captar colorantes básicos o alcalinos. (Kiernan, 1990; Klatt, 1994; Cormack, 1988; Leeson y col, 1998; Geneser, 2000; Weiss y col, 1982; Bloom, 1988; Wingrove y col, 1992)

Los colorantes **ácidos o aniónicos** actúan con las fracciones proteínicas que generalmente se encuentran ionizadas como NH_3^+ , las cuales abundan en el citoplasma celular, y zonas extracelulares como las fibras de colágeno. Los colorantes aniónicos presentan carga neta negativa, por lo que reaccionan con grupos ionizados positivos. Estos colorantes presentan carácter ácido, así que las zonas que se tiñen con estos colorantes se dice que presentan **acidofilia**. Es posible encontrar en algunos textos el término "**eosinofilia**", esto debido a que la eosina es un colorante ácido muy comúnmente usado en histología. (Kiernan, 1990; Klatt, 1994; Cormack, 1988; Leeson y col, 1998; Geneser, 2000; Weiss y col, 1982; Bloom, 1988; Fentanes y col, 1990)

Por último, los **mordentes** son colorantes que presentan en su grupo cromógeno un complejo químico, en donde se encuentra un agente quelante rodeando a un átomo ionizado, generalmente un metal. Como se dijo, esto le puede dar a la molécula un carácter positivo o negativo, según el átomo que se encuentre, y por lo tanto, a veces es posible clasificarlo como colorante básico o ácido. Dado el caso de que generalmente es un átomo metálico el que conforma al sistema mordente, estos colorantes actúan como agentes catiónicos. (Kiernan, 1990; Arey, 1974; Martoja, 1970; Wingrove y col, 1992)

5.1.8.3 TINCIÓN CON HEMATOXILINA Y EOSINA (H-E)

Existen muchos tipos de colorantes y muchos tipos de coloración para Histología, pero la tinción con Hematoxilina y Eosina (H-E) es la más común. (Kiernan, 1990; Klatt, 1994; Cormack, 1988; Leeson y col, 1998; Gartner y col, 2003; Ross, 1997; Geneser, 2000; Weiss y col, 1982; Bloom, 1988; Fentanes y col, 1990; Wingrove y col, 1992)

Aunque la coloración por H-E tiene la desventaja de que no proporciona detalles muy grandes en las estructuras ni la información acerca de las composiciones químicas de las mismas, la información que nos brinda, ayuda perfectamente a identificar muy bien los tejidos, nos proporciona información de la distribución general de cargas dentro de las células, aplicándose las reglas generales de basofilia y acidofilia ("**eosinofilia**"). (Kiernan, 1990; Geneser, 2000; Fentanes y col, 1990)

Se sabe que la distribución de cargas, para la tinción H-E es como sigue:

- Núcleo celular basófilo por tener una distribución de cargas negativas debido a que la cromatina nuclear, el nucleolo y la cubierta nuclear son ricos en ácidos nucleicos que contienen altas proporciones de radicales PO_4^{3-} . (Kiernan, 1990; Klatt, 1994)
- Citoplasma celular con algunas regiones basófilas, sobre todo aquellas células que presentan una división celular alta y que requieren sintetizar cantidades altas de proteínas y en células con alto contenido de mitocondrias. Pero la alta cantidad de proteínas dispersas en el citoplasma hace que se presenten una alta cantidad de grupos NH_3^+ , y por esta razón, el citoplasma tiene, en general, un carácter acidófilo. (Kiernan, 1990; Klatt, 1994)

La hematoxilina trabaja como colorante catiónico, por lo que actuará sobre componentes basófilos, esto es, sobre el núcleo celular principalmente. Es importante mencionar que la hematoxilina no es realmente el agente colorante, la estructura química de la hematoxilina se muestra en la figura 2-1.

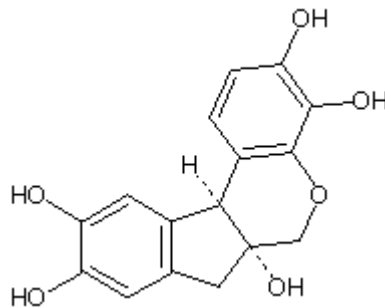


Fig.2-1. Hematoxilina

Cuando la molécula de la hematoxilina es oxidada se obtiene la hemateína (Fig. 2-2), que es realmente el agente que da el color. La hematoxilina es fácilmente oxidable con exceso de oxígeno, incluso con la exposición al aire. (Kiernan, 1990; Klatt, 1994; Chapman & Hall, 1996; Wingrove y col, 1992)

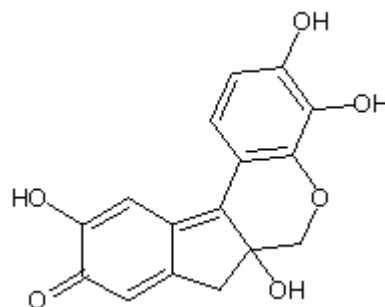
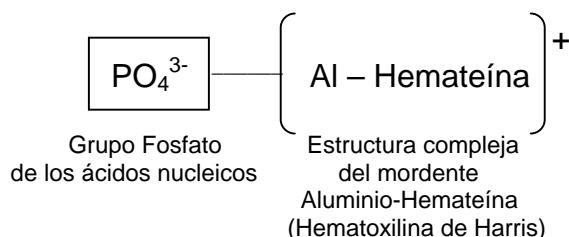


Fig.2-2. Hemateína

Como se ve en la fig. 2-2, esta estructura está en estado oxidado, uno de sus grupos funcionales -OH (alcohol) ha sido oxidado a =O (cetona). (Kiernan, 1990; Klatt, 1994; Chapman & Hall, 1996)

No obstante, es necesaria la adición de un mordente para que el carácter de la hemateína sea catiónica y actúe sobre componentes celulares basófilos. El complejo que se forma es el de la hemateína con un metal, ya sea Hierro o Aluminio. La hematoxilina que se ocupa comúnmente es la Hematoxilina de Harris, que es la hematoxilina alumínica, y para ejemplificar como sería el complejo formado, que está unido al grupo fosfato como componente celular (ver fig.2-3).



2-3. Complejo Aluminio-Hemateína unido a un grupo fosfato de los ácidos nucleicos

Entonces, en la figura 2-3, mostrada arriba, el grupo fosfato pertenecen a los ácidos nucleicos que se encuentran en el núcleo celular o en ribosomas del retículo endoplásmico que está en el citoplasma de la célula. Como ya se sabe, dichos componentes celulares, reaccionan con la parte catiónica de la estructura compleja Aluminio-Hemateína, y por lo tanto resultan ser basófilos. (Kiernan, 1990; Klatt, 1994)

Por otro lado, la Eosina es un colorante aniónico, por lo que tiene afinidad sobre las estructuras acidófilas o, en este caso se ajusta bien la descripción eosinófilas. En la figura 2-4 está representada la sal sódica de la eosina.

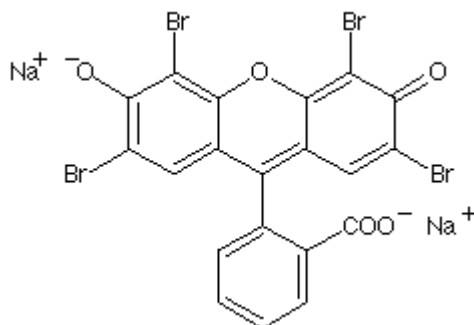


Fig.2-4. Eosina amarilla

En la fig.2-4 observamos las estructuras catiónicas de la molécula de la eosina, en donde la parte carboxílica es la más importante y es la que le da el carácter ácido a la molécula cuando se encuentra unido a un hidrógeno protonado y que en solución se encuentra disociado. (Kiernan, 1990; Klatt, 1994; Chapman & Hall, 1996)

Se utiliza el término “eosinófilas” a las estructuras acidófilas, debido al uso general y extenso que tiene éste colorante ácido en muchos tipos de tinción. (Fentanes y col, 1990; Wingrove y col, 1992)

Los resultados de la coloración con H-E son:

- Núcleo y zonas basófilas del citoplasma adquieren coloración azul-violeta.
- Citoplasma acidófilo o eosinófilo adquieren coloración naranja-rosa.

5.1.9 REACTIVOS CONSERVADORES

Son aquellos que protegen a los tejidos de la putrefacción, conservan el color y evitan cambios que puedan sufrir las preparaciones histológicas. Estos reactivos sustituyen el agua por materias resinosas imputrescibles, y por lo tanto no permiten acumulación de agua en los preparados, evitando así todo crecimiento bacteriano. (Kiernan, 1990; Klatt, 1994; Torres y col, 1995)

Como ejemplos de reactivos conservadores tenemos: glicerina, bálsamo de Canadá, resina natural y resina sintética, ésta última es la más utilizada en el laboratorio. (Kiernan, 1990; Klatt, 1994; Torres y col, 1995; Wingrove y col, 1992)

En general, estos agentes tienen un índice de refracción semejante al del cristal y son miscibles en los agentes aclarantes (xilol, tolueno, benceno, etc.), de hecho, muchas veces se adelgaza la viscosidad de los reactivos conservadores con los agentes aclarantes lo que les permite ser empleados con mayor facilidad untándose sobre la superficie requerida para que posteriormente se evapore el agente aclarante que se empleó. Por ejemplo, la resina sintética tiene una viscosidad muy alta y es común adelgazarla con un poco de xilol, así se emplea sobre los preparados histológicos. Posteriormente, el xilol se irá evaporando y la resina va polimerizándose sobre el preparado. En caso de usar aceites, el preparado histológico que se encuentra sobre el portaobjetos se deberá cubrir con el cubreobjetos, ya que el aceite no polimeriza. (Kiernan, 1990; Klatt, 1994; Torres y col, 1995; Resnick, 1992; Wingrove y col, 1992)

5.2 TOMA DE MUESTRA

La toma de muestra requiere especial atención y cuidado, ya que de ésta depende lo que se observará a través del microscopio. A la muestra se le dará un tratamiento especial y se obtendrán secciones muy delgadas para poder observar las estructuras que la componen bajo el microscopio. (Kiernan, 1990; Torres y col, 1995; Klatt, 1994)

Es importante entonces, conocer que parte del espécimen será conveniente tomar y saber cómo obtendremos el corte sin producir mucho daño al tejido. Si los cortes que se realizan para obtener la muestra no se hacen con cuidado, entonces se pueden deteriorar las estructuras tisulares y no apreciaremos los componentes celulares como deberían de ser, incluso, durante en análisis al microscopio de la muestra tomada se llegaría al caso de confundir a los daños ocasionados durante la toma de la misma con algunas lesiones patológicas, dando como resultado una apreciación errónea, o en los casos clínicos un diagnóstico erróneo. (Klatt, 1994)

El órgano que se va a estudiar debe encontrarse lo más cercano posible a las condiciones fisiológicas, por lo que es necesario que el corte que se tome sea representativo, debe tomarse con cuidado y manipularse lo menos posible. (Torres y col, 1995; Klatt, 1994)

La mayoría de las veces los órganos llevan consigo mucho tejido conectivo, por lo que es importante considerar que al tomar la muestra, ésta debe disecarse hasta donde sea posible y con cuidado. (Kurman y col, 1989)

Si el tejido requiere un lavado o enjuague deberá realizarse con agua corriente dejando caer el agua en forma indirecta y sin presión. Tampoco se debe realizar arrastre mecánico al tejido ni tallarlo. (Torres y col, 1995; Klatt, 1994)

Como cada órgano es diferente, la forma en que se toma la muestra es diferente para cada uno. Por ejemplo, no es lo mismo tomar una muestra del tracto gastrointestinal (como lo puede ser un asa intestinal), que tomar un corte de el hígado. El hígado resulta ser un órgano parenquimatoso, mientras que el asa intestinal es tubular. Por esto, se deben de tomar ciertas consideraciones especiales para la toma de muestra.

5.2.1 CONSIDERACIONES PARA LA TOMA DE MUESTRA

La forma que presenta el órgano (y dependiendo de lo que se requiere observar), nos sugiere la forma en que debe tomarse la muestra. (Burns y col, 1978) Posteriormente, después de someterla a los tratamientos adecuados, se establece como se realizarán las secciones que veremos al microscopio.

Existen diferentes formas y arreglos espaciales de tejidos y órganos, como los órganos que son tubulares, ejemplo de ellos son: el tracto digestivo, tracto respiratorio, venas y arterias entre otros. Estos están compuestos de una pared externa, una pared interna y la luz, tal como se muestra en la figura 3-1. ^(Burns y col, 1978)

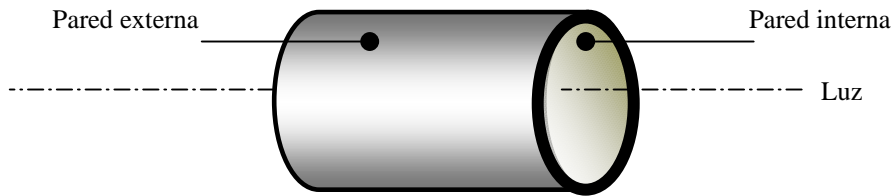


Fig.3-1. Órgano tubular.

Un corte transversal nos permitirá ver y diferenciar perfectamente las partes mencionadas, sin embargo un corte longitudinal nos permite ver un fragmento más largo del tracto (ver figura 3-2), lo ideal es tomar los dos tipos de corte, esto también si el tamaño lo permite. Por ejemplo, un corte transversal de un tracto intestinal de un animal grande no cabría en una laminilla para ser observado al microscopio, por lo que el corte apropiado sería un fragmento longitudinal. Sin embargo un animal pequeño tiene un menor calibre en el diámetro del intestino, lo que facilitaría mucho las dos opciones de muestra. ^(Burns y col, 1978)

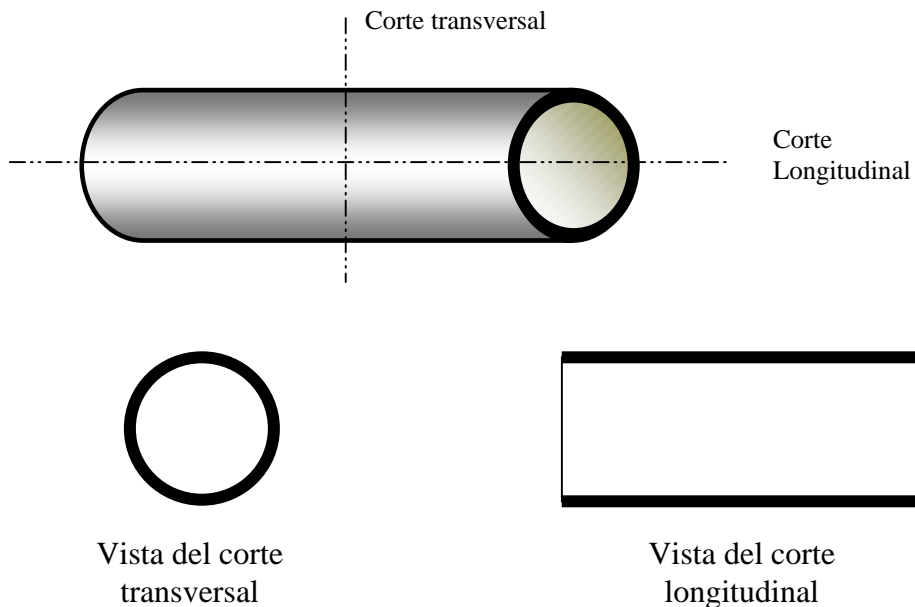


Fig.3-2. Cortes y vistas de un órgano tubular.

Los órganos parenquimatosos como lo son el hígado, cerebro, pulmones, riñones, bazo, glándulas, etc., están constituidos principalmente por un tejido homogéneo que contiene múltiples células que son del mismo tipo y que ocupan casi toda la masa del órgano, además de que son las que realizan la función específica del mismo. El órgano compuesto por tejido parenquimatoso se encuentra rodeado o encapsulado por tejido conectivo que es el estroma del órgano, mismo que le brinda sostén, protección, nutrición (contiene vasos sanguíneos) y hasta ayuda a preservar su estructura arquitectónica. Ver figura 3-3. (Burns y col, 1978; Stanley y col, 2004)

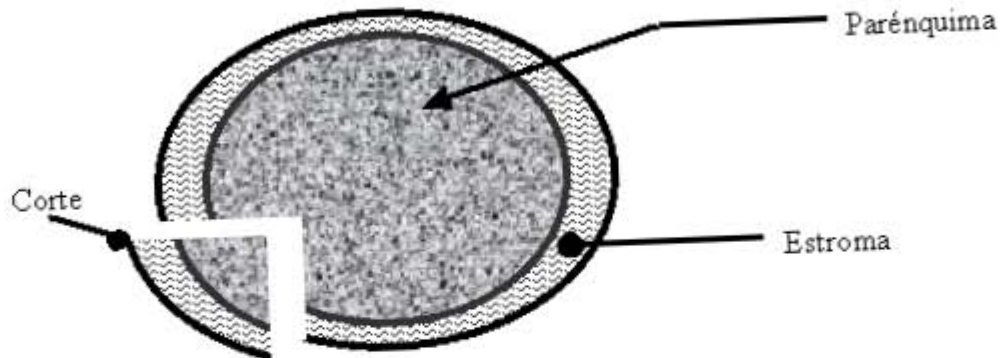


Fig.3-3. Corte de un órgano parenquimatoso.

El corte de los órganos parenquimatosos se realiza, de tal forma que contenga un fragmento representativo del parénquima y parte del estroma. Ver figura 3-3. (Kurman y col, 1989)

Es importante mencionar que los tamaños de los cortes realizados deben tener el tamaño apropiado para realizar el proceso histológico correspondiente, ya sean tejidos tubulares y/o parenquimatosos de cualquier geometría. Así, para un órgano tubular que se corte longitudinalmente se podrá extender hasta una superficie de 2.0x2.0 cm aproximadamente. La misma medida aplica en el caso de que el órgano tubular se corte transversalmente, la longitud aproximada deberá ser de 2.0 cm de diámetro. Para los órganos parenquimatosos se recomiendan las siguientes medidas: 1.0x1.5x0.5 cm de altura, largo y espesor respectivamente. (Cajal, 1972; Martoja, 1970; Torres y col, 1995)

Estos tamaños permiten una buena fijación debido a que el reactivo penetrará muy bien los tejidos hasta las partes centrales y con esto la fijación será homogénea. (Torres y col, 1995)

Después de tomar el corte se lavará con agua corriente (sólo si es necesario) y se introducirá en el fijador de elección. En caso de que el corte seleccionado flote en el reactivo fijador, se colocará en la parte superior del frasco una torunda de gasa y algodón para que empuje la muestra hacia el fondo del frasco. (Torres y col, 1995)

La toma de muestra es preferible llevarse a cabo cuando el animal en estudio ha sido recientemente sacrificado e iniciar los tratamientos histológicos correspondientes lo antes posible. (Kiernan, 1990; Torres y col, 1995)

Es importante mencionar que la toma de muestras deberá ser inmediata para evitar la autólisis. Así mismo, la fijación, entonces, también deberá comenzar inmediatamente después de tomada la muestra. (Kiernan, 1990; Torres y col, 1995)

5.2.2 TOMA DE MUESTRA POR PERFUSIÓN INTRACARDIACA

Esta técnica tiene la ventaja de que se asegura que el líquido fijador tenga contacto y logre alcanzar todas las partes de todos los órganos en poco tiempo. Esto permite mantener a los componentes celulares de cada órgano lo más parecido posible a como se encontrarían en su estado fisiológico. Se puede decir que es una forma de fijar los tejidos en forma eficaz, y es la forma más utilizada para los casos de realizar estudios de investigación en donde se requiere una alta percepción morfológica para interpretación de tejidos. (Kiernan, 1990; Torres y col, 1995)

Por si fuera poco, los tejidos se pueden “lavar” previamente, eliminando de esta forma los componentes sanguíneos, especialmente eritrocitos que son los que “ensucian” e interfieren en la visión de algunas estructuras importantes. Una solución isotónica como la SSF nos ayudará a lograr el objetivo de lavado. (Kiernan, 1990)

La base de la toma de muestra por perfusión intracardiaca es aprovechar todo el sistema cardiovascular del animal en estudio. Esto es, que a un animal vivo se le hace pasar una solución fijadora a través del sistema vascular, ocupando el corazón como el sistema de bombeo. (Kiernan, 1990)

Para llevar a cabo la perfusión intracardiaca, se debe anestesiar profundamente a un animal. Posteriormente se le abre la caja torácica, cuidando de no cortar arterias importantes como los de la zona clavicular. Se le inserta una aguja del equipo de venoclisis en el corazón, específicamente en el ventrículo izquierdo. La aguja deberá estar conectada a un contenedor que proveerá una solución para lavar todo el sistema vascular y, por consiguiente a los tejidos. En este caso la SSF nos ayudará a cumplir con el propósito. Cuando se haga pasar la solución, se deberá realizar una incisión en el atrio derecho del corazón por donde drenará toda la sangre que será sustituida por la SSF, aunque puede elegirse otra vía de drenaje, como lo es una vena inguinal. Aprovecharemos el bombeo del corazón, que es el que hará llegar el líquido a todos los tejidos. Después de lavar todo el sistema vascular, se abre la llave de paso del líquido fijador, el cual también estará conectado al equipo de venoclisis, mientras se cierra el paso de la SSF. El animal muere después de haberle hecho pasar la SSF, sin embargo el corazón seguirá latiendo por algunos segundos después de la muerte, por lo que se tendrá que hacer el cambio al líquido fijador lo más pronto posible después de

lavar el sistema vascular. El cuerpo del animal comenzará a tornarse rígido, esto es un indicador de que se puede cerrarse el paso del líquido fijador y quitar la aguja del ventrículo. Inmediatamente se procede a la toma de muestras. ^(Kiernan, 1990)

Los órganos ya se encuentran impregnados con el líquido fijador, aún así, después de perfundir al animal y tomar las muestras, éstas deben sumergirse en la misma solución fijadora. ^(Kiernan, 1990)

Para la inmersión de los tejidos en el líquido fijador, ya sea por el método de toma de muestra normal o por perfusión intracardiaca, se debe considerar un volumen del líquido al menos 10 veces mayor al del tejido seccionado. ^(Kiernan, 1990; Torres y col, 1995)

Es importante mencionar que la mayoría de los animales mamíferos tienen un descenso crioscópico de fluidos corporales similar al del humano, por lo que es posible utilizar la SSF como solución isotónica. En el caso de utilizar reptiles o batracios, se deberá buscar la solución isotónica ideal para ellos, ya que el descenso crioscópico corporal que presentan es diferente y una SSF al 0.9% de NaCl no funcionaría para ellos, incluso podría dañar sus tejidos y componentes celulares.

A continuación se realizará la práctica de perfusión cardiaca, llevando a cabo los pasos antes mencionados.

PRÁCTICA 3 TOMA DE MUESTRA POR PERFUSIÓN INTRACARDIACA

OBJETIVO

Realizar la toma de muestras de un animal después de profundirle formol al 10% como líquido fijador y prepararlas para su posterior tratamiento. (ver fig.3-4)

INFORMACIÓN BÁSICA

El corazón funciona como una bomba que envía la sangre a todas partes del cuerpo, asegurando que de esta forma los órganos y todos los tejidos que los constituyen reciban el oxígeno, los nutrientes necesarios para vivir, así como la recolección de diferentes metabolitos en la que algunas se irán como desechos. Este sistema se puede aprovechar para poder enviar un líquido que pueda "lavar" los tejidos manteniéndolos en un estado fisiológico normal, la solución salina fisiológica (SSF) nos ayudará a este propósito. Posteriormente se fijan los tejidos perfundiendo una solución de formol al 10%. Con esto se asegura que todos los tejidos de todos los órganos se puedan tener una apariencia lo más parecida a las condiciones fisiológicas normales, con la mínima acción de degradación sobre ellos.

MATERIAL:

1 Equipo de venoclisis
1 Estuche de disección
1 Charola de recepción del tamaño del animal
10 Frascos con tapa de volumen aproximado a 150-200 mL
1 Paquete de algodón

REACTIVOS:

- Formol al 10%
- Solución salina fisiológica (SSF)
- Éter etílico

ESPÉCIMEN:

- Animal de laboratorio chico
(mamífero: ratón, rata o conejo.)

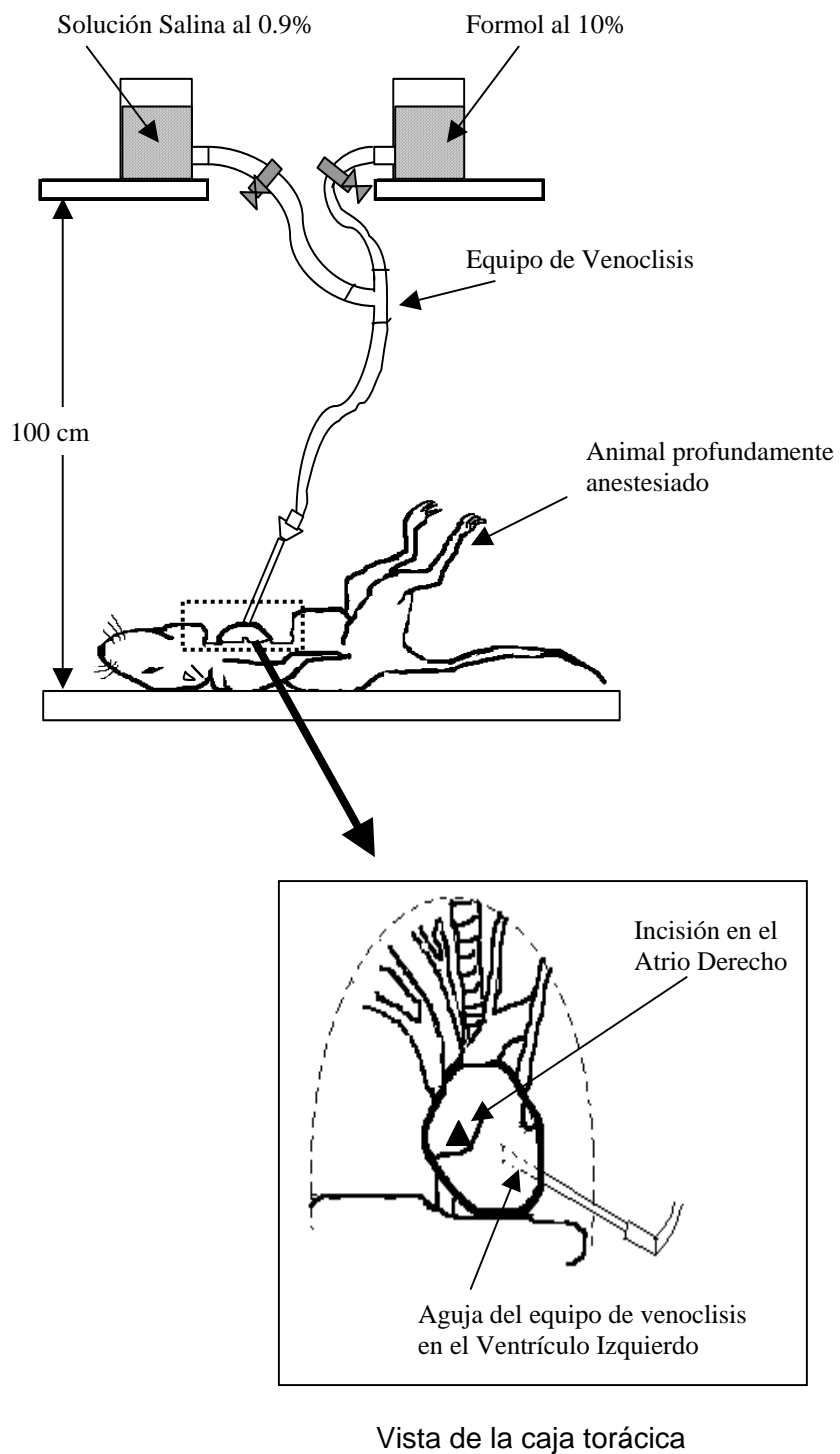
EQUIPO:

Bata de laboratorio de manga larga
Guantes de látex o plástico

INSTRUCCIONES

1. Anestesiarse profundamente al animal con éter etílico, cuidando de no sobreanestesiarse, ya que el animal deberá permanecer vivo.
2. Fijar las extremidades del animal con cinta adhesiva a la charola que servirá como plancha, de tal forma que el animal quede extendido en decúbito dorsal. Mantenga la anestesia periódicamente para evitar que el animal despierte.
3. Con las tijeras abrir la caja torácica del animal, cuidando de no cortar las venas claviculares para que no se desangre y el sistema vascular esté disponible. Visualizará que el corazón está latiendo.
4. Introducir la aguja del equipo de venoclisis al ventrículo izquierdo del corazón y abrir la llave de paso. El equipo de venoclisis estará previamente conectado a la SSF, la cual debe estar a una altura aproximada de 1.00 m (Ver figura 3-4).
5. Después de dejar unos segundos el flujo de la SSF, realizar con el bisturí una pequeña incisión en la aurícula derecha, por donde se drenará la sangre hasta que salga el líquido lo más limpio posible. Otra opción es realizar la incisión a nivel inguinal, donde se encuentra una vena de gran calibre.
6. Inmediatamente realizar el cambio de conexión del equipo de venoclisis a la solución de formol al 10%, el corazón deberá seguir latiendo por pocos segundos, para este momento el animal ya estará muerto. Continuar perfundiendo el líquido fijador por el sistema vascular hasta observar que el animal se pone rígido, como si estuviera en *rigor mortis*.
7. Quitar el sistema de venoclisis y proceder a remover los órganos del animal y tomar las muestras correspondientes.
8. Sumergir cada muestra en el líquido fijador contenido en un frasco perfectamente identificado con el nombre del órgano y datos del equipo de trabajo y entregar al responsable del laboratorio.

Fig.3-4. DIAGRAMA DE LA PERFUSIÓN INTRACARDIACA*



* Diagrama tomado de Kiernan, J.A. (1990) *Histological & Histochemical Methods, Theory and Practice*, y modificado para éste manual.

5.3 TÉCNICAS DE PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA

El procesamiento de las muestras histológicas se lleva a cabo realizando varias técnicas y procedimientos en los que se someten los tejidos. Estos consisten en tratamientos físicos y químicos, con el fin de lograr observar las muestras a través del microscopio. (Kiernan, 1990; Torres y col, 1995; Klatt, 1994)

El tratamiento general después de la toma de muestra lleva los siguientes pasos:

- Fijación.- Permite conservar las muestras, facilita su manejo y mejora las características del tejido para los siguientes tratamientos.
- Deshidratación.- Elimina el contenido de agua de los tejidos, para posteriormente utilizar sobre ellos reactivos anhidros (como agentes aclarantes, ceras, resinas y/o aceites). Este proceso además vuelve opacos a los componentes tisulares.
- Aclaramiento.- Eliminación total del agua de los tejidos, además de volverlos más claros, dejándolos listos para los reactivos orgánicos que le darán consistencia.
- Infiltración.- Infiltración de parafina fundida a los tejidos, que al solidificarse les dan consistencia.
- Inclusión en parafina.- Los tejidos ya infiltrados con parafina se incluye en bloques, también de parafina. Esto ayudará al manejo de la muestra para realizar cortes ultrafinos.
- Corte en microtomo.- Los bloques de parafina se ajustan al equipo de corte (microtomo), el cual realiza secciones ultrafinas (del orden de micras o más pequeñas todavía).
- Tinción.- Tinción de las secciones de tejido obtenidas con los reactivos colorantes para poder tener diferenciación y distinción de los componentes y estructuras tisulares.
- Conservación.- Montaje de las muestras en medios resinosos que permiten aclarar la muestra para mejorar su estudio al microscopio y que además eliminan el proceso de putrefacción, conservando así la muestra durante mucho tiempo.

Los pasos anteriormente descritos son los necesarios para procesar el tejido obtenido. Para un mejor dominio durante el procesamiento de muestras es

necesario tener en cuenta ciertas consideraciones básicas, que las cuales no exceden de los conocimientos generales de las propiedades físicas y químicas de reactivos de uso común en el laboratorio. (Kiernan, 1990; Torres y col, 1995; Klatt, 1994)

5.3.1 CONSIDERACIONES BÁSICAS

Ya anteriormente se han descrito los principales reactivos que se utilizarán, y entre las propiedades físicas que éstos presentan, la miscibilidad resulta ser una de las más importantes a considerar, ya que con ésta se trabajará durante todo el tratamiento de tejidos. (Kiernan, 1990; Klatt, 1994)

Consideraremos entonces como reglas generales lo siguiente:

- El agua es completamente miscible con los alcoholes (deshidratantes) más comunes como lo son: metanol, etanol, isopropanol. (Klatt, 1994)
- El agua no es miscible con los agentes aclarantes como lo son: xileno, benceno, cloroformo. (Klatt, 1994)
- Los deshidratantes son miscibles en agua y en agentes aclarantes. (Klatt, 1994)
- Los agentes aclarantes son miscibles con los agentes deshidratantes y con los medios de montaje como la parafina y conservadores resinosos como el bálsamo de Canadá, glicerina y resinas, pero no son miscibles en agua. (Klatt, 1994)
- Los medios de montaje y conservadores no son miscibles con los agentes deshidratantes ni con el agua. (Klatt, 1994)
- La mayoría de los colorantes se disuelven en solventes polares como el agua y algunos alcoholes, muy pocos se disuelven en solventes no polares. (Klatt, 1994)

Después de la toma de muestra y una vez que esté bien fijada, se procede a realizar tratamientos de deshidratación, aclaración e inclusión en un bloque semisólido (generalmente parafina) al tejido para que éste sea seccionado en cortes muy finos de 3 a 10 μm (el promedio utilizado es de 5 μm). Por último se procede a teñir y someter a un medio de conservación las secciones de tejido. (Klatt, 1994)

Ya se ha puesto mucho énfasis en la toma de muestra y en la fijación de tejidos. Ahora, para la inclusión en parafina resulta de vital importancia la deshidratación y el aclaramiento del tejido, por lo que se deben recordar las principales características de los reactivos utilizados. (Klatt, 1994)

5.3.2 TOMA DE MUESTRA

Se debe saber cómo obtener la muestra y ésta debe contar con ciertas características, por ejemplo, las dimensiones que debe de tener y el cuidado con que se tiene que llevar a cabo éste proceso. Esto se detalla en el capítulo 5.2 TOMA DE MUESTRA.

Éste es el primer paso del procesamiento de muestra, aquí se obtiene la muestra que veremos al microscopio, por lo que esta etapa resulta crítica. Sabemos que una mala elección de la muestra o no realizarlo con el cuidado que se requiere nos llevaría a observar algo que no se parece en nada al tejido al cual pertenece o a lo que esperamos observar. ^(Kiernan, 1990; Torres y col, 1995; Klatt, 1994)

5.3.3 FIJACIÓN

La fijación de los tejidos pretende que éstos conserven sus características lo más parecido al estado vivo. Una mala fijación traerá como consecuencia que el tejido no logre alcanzar un tratamiento posterior adecuado, por lo que la muestra sería inservible y se tendría que tomar otra muestra (si es que la hay) y llevar a cabo nuevamente los procesos. ^(Kiernan, 1990; Torres y col, 1995; Klatt, 1994)

Sabemos que en general el formol al 10% resulta ser un fijador versátil, pero no es el único, utilizaremos los que más convengan según las necesidades. ^(Kiernan, 1990; Torres y col, 1995; Klatt, 1994)

5.3.4 DESHIDRATACIÓN

Como el tejido se deberá incluir en parafina para facilitar posteriormente el corte, entonces es necesario eliminar el agua que contienen. Esto se logra deshidratando los tejidos en soluciones graduadas de alcohol hasta llegar al alcohol absoluto. Se inicia el proceso de deshidratación con alcohol al 70%, posteriormente se someten los tejidos a alcohol al 95% y por último se sumergen en alcohol absoluto. El último paso, que es opcional, será sumergir los tejidos en acetona, el cual, además de culminar la deshidratación, le dará un aspecto opaco y prepara el tejido para ser sumergido a un líquido aclarante. ^(Burns y col, 1978; Kiernan, 1990; Torres y col, 1995; Klatt, 1994)

5.3.5 ACLARAMIENTO

Este proceso se caracteriza por que los tejidos se sumergen en líquidos que son miscibles con el medio de montaje, son totalmente anhidros y de alguna manera hacen más claro el tejido por su acción de aumentar el índice de refracción. El xileno resulta ser el agente aclarante de preferencia. ^(Kiernan, 1990; Torres y col, 1995; Klatt, 1994)

5.3.6 INFILTRACIÓN

Es necesario hacer infiltrar parafina dentro de los tejidos después de haber pasado por el agente aclarante. La infiltración es cuando se saturan las cavidades tisulares y celulares con el medio en donde se hará la inclusión, en este caso, la misma parafina. (Kiernan, 1990; Torres y col, 1995; Klatt, 1994)

Existen diferentes marcas de parafina, incluso se le puede encontrar para uso exclusivo de histología, pero es importante que su punto de fusión no sea mayor de 60°C, ya que los tejidos pueden sufrir una degradación química e incluso se pueden "quemar" si se someten en parafina que exceda dicha temperatura para fundirse. Un exceso de 2°C arriba del límite (60°C) puede resultar en la pérdida estructural y natural del tejido. (Kiernan, 1990; Torres y col, 1995; Klatt, 1994)

La parafina deberá estar caliente para que se encuentre en estado líquido, aproximadamente entre 56-60°C, así podrá difundir a través de los espacios tisulares. Cuando solidifique la parafina, el tejido tendrá una consistencia firme, lo que permitirá que pueda ser cortado con mayor facilidad. El siguiente paso es extraer el tejido para su inclusión en parafina. (Burns y col, 1978; Kiernan, 1990; Torres y col, 1995; Klatt, 1994)

5.3.7 INCLUSIÓN EN PARAFINA

La inclusión en parafina tiene como objetivo preparar al tejido de tal forma que se le pueda seccionar en "rebanadas" o secciones extremadamente delgadas. Así, un bloque de parafina servirá como matriz y sostén del tejido brindándole la consistencia suficiente para que pase una navaja a través del tejido. (Burns y col, 1978; Kiernan, 1990; Torres y col, 1995; Klatt, 1994)

El tejido se sumerge en matrices llenas de parafina líquida que son generalmente cúbicas y que embonan perfectamente en la máquina donde se obtienen las secciones de tejido (microtomo). Para éste paso resulta crucial el como se introducirá el tejido dentro de la matriz. El tejido se deberá orientar de tal forma que la navaja del microtomo seccione área del bloque de parafina con el tejido, presentando los contornos que se desean observar, esto es, la superficie expuesta a la navaja será la que veremos al microscopio. Durante la inclusión, los tejidos caen por gravedad al fondo de la matriz, la parte que interesa deberá sumergirse "cara abajo", para que ésa sea la superficie expuesta cuando se realicen las secciones. Es importante que el bloque de parafina esté totalmente solidificado. (Kiernan, 1990; Klatt, 1994)

Existen diferentes formas de acomodar los tejidos, por ejemplo, Los que son elongados se colocan en forma transversal a través del bloque. Los especímenes tubulares como vasos, tejidos gastrointestinales y los que tienen formas quísticas se colocan de tal forma que se vean al corte en forma transversal, para que muestren todas las capas tisulares. De esta manera se logrará que la muestra sea representativa del órgano.

5.3.8 EQUIPO DE PROCESAMIENTO DE MUESTRAS (HISTOQUINETTE)

Los pasos de procesamiento de muestras que incluyen: deshidratación, aclaramiento e infiltración requieren de mucho tiempo para realizarse, además de que debe de cuidarse de no exceder el tiempo en el tratamiento del tejido. En el caso de que también se tengan demasiadas muestras se requiere también mayor cantidad de los reactivos utilizados. ^(Klatt, 1994)

El histoquinette es un equipo que permite realizar todos estos pasos, ya que actualmente estos equipos tienen la capacidad para procesar muchos tejidos (de 100 hasta 400 especímenes al mismo tiempo) y hacerlos de manera automática con flujo continuo. ^(Klatt, 1994)

El histoquinette está conformado por un sistema de contenedores, los cuales se disponen en forma circular en el siguiente orden: 1. reactivo deshidratante, 2. reactivo aclarante y 3. parafina líquida. El operador coloca los especímenes de tejido junto con un identificador dentro de una canastilla, la canastilla se deposita dentro de un vaso de malla, éste a su vez se coloca en una de las tapas de los contenedores de reactivos histológicos, las tapas permiten que el vaso de malla embone mediante un juego de ranuras. Así, las tapas, y en especial, la que llevará al vaso de malla con los tejidos, irán pasando automáticamente de un contenedor a otro, desde el reactivo deshidratante hasta la parafina líquida. Algunos equipos empiezan con un contenedor para líquido fijador. El equipo se programa para que el vaso de malla pase automáticamente por cada contenedor y esté en éstos el tiempo adecuado. ^(Klatt, 1994)

En algunos laboratorios, por ejemplo de patología, se programan de la siguiente manera:

1. 1 hr en líquido fijador, para asegurar la fijación del tejido.
2. 1 hr en alcohol al 70%, primer paso de deshidratación.
3. 1 hr en alcohol al 96%, segundo paso de deshidratación.
4. 1 hr en alcohol absoluto, tercer paso de deshidratación.
5. 1 hr en acetona, eliminación total de agua.
6. 1 hr en xilol, aclaramiento de la muestra y medio miscible en parafina.
7. 1 hr en parafina líquida, infiltración de parafina en tejidos.

El último contenedor, que es el que contiene parafina es muy especial, ya que tiene adaptado una resistencia que calentará y fundirá la parafina. Dicha resistencia se controlará por un termostato para que la temperatura sea ideal y no dañe los tejidos. Cuando el sistema termina estos pasos, se levanta el sistema de brazos con las tapas, lo que permite que no queden los tejidos por mucho tiempo en la parafina líquida, ya que los puede dañar. Así los tejidos se endurecerán por la parafina solidificada y estarán listos los especímenes para realizar la inclusión en parafina. ^(Klatt, 1994)

Como se observa, el tiempo de procesamiento se lleva a cabo en un tiempo aproximado de 7 a 8 horas, por lo que el histoquinete es de gran ayuda para que realice dichos procesos. Algunos equipos ya cuentan con un ordenador con paquetes de computación nuevos, según el avance que se ha obtenido hasta el momento en dicho campo.^(Klatt, 1994)

5.3.9 CORTE (SECCIÓN DE BLOQUES DE PARAFINA EN EL MICROTOMO)

Después de obtener los bloques de parafina, éstos se seccionarán en rebanadas muy delgadas que posteriormente se pondrán en portaobjetos para ser examinadas al microscopio, previo tratamiento con colorantes.^(Burns y col, Cormack, 1988; 1978; Kiernan, 1990; Torres y col, 1995; Klatt, 1994)

El microtomo es la máquina que nos permitirá obtener los cortes o secciones del tejido infiltrado con parafina de forma que tengan el grosor preciso como para ser observados al microscopio. Presenta un sistema sencillo, pero el material y la función que presenta lo hace un equipo caro, ya que debe ser sumamente preciso.^(Burns y col, Cormack, 1988; 1978; Kiernan, 1990; Torres y col, 1995; Klatt, 1994)

El bloque de parafina embona en un orificio del equipo. Dentro del orificio se presenta un sistema de empuje hacia fuera, que le permite que el bloque de parafina avance horizontalmente la distancia necesaria para ser seccionado. El intervalo que manejan estos equipos va de 3 a 10 μm . Al final del avance horizontal, el bloque realiza un movimiento vertical hacia abajo, en donde se encuentra una navaja que realizará la sección. A veces se requieren secciones que se encuentran en zonas más profundas del tejido, por lo que se realizan varias secciones hasta llegar a la zona que tiene la parte representativa que buscamos, este es el proceso de "rebajar" el bloque. La navaja del microtomo está hecha de acero inoxidable, permite realizar cortes muy finos, como ya se dijo, con grosores de 3 a 10 μm que son tamaños ideales para ser colocados en un portaobjetos. Es importante mencionar que la navaja deberá estar siempre bien afilada, libre de muescas que puedan dañar los contornos de la sección. Estas navajas son muy especiales y deben ser afiladas sólo por un experto. En el mercado se pueden encontrar también navajas desechables para microtomo. Tanto las navajas permanentes como las desechables se cotizan a un precio alto en el mercado.^(Burns y col, Cormack, 1988; 1978; Kiernan, 1990; Torres y col, 1995; Klatt, 1994)

La sección de tejidos resulta a veces ser muy artesanal, ya que se requiere de mucha práctica para poder realizar cortes que realmente sirvan para el observador y por lo tanto, algunos laboratorios requieren de histotecnólogos con mucha experiencia y muchas veces dependen totalmente de ellos para asegurar que las secciones obtenidas sean lo más representativas posibles para el diagnóstico e interpretación de las laminillas.^(Klatt, 1994)

5.3.10 MONTAJE Y COLORACIÓN (TREN DE TINCIÓN DE H-E)

Como ya se mencionó, las secciones de los tejidos son transparentes si tratamos de observarlos al microscopio, por lo que no veríamos detalles o, en el peor de los casos, todo sería invisible. Esta es la razón por la cual requerimos teñir las secciones de tejido obtenidas. Entre las técnicas de coloración o tinción más comunes, la tinción de H-E resulta por demás práctica y muy común dentro de la histología normal. Ésta permite obtener información básica de las estructuras celulares y dar una fácil interpretación de los tejidos observados. (Fentanes y col, 1990; Kiernan, 1990; Torres y col, 1995; Klatt, 1994)

Pero antes de entrar en detalle en la técnica de coloración, es importante mencionar que primero tenemos que preparar las secciones de tejido antes de someterlos a la tinción, debido, sobre todo a las propiedades físicas de polaridad de los colorantes utilizados. (Kiernan, 1990; Torres y col, 1995; Klatt, 1994)

Es importante mencionar que la mayoría de los colorantes utilizados son acuosos y por lo tanto presentan polaridad, por lo que se tendría una desventaja al tratar de teñirlos con la parafina. (Kiernan, 1990; Klatt, 1994)

Por esta razón, el **montaje** es un paso previo a la tinción, y motivo de este paso es el de desparafinar las secciones y volver a hidratarlas. Esto se logra colocando las secciones en una platina térmica que contiene agua tibia, de aproximadamente 35 - 37°C y que contiene un agente gelificante que ayudará a que la sección de tejido, que es muy delgada, se adhiera bien al portaobjetos y no se presenten pliegues del tejido. Posteriormente se deja el portaobjetos con el corte histológico a secar a una temperatura no mayor al punto de fusión de la cera. (Fentanes y col, 1990; Kiernan, 1990; Klatt, 1994)

Una vez que la sección esté seca, se podrá iniciar la **coloración**, en donde se inicia por pasar las laminillas con el corte histológico a los líquidos que anteriormente se utilizaron pero con el orden reversible. Esto es, se pasará por baños en xileno para remover la parafina de los tejidos completamente, después se pasa por baños con acetona que ayudará a diluir el xileno. Enseguida se hace pasar por alcohol absoluto, alcohol del 96 y alcohol al 70 %, respetando ese orden para llegar a una hidratación gradual. La muestra se enjuaga en agua y entonces la muestra está lista para ser teñida. (Fentanes y col, 1990; Kiernan, 1990; Klatt, 1994)

La tinción se lleva a cabo sumergiendo las muestras en los colorantes, primero en hematoxilina. Después se realizan enjuagues en alcohol ácido para que éste elimine el exceso de hematoxilina. El tiempo de exposición en alcohol ácido debe ser muy corto, de unos cuantos segundos, ya que éste puede dañar los tejidos si se deja en periodos prolongados. Es importante eliminar el exceso de ácido con agua corriente, realizando enjuagues y lavados. Posteriormente se sumergen las laminillas en eosina. Se realizan lavados y enjuagues alcohólicos para eliminar el

exceso de éste colorante y para volver a deshidratar la sección de tejido, nuevamente en concentraciones graduales de alcohol. Con esto se concluye la tinción. Ahora se procede a aclarar los tejidos en xileno y de esta forma se podrá usar el medio de montaje para su conservación. ^(Fentanes y col, 1990; Kiernan, 1990; Klatt, 1994)

En general se emplea el tren de tinción de H-E como sigue ^(Fentanes y col, 1990):

- | | |
|--|----------|
| 1. Desparafinar en xileno | 5 min |
| 2. Desparafinar en xileno | 5 min |
| 3. Rehidratar en alcohol absoluto | 5 min |
| 4. Rehidratar en alcohol 96° | 5 min |
| 5. Rehidratar en alcohol 90° | 5 min |
| 6. Rehidratar en alcohol 80° | 5 min |
| 7. Rehidratar en alcohol 70° | 5 min |
| 8. Lavado en agua corriente | 2 min |
| 9. Hematoxilina de Harris | 5-10 min |
| 10. Lavado en agua corriente | 2 min |
| 11. Decoloración en alcohol ácido | 5-30 seg |
| 12. Lavado en agua corriente hasta que el tejido se observe de color azul intenso. | |
| 13. Eosina | 3-5 min |
| 14. Deshidratar en alcohol 96° | 5 min |
| 15. Deshidratar en alcohol 96° | 5 min |
| 16. Deshidratar en alcohol absoluto | 5 min |
| 17. Deshidratar en alcohol absoluto | 5 min |
| 18. Aclarar en xileno | 5 min |
| 19. Mantener en xileno limpio | 5 min |

Al terminar el último paso, se precede inmediatamente a la conservación de las secciones que se encuentran en las laminillas, como se describe a continuación.

5.3.11 CONSERVACIÓN DE LOS CORTES O SECCIONES

Como se estudió en capítulos anteriores, las sustancias conservadoras que son en general aceites, glicerinas o resinas, permiten mantener a los tejidos por tiempo indefinido, los hace imputrescibles y evitan la invasión y descomposición bacteriana.

Generalmente se utiliza la resina sintética, la cual se puede "adelgazar" un poco con xilol, en caso de que la resina sea muy viscosa, y esta se podrá aplicar con mayor facilidad. La resina se deja gotear sobre la muestra de tejido y se deja secar. El exceso de xilol se evaporará y con el tiempo la resina comenzará a polimerizar, pero es recomendable cubrir la muestra con un cubreobjetos antes de que seque la resina. Ahora la muestra está lista para ser observada al microscopio. ^(Klatt, 1994)

5.3.12 INTERPRETACIÓN MICROSCÓPICA

Las secciones histológicas, en su mayoría, presentan una combinación de estructuras de forma variada (ver figura 4-1), por lo que se debe identificar cada contorno que se observa. Aunado a esto, debe saberse de donde proviene el tejido en cuestión. Los contornos que presenta cada estructura nos indican a que tipo de tejido representan, esto es, si son tejidos parenquimatosos, de sostén, epitelios, glándulas, etc. Además las coloraciones que toman ayudan a contrastar dichas estructuras, nos ayudan a diferenciar los contornos, y por lo tanto, a identificar perfectamente a los tejidos. (Burns y col, 1978)

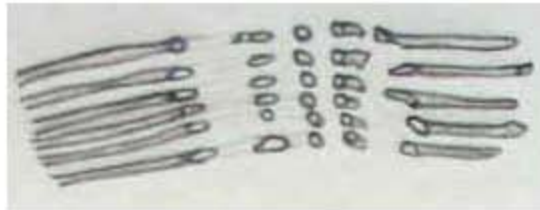


Fig.4-1. Sección de un nervio periférico. Cada cilindro es una fibra nerviosa mielinizada. Se pretendió realizar una sección longitudinal, pero durante la preparación del tejido, éste se enroscó, por lo cual la imagen consta de secciones de fibras longitudinales, transversales y oblicuas.

La interpretación microscópica requiere, además de una buena observación, experiencia, misma que se va desarrollando poco a poco, aunque no tiene que ser una limitante para dar una buena interpretación. Esto es, la experiencia mejorará nuestra capacidad de observación, haciéndola cada vez más crítica, dando importancia hasta el más mínimo detalle.

Es importante también, distinguir las diferencias en la coloración que se presentan en las estructuras de los tejidos, ya que estas llegan a adquirir diferentes coloraciones y tonalidades, y sin perder de vista el arreglo estructural de cada tejido. Todos estos detalles son indicadores del tipo tejido que se está observando. (Burns y col, 1978; Cormack, 1988; Leeson y col, 1998; Gartner y col, 2003; Róss, 1997)

Se debe tener una perspectiva tridimensional de lo que se observa. Por ejemplo, en la figura 4-2 se muestra un arreglo celular de hígado, que podría parecernos como una placa de células al verla en una sección en el microscopio. En realidad existen varias capas celulares arriba y abajo de esa aparente placa única, las cuales son similares entre sí, además de que cada "placa" celular proviene, en realidad, de una estructura tridimensional, y que se intercomunica con un grupo de células del mismo tipo dispuestas todas ellas en fila. Así, todo ese conglomerado celular forma una parte del tejido hepático. (Burns y col, 1978; Cormack, 1988; Leeson y col, 1998)

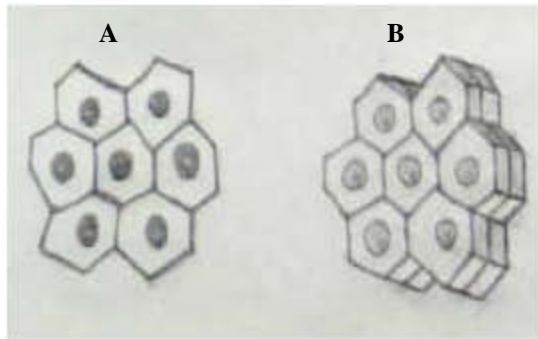


Fig.4-2. Perspectiva de células hepáticas.
En histología se observa una capa de células en un plano (A), sin embargo, éstas parten de una estructura tridimensional (B), formada por varias capas de células similares.

Algunos autores mencionaban la estereología cómo un área que comprende la interpretación tridimensional de las imágenes planas como lo son las secciones o cortes histológicos, esto es imaginar y hacer una extrapolación a tres dimensiones en el espacio de la sección que observemos, que, como sabemos, es en dos dimensiones. Sin embargo, el término de “estereología” parece haber desaparecido, ya que no se menciona como tal en textos recientes.

Un ejemplo de una interpretación de dos a tres dimensiones la podemos ver en la figura 4-3, donde se muestran las estructuras como son realmente, mientras que en la figura 4-4 sólo se muestra la vista que tendríamos en el microscopio de una sección del arreglo estructural de la figura 4-3. Sin embargo, a veces es difícil poder imaginar la estructura real que tienen las secciones que vemos al microscopio. (Burns y col, 1978)

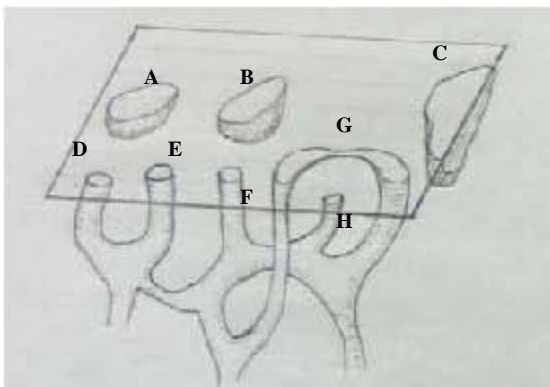


Fig.4-3. Estructuras tridimensionales que son seccionadas por un plano de corte.
Note que cada una de las estructuras puede tener una geometría compleja en su totalidad.

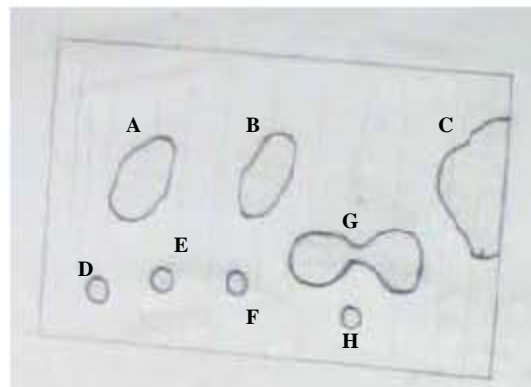
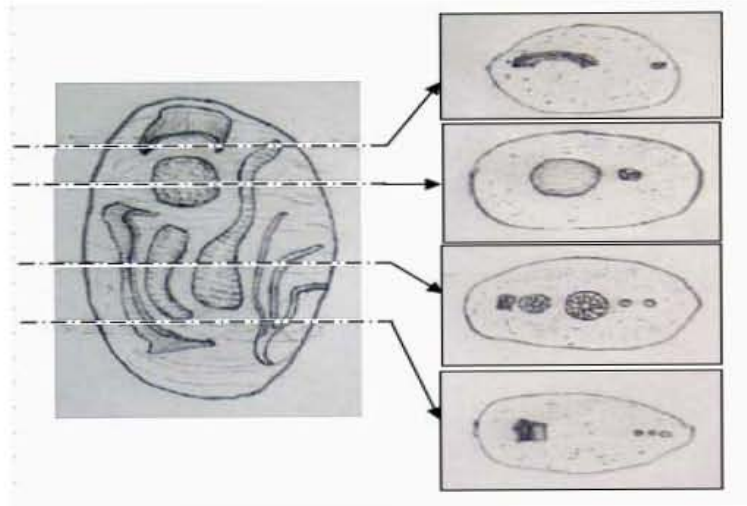


Fig.4-4. Sección de estructuras tridimensionales.
Sección tomada de la figura 4-3. Así es como se presenta la vista de la sección obtenida. Al ver este corte es difícil imaginar cómo son realmente las estructuras completas que componen a la sección.

Muchas veces, para establecer la forma tridimensional correcta de un órgano o de una estructura de gran tamaño a menudo se realizan secciones seriadas, como el la figura 4-5. Aquí se presentan secciones a diferentes niveles del tejido. Al observar la relación que presentan estas secciones es posible obtener una representación más acertada de la conformación espacial que tiene el tejido. (Burns y col, 1978; Cormack, 1988; Leeson y col, 1998)

Fig.4-5. Cortes seriados en un tejido y sus secciones.

Cuatro planos de corte se hacen pasar sobre el tejido y a la izquierda se muestra la vista que corresponde a cada sección, note la diferencia que presenta cada una de éstas. Se observan diferentes tipos de estructura según cada nivel del corte.



Generalmente, los componentes de un tejido o de un órgano se orientan en el espacio de manera fortuita en relación con el plano de corte, y como ya se dijo, cada sección representa una estructura bidimensional que en realidad proviene de una estructura tridimensional. Por esta razón, los cortes obtenidos pueden mostrar aspectos diferentes de los mismos tipos celulares. Por ejemplo, en las figuras 4-6 y 4-7 se muestran estructuras histológicas tubulares, por lo que dependiendo por donde pase el plano de corte, las vistas mostrarán aspectos muy variables. (Burns y col, 1978; Cormack, 1988; Leeson y col, 1998)

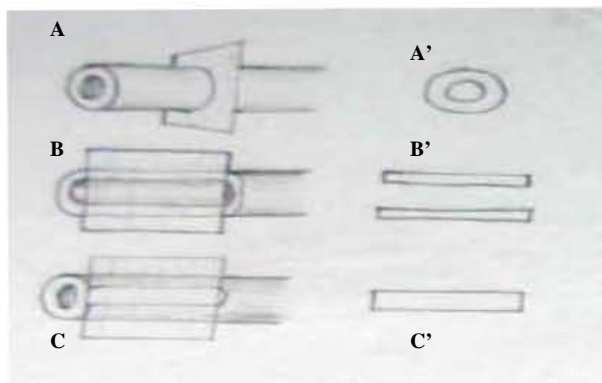


Fig.4-6. Varias direcciones de corte en una estructura tubular:

Tipo de Corte:	Sección vista:
A. Corte Transversal	A'. Circunferencia
B. Corte Longitudinal	B'. Dos barras paralelas
C. Corte Tangencial	C'. Barra ancha

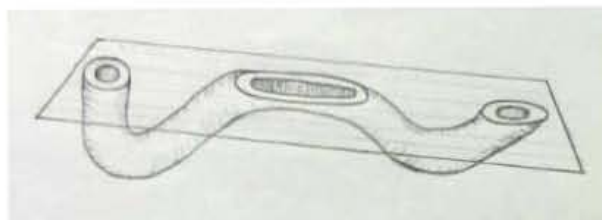


Fig.4-7. Cortando una estructura tubular curveada.

Para este caso, será imposible tener cortes completamente longitudinales, transversales y tangenciales, excepto en pequeños tramos. Las secciones elípticas predominarán al obtener el corte.

En algunos tejidos, como el que se presenta en la figura 4-8, en algunas secciones parece estar compuesto por varias capas de tejido, cuando en realidad sólo presenta una. A otro nivel del mismo tejido, las secciones presentarán células sin núcleo, pero esto pasa cuando la navaja corta una sección en partes donde el núcleo se encuentra fuera del plano de corte. Sucede lo mismo al cortar una membrana delgada. (Burns y col, 1978)

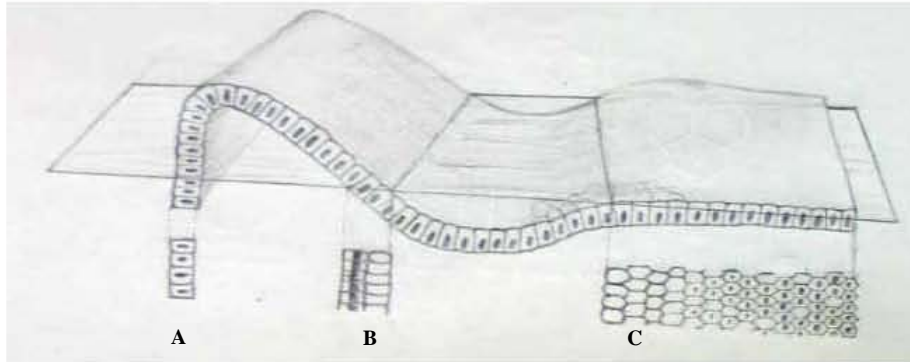
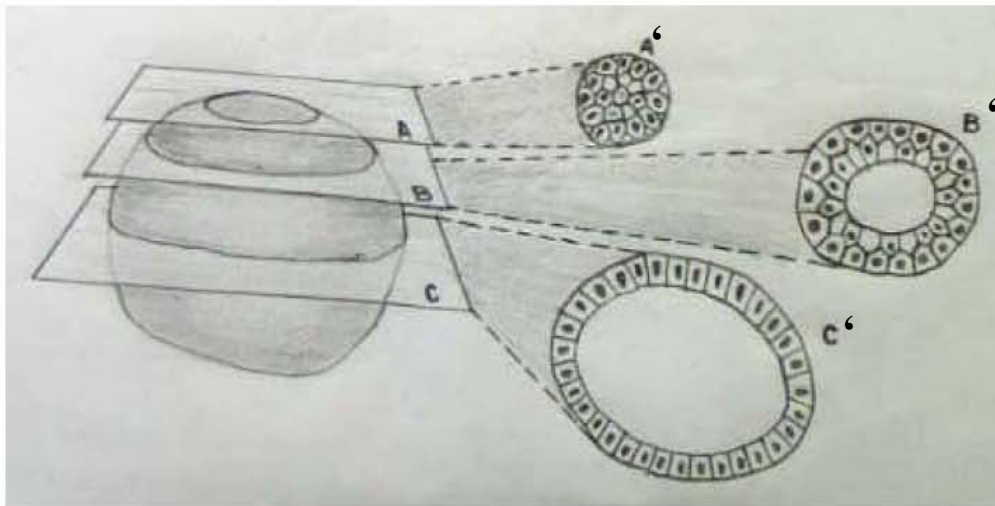


Fig.4-8. Un tejido plano constituido por una sola capa celular.

Al corte, en **A** se observa la sección que presenta la única capa celular que conforma al tejido, mientras que en **B** la sección da la apariencia de contar con dos capas celulares. Por último, en **C** la sección muestra al principio células anucleadas, cuando en realidad no lo son. Esto ocurre debido a que el plano de corte no pasa a través de los núcleos, pero conforme el plano de corte avanza hacia la derecha, éste llega a cortar algunos núcleos, si no es que todos y como resultado, la sección presenta células con núcleos.

En el caso de una estructura esférica como en la figura 4-9, que se presenta en algunas glándulas, el nivel del corte nos presentará diversas vistas. (Burns y col, 1978; Cormack, 1988)



4-9. Cortando un tejido de forma esférica.

Las secciones que veremos dependen del nivel en donde se realice el corte. En **A** el corte es tangencial, su sección **A'** es circular y su área está formada por varias células en las cuales algunas aparecen sin núcleo debido a que el plano de corte no pasa por alguno de ellos. En **B** el plano de corte es a un nivel más bajo del corte tangencial (en dirección al centro del tejido), su sección **B'** es en forma de anillo y da el aspecto de que la figura esférica está formada por dos capas celulares. El plano de corte en el centro **C**, la sección **C'** es en forma de anillo formado por una sola capa celular.

5.4 INTERPRETACIÓN: COLORACIÓN HISTOLÓGICA Y FORMAS CELULARES

Muchas veces es necesario utilizar diferentes tipos de coloración, para resaltar otros tejidos o estructuras celulares especiales, para diferenciarlos o simplemente para hacerlos visibles. Muchas veces la tinción de rutina Hematoxilina-Eosina no proporciona información o evidencia de algunas estructuras, por ejemplo los polisacáridos sólo pueden ser evidentes si se utiliza esta coloración en conjunto con la tinción de PAS. (Geneser, 2000; Leeson y col, 1998; Gartner y col, 2003; Ross, 1997)

La histoquímica se ha dedicado a estudiar, entre otras cosas, el uso de colorantes, sustancias químicas y diferentes moléculas en la aplicación a los tejidos por afinidad química. Se busca que esta afinidad sea lo más específica posible con el fin de poder diferenciar gran parte de las estructuras con un mayor detalle. (Geneser, 2000; Kiernan, 1990; Klatt, 1994)

A continuación se darán las características generales de diferentes tipos de tinción de tejidos, los principales colorantes y en algunos casos, una explicación de la afinidad química entre el colorante y el tejido. Posteriormente se verá como debe realizarse la interpretación de las formas celulares que se van a encontrar, ya que estas determinan, muchas veces, al tipo de tejido que corresponden.

5.4.1 TINCIÓN CON HEMATOXILINA Y EOSINA (H-E)

La tinción H-E es la más comúnmente usada, ya en un capítulo anterior se detallaron las características principales de ésta tinción y sus colorantes, sus interacciones con los tejidos y los resultados de coloración obtenidos. Su amplio uso brinda una visión muy conocida y familiar para histólogos y patólogos. No obstante, la tinción con H-E presenta algunas desventajas, por ejemplo, no es posible observar algunas estructuras citoplásmicas y algunos componentes celulares. Sin embargo, se le puede usar en combinación con un colorante específico, por ejemplo con PAS para poder observar polisacáridos que se encuentran en algunos tejidos. (Geneser, 2000; Fentanes y col, 1990; Kiernan, 1990; Weiss y col, 1982; Klatt, 1994)

Los resultados de coloración de H-E son:

Núcleos:	azul violeta
Citoplasma:	rosa-naranja
Tejido conectivo:	rosa claro
Tejido muscular:	rosa intenso
Tejido nervioso:	rosa pálido
Eritrocitos:	naranja o rojo

5.4.2 TINCIÓN CON ÁCIDO PERYÓDICO DE SCHIFF (PAS)

La histoquímica de los carbohidratos se centra en la reacción del ácido periódico de Schiff, que es un proceso rutinario en el laboratorio de histología y patología. Este es el método principal para demostrar estructuras ricas en polisacáridos, mucopolisacáridos, glicoproteínas y glicolípidos, donde los polisacáridos resultan los más importantes, constituyendo al glucógeno y las sustancias de secreción. Después los mucopolisacáridos, que constituyen sobre todo a las sustancias base del tejido conectivo como las membranas basales, fibrina y quitina. Dentro de las glicoproteínas encontramos a la tiroglobulina (coloide tiroideo) y el coloide pituitario. (Geneser, 2000; Fentanes y col)

La especificidad de la reacción de PAS se deriva del uso de dos reactivos selectivos, el ácido peryódico (HIO_4) y el reactivo de Schiff, conocido como bisulfito de fucsina (fucsina sulfurosa ácida), el cuál es incoloro por lo que también se le conoce como leucofucsina. Así, la reacción de PAS se lleva a cabo en dos pasos, como se describirá a continuación y se esquematiza en las figuras 5-1 y 5-2. (Geneser, 2000; Fentanes y col)

El ácido peryódico oxida los grupos hidroxilo libres que se encuentran adyacentes, por ejemplo el 1,2-glicol en las hexosas o en grupos hidroxilo y amino adyacentes como en las hexosaminas. Los grupos hidroxilo adyacentes son oxidados a aldehídos mientras que la unión carbono-carbono se rompe, y bajo las condiciones del proceso de PAS, la oxidación no llega más lejos. La reacción se demuestra en la reacción de la figura 5-1. (Geneser, 2000)

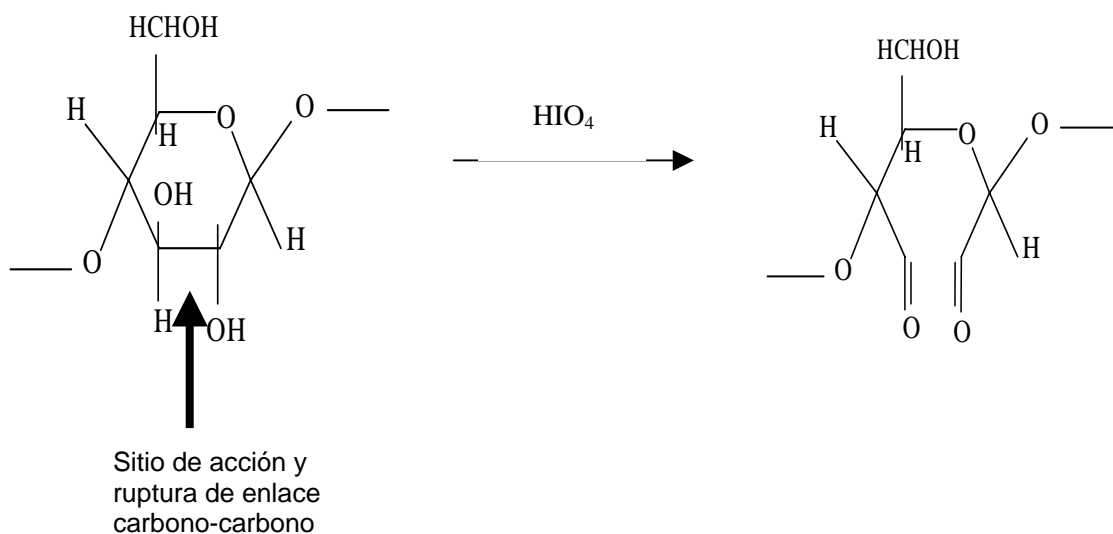


Fig.5-1. Reacción de PAS, 1er. paso [oxidación con ácido peryódico].

Posteriormente, el reactivo de Schiff reacciona fácilmente con los aldehídos formados y se crea un complejo aldehído-Schiff, esto da como resultado una coloración rojo-magenta, característica de la reacción PAS positiva. La reacción la observamos en la figura 5-2. Vemos como el aldehído se incorpora al producto de la reacción (mostrado en los recuadros). La R representa a la estructura química de la estructura celular en cuestión. ^(Geneser, 2000)

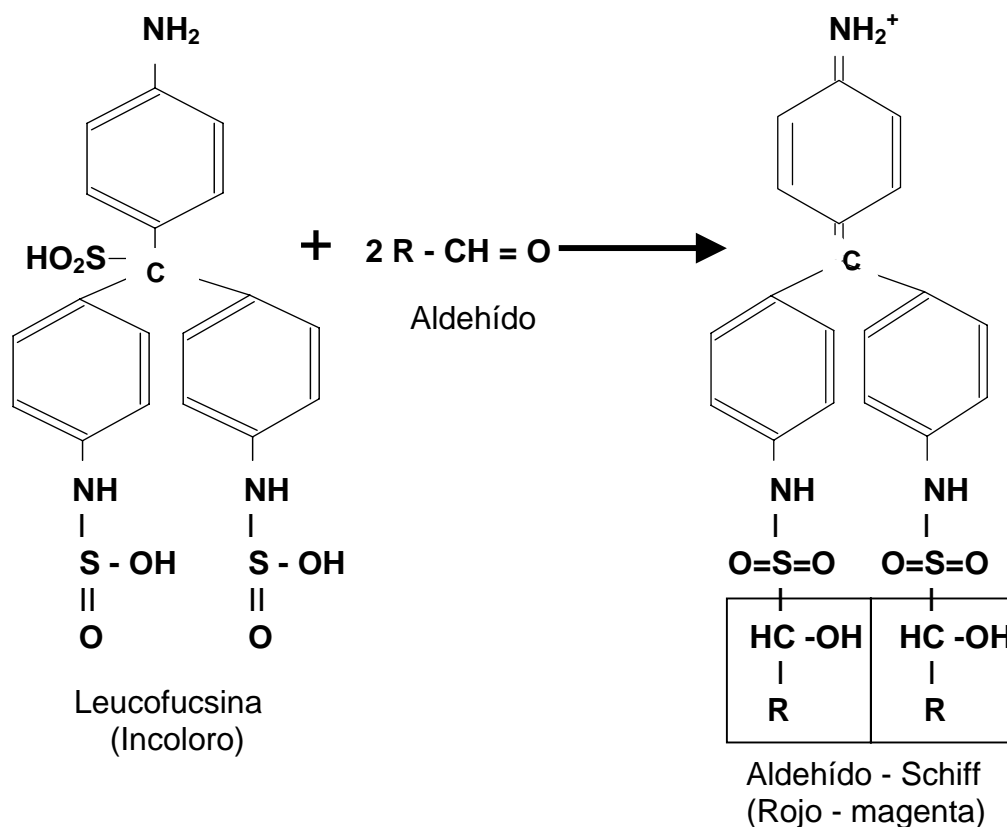


Fig.5-2. Reacción de PAS, 2o. paso [Reactivo de Schiff].

Procedimiento tinción de PAS:

Después de desparafinar y rehidratar las secciones, se les aplica el agente oxidante (solución de ácido peryódico) de 10-30 minutos. Se lava con agua por 3 minutos. Se sumerge en el reactivo de Schiff por 20 minutos, se lava con agua y se deja remojando por 10 minutos. Se aplica la coloración de contraste deseada (puede ser H-E u otra), se deshidratan las secciones y se procede al método general de procesamiento de muestras. ^(Fentanes y col, 1990; Klatt, 1994)

5.4.3 TINCIÓN PARA TEJIDO CONECTIVO

El tejido conectivo está constituido por tres tipos de fibras; colágeno, reticulina y elastina. Estas fibras, que tienen sus propias características morfológicas, presentan también propiedades químicas que hacen posible la tinción en forma específica. Estas fibras pertenecen a la familia de las glicoproteínas. La colágena presenta una alta proporción de glicina y prolina principalmente. (Kiernan, 1990; Murray, 1997; Stanley y col, 2004)

Las técnicas de coloración histológica más comunes para tejido conectivo se basan en mezclas de colorantes aniónicos que imparten diferente coloración al citoplasma y a las fibras de colágena. Debido a que en la tinción para tejido conectivo se utilizan tres o más colorantes, a estas técnicas de coloración se les conoce con el nombre de "tricrómicas". Para estos tipos de coloración es necesaria la utilización de los llamados heteropoliácidos, mismos que se forman a partir de la reacción de dos o más ácidos. El resultado de la utilización los heteropoliácidos en combinación con los colorantes es que se obtiene una coloración selectiva de colágena. (Kiernan, 1990; Klatt, 1994)

Para la coloración tricrómica, el heteropoliácido puede ser el ácido fosfomolibdico (PMA, de las palabras en inglés phospho-molibdic acid) o se puede optar por el ácido fosfotungstico (PTA, del inglés phospho-tungstic acid). El heteropoliácido, durante la reacción, se une con los tejidos en sus porciones proteínicas y de aminoácidos, pero no a los carbohidratos. La unión se lleva a cabo preferentemente a las porciones proteínicas y a las aminas del colágena, pero presentan poca afinidad a las mismas porciones del citoplasma y núcleo. Las estructuras que se han unido con PTA o PMA se vuelven fácilmente teñibles con los colorantes aniónicos. (Kiernan, 1990; Klatt, 1994)

Existen diferentes hipótesis acerca de la función de los heteropoliácidos para lo cual facilitan la tinción. Una de ellas, al parecer la que mejor explica la función, afirma que los heteropoliácidos actúan como mordentes sobre las moléculas de los tejidos y esto facilita la atracción de los colorantes aniónicos. Aún así, no se ha podido dilucidar exactamente el mecanismo de acción de PTA y PMA con las fibras de colágena. (Kiernan, 1990; Klatt, 1994)

De los diferentes tipos de coloración para tejido conectivo, los más usados son la tricrómica de Mallory-Azan, la tricrómica de Masson y la tinción de Gallego. Para la coloración de Mallory y Masson es necesario fijar los tejidos en líquido de Bouin, mientras que para la tinción de Gallego los tejidos se fijan en formol. (Kiernan, 1990; Torres y col, 1995)

Mallory-Azan:

La coloración tricrómica de Mallory-Azan es una modificación de la coloración de Mallory, ya que en la primera se le adiciona, además de los constituyentes normales, el azocarmín. Los otros constituyentes son: ácido fosfotungstico, naranja G, azul de anilina y fucsina ácida. (Kiernan, 1990; Torres y col, 1995; Martoja, 1970)

Resultados de la tinción tricrómica de Mallory-Azan:

Colágena:	azul
Citoplasma y músculo:	rojos
Queratina y eritrocitos:	naranja
Núcleo:	rojo
Elastina:	rosa pálido o no se tiñe

Masson:

La coloración de Masson está constituida por el ácido fosfotungstico, aunque también se suele utilizar el ácido fosfomolibdico. También contiene fucsina ácida, hematoxilina férrica y verde brillante. (Kiernan, 1990; Torres y col, 1995; Martoja, 1970)

Resultados de la coloración tricrómica de Masson:

Colágena:	azul turquesa
Citoplasma y fibras neuroglía:	rojos
Músculo:	rojo
Eritrocitos:	rojos

Gallego:

La coloración tricrómica de Gallego presenta los siguientes resultados: (Kiernan, 1990; Torres y col, 1995; Martoja, 1970)

Tejido conectivo:	verde
Tejido muscular:	verde amarillento
Tejido nervioso (fibras):	verde amarillento pálido
Eritrocitos:	verde limón
Núcleos:	rojos

5.4.4 TINCIÓN PARA LÍPIDOS (SUDÁN IV)

Los adipocitos, que forman parte del tejido conectivo, están constituidos por "grasas neutras", las cuales son: mono-, di-, o triglicéridos, siendo éste último el más abundante. (Kiernan, 1990; Torres y col, 1995; Martoja, 1970; Klatt, 1994)

Las técnicas histológicas para tejido adiposo resultan diferentes de las técnicas rutinarias. Por ejemplo, en el caso de la técnica de inclusión en parafina los solventes utilizados en ésta disuelven la mayoría de los lípidos y estos se pierden totalmente. Es por eso que la técnica empleada es la inclusión en un medio acuoso, fijando previamente por congelamiento las secciones. La muestra obtenida deberá entonces ser congelada en cuanto se obtenga. (Kiernan, 1990; Klatt, 1994)

Los colorantes utilizados deberán ser no polares, para que puedan disolverse en los lípidos de los tejidos y éstos sean visibles al microscopio. Los colorantes resultan ser más solubles en los lípidos que los solventes utilizados en ellos, esto permitirá que el colorante pueda teñir las grasas. (Kiernan, 1990; Klatt, 1994)

Existen diferentes tipos de coloración para tejido adiposo, entre los cuales destacan la tinción con Sudan III, Sudan IV, Negro (B) y la utilización del colorante Rojo Aceite O, que es un contaminante común en los colorantes Sudan III y Sudan IV. El Negro (B) resulta ser muy utilizado, pero también lo es el Sudan IV, este último es común encontrarlo en microfotografías de tejido adiposo. (Kiernan, 1990)

Sudan IV:

Este colorante-solvente es apropiado para teñir acumulaciones grandes de lípidos en tejido adiposo, por lo que se pueden detectar adipocitos aislados. (Kiernan, 1990)

Después de que la biopsia se fija por congelación, se obtienen las secciones con el microtomo adecuado. Las secciones obtenidas se sumergen en alcohol al 70 % (que es el solvente utilizado también para diluir el colorante). Posteriormente se sumergen las secciones en la solución de Sudan IV por 1 minuto y se enjuagan en alcohol al 50 % por unos segundos hasta que no se vean trazas de colorante saliendo de las secciones. Se les lava dos veces en agua y se preparan en un medio de montaje acuoso. (Kiernan, 1990)

Resultados de la tinción con Sudan IV:

Tejido adiposo: naranja a rojo

Sudan negro (B):

Los lípidos con este colorante aparecen como sombras azul-gris oscuras, con tonalidad muy oscura o negras. (Kiernan, 1990)

5.4.5 TINCIÓN PARA TEJIDO NERVIOSO (ARGÉNTICA DE RÍO HORTEGA)

Es bien conocido que las estructuras nerviosas no pueden observarse adecuadamente con los tratamientos comunes de coloración que se utilizan en otro tipo de tejidos. (Cajal, 1972; Martoja, 1970; Torres y col, 1995)

Se han desarrollado otras técnicas especiales de tinción para tejido nervioso y algunas otras son solamente modificaciones de las ya existentes. Estas coloraciones nos permiten diferenciar selectivamente ciertos elementos característicos del tejido nervioso. Entre las técnicas más utilizadas se encuentran las impregnaciones de plata, mejor conocidas como impregnaciones argénticas.

Desgraciadamente todos los mecanismos físicos y químicos basados en la reducción de plata en los tejidos son muy poco entendidos, aunque suele asociarse la argirofilia de los axones con las proteínas de los neurofilamentos. El procedimiento se realiza después de fijar con formol el tejido, se toman las secciones y se tratan con la solución argéntica, que generalmente es el Nitrato de plata. Posteriormente se utiliza un agente reductor capaz de reducir la plata mediante la reacción redox que crea la precipitación de Plata: $Ag^+ + e^- \rightarrow Ag \downarrow$. Esta deposición de plata es la que dará la coloración al tejido. (Cajal, 1972; Kiernan, 1990; Martoja, 1970; Torres y col, 1995)

En la coloración de Ramón y Cajal, y en la de De Río Hortega, la impregnación de plata da como resultado que la sustancia blanca del tejido nervioso se vea de color café, y ésta a su vez rodea a la sustancia gris que aparece de color amarillo ocre o dorado. (Cajal, 1972; Martoja, 1970; Torres y col, 1995)

5.4.6 INTERPRETACIÓN DE LAS FORMAS CELULARES

Uno de los objetivos de la Histología es saber reconocer las diferentes formas y características celulares. En base a dichas características se podrá describir con mejor precisión a los tejidos, no obstante, es importante también reconocer las características de los núcleos celulares, debido a que es un organelo perfectamente visible como componente celular, y las principales características que hay que describir del núcleo son: forma, posición, número y concentración de cromatina. (Torres y col, 1995)

Formas celulares:

Existen diferentes formas celulares, y todas ellas le dan cierta característica a los tejidos. Así mismo, todas tienen diferentes funciones, muchas veces relacionadas con la forma que presentan y con las características especiales que las distinguen. (Torres y col, 1995)

Células que tienen estrecho contacto entre ellas: (Torres y col, 1995)

Escamosas.- Estas células son planas, y vistas de perfil dan el aspecto de una escama delgada.

Cuboides.- Semejan a un cubo, aunque muchas veces estas células tienen más bien forma poliédrica, y es en los perfiles de corte donde suelen dar la forma de cubo. Algunas de estas células presentan cilios.

Columnares.- Su forma semeja a columnas cilíndricas. Es una de las formas que abundan mucho, presentando diferentes características especiales.

Columnares con microvellosidades.- Como las anteriormente descritas, semejan columnas cilíndricas y además presentan pequeñas proyecciones membranales digitiformes en su superficie luminal, que tienen como fin aumentar el área de contacto, para mayor absorción de sustancias del espacio extracelular.

Columnares ciliadas.- También semejan columnas cilíndricas, pero en este caso, las células presentan, en su superficie luminal, proyecciones de cilios que parten desde el citoplasma, específicamente provenientes de los cuerpos basales. Su función es remover las sustancias (que sobre todo son sustancias de excreción) que se encuentran sobre la superficie luminal del tejido que conforman. Los cilios tienen movimientos rítmicos que van de un lado a otro, pero siempre en un solo sentido.

Columnares alargadas.- Son células extremadamente largas y se conforman como verdaderos cilindros. Específicamente forman parte del tejido musculoesquelético.

Columnares alargadas ramificadas.- Al igual que el anterior, son como cilindros alargados, pero presentan ramificaciones. Son específicos del tejido muscular cardíaco.

Fusiformes.- Son células alargadas que semejan a un huso, esto es, que en las puntas son muy estrechas y afiladas, mientras que el centro presenta mayor calibre.

Caliciformes.- Tienen la forma de un cáliz o copa alargada, se especializan en la secreción de mucopolisacáridos. Presentan núcleo basal, la parte superior de estas células esta compuesta por vacuolas de secreción que se desprenden del aparato de Golgi y son las que contienen alta cantidad de moco para secretar. Debido a su capacidad de secretar y la forma que presentan reciben el nombre de **exocrinocitos caliciformes**.

Poliédricas.- No tienen una forma específica, se presentan con varios lados y aristas, a veces formando pentágonos, hexágonos, heptágonos, etc. El hígado está conformado por este tipo de células (hepatocitos).

Células que no están en contacto estrecho, pero mantienen comunicación mediante prolongaciones celulares: ^(Torres y col, 1995)

Piriforme.- Células que semejan la forma de una pera. Presentes en el sistema nervioso central, específicamente en el cerebelo.

Piramidal.- Estas células poseen tres ángulos o tres ramificaciones. También están presentes en el sistema nervioso.

Estrelladas.- Células con múltiples prolongaciones citoplásmicas alargadas que les permite la comunicación con otras células en diferentes direcciones. Se encuentran en el sistema nervioso.

Células que no tienen contacto entre ellas ni mantienen comunicación directa y se encuentran en continuo movimiento en forma aislada: ^(Torres y col, 1995)

Discoidales biconcavas.- Son células redondas y de perfil son delgadas y presentan una depresión central por ambos lados. Los eritrocitos son el único ejemplo.

Esféricas u ovoides.- La forma que tienen estas células, les permite un mejor desplazamiento. Los leucocitos son los mejores ejemplos.

Ovoides flageladas.- Son células ovoides que presentan una única prolongación muy larga del cuerpo basal como si fuera látigo, llamado flagelo. Este brinda gran motilidad autónoma a la célula. El único ejemplo es el espermatozoide.

Características del núcleo: ^(Torres y col, 1995)

Las características del núcleo son fáciles de apreciar, y lo más importante a describir es lo siguiente:

Forma.- Esférico, ovoide, alargado, aplanado, lobulado, reniforme (en forma de riñón), irregular, anular (en forma de anillo).

Concentración de cromatina.- Eucromatina (transcripcional, no muy denso, o de cara abierta), heterocromatina (no transcripcional, denso, o de cara cerrada).

Número.- Anucleado, mononuclear, binuclear, multinuclear o polinuclear.

Posición.- Central, excéntrico o paracentral, basal, apical, periférico.

PRÁCTICA 4 INTERPRETACIÓN DE SECCIONES DE CORTES HISTOLÓGICOS (MORFOLOGÍA CELULAR)

OBJETIVO

Capacitar al alumno en la interpretación de las distintas proyecciones de corte, así como el reconocimiento de las diferentes formas celulares y las características del núcleo.

LAMINILLAS: Se observarán al microscopio laminillas que contienen secciones histológicas o frotis, las cuales indican el órgano de donde se tomó la sección histológica y el tipo de tinción utilizado. Estas prácticas podrán ser complementadas con sesiones de diapositivas.

ESTÓMAGO, H-E.

Observa el órgano a simple vista. Hacia uno de los bordes se aprecia una zona intensamente basófila (morada) que presenta una serie de pliegues. Del lado opuesto se observa una zona de tonalidad acidófila (rosa). Al enfocar con 10x (o preferentemente con 4x, si lo posee), dirigiéndose hacia el borde de la zona basófila, se puede distinguir un conjunto de células columnares muy unidas entre sí, con aspecto de empalizada. Céntralas en el campo y ahora pasa al objetivo 40x y observarás que se trata de células con las siguientes características: Columnares, mononucleadas, núcleo ovoide, de cara abierta y de posición basal. Con el objetivo de 100x se apreciarán con más detalle las características mencionadas.

TRAQUEA, P.A.S.

Observa el órgano a simple vista y notarás que se trata de un órgano hueco de forma tubular, cortado transversalmente. Con el objetivo de 10x enfoca el tejido que tapiza interiormente éste órgano. Corresponde a la luz del mismo. Este tejido tiene un aspecto un tanto confuso debido a que está integrado por tres diferentes tipos de células, intercaladas totalmente y al azar, y en diferente proporción numérica. Con el objetivo 40x podrás identificar células con las siguientes características: columnares con cilios, núcleo ovoide de posición basal, central o apical, de cara abierta. Células caliciformes, carentes de cilios, con citoplasma color rosa intenso, debido a que el contenido reacciona con el reactivo principal (PAS positivo) y que corresponde al producto de secreción (glicoproteínas), núcleo de forma piramidal, posición basal y de cara abierta. El tercer tipo celular corresponde a células de forma piramidal que aparentemente no llegan a la superficie, pero debido al factor corte dan este aspecto.

INTESTINO GRUESO, TRICRÓMICA DE MASSON.

A simple vista, éste órgano puede tener cierta semejanza con el estómago, ya que en uno de sus bordes presenta pliegues, que constituyen la luz del órgano. Con el objetivo 10x podemos observar que el intestino grueso es un órgano tubular. Localizando el borde luminal, y al observarlo con 40x, se puede identificar un revestimiento de una sola capa de células columnares que en su borde apical presentan microvellosidades (como borde en cepillo). Presentan un núcleo de forma ovoide, de posición central o basal y de cara abierta. Entre estas células se encuentran intercaladas células caliciformes que aparecen sin colorear, ya que por el tipo de coloración no pueden ser vistos los productos de secreción, por lo que ven como si estuvieran huecas. Recorriendo el tejido hacia el otro extremo podrás observar un tejido formado por células fusiformes, de color rojo intenso, y que se presentan en corte longitudinal y transversal. Son células musculares lisas, que presentan núcleo ovoide, central y de cara abierta.

LENGUA, H-E.

La laminilla observada a simple vista presenta, en una de sus caras o superficies, bordes irregulares de color violeta. Con el objetivo 10x, podrás observar que dichos bordes corresponden a las papilas, las cuales están formadas por células escamosas que tienden a la queratinización en la parte más superficial. Estas células presentan núcleo ovoide a esférico, de posición central de cara abierta. Localiza en el centro de este órgano un tejido teñido de rosa intenso, conformado por células columnares alargadas, que corresponden a músculo estriado o miocitos esqueléticos. Al observarlas con 40x, se notarán estrías transversales en cada célula. Debido a que en la lengua estas células se disponen en grupos orientados en diversas direcciones, se podrán distinguir tanto cortes transversales como oblicuos. Se puede apreciar que estas células son multinucleadas, el núcleo es de forma ovoide y se dispone en posición periférica, son de cara abierta.

CORAZÓN, H-E.

A simple vista se observa todo un tejido color rosa intenso. Con el objetivo 10x, enfoca el tejido y localizarás células con morfología columnar alargada ramificada; pasando al objetivo 40x se pueden apreciar estrías transversales en cada célula. Estos son los miocitos cardiacos. Se puede observar que estas células son más cortas que los miocitos esqueléticos. Son células mono y binucleadas (ocasionalmente trinucleadas), sus núcleos son ovoides con posición excéntrica y de cara abierta.

PIEL, H-E.

Observa la laminilla a simple vista, y podrás notar en uno de los bordes una zona delgada intensamente acidófila. Por debajo de ésta se aprecia una banda delgada totalmente basófila, y en el otro borde se aprecia una zona ancha, acidófila, pero teñida con menor intensidad que la primera. Las dos primeras capas representan a la epidermis, mientras que la capa inferior corresponde a la dermis. Al enfocar con 10x podremos observar los diferentes estratos que constituyen a la piel. Enfocando con 40x observaremos los detalles celulares de cada estrato. El estrato superficial está compuesto por células escamosas, que en su parte externa está constituido por escamas de queratina. Las células del este estrato presentan núcleo central y pequeño, que en las partes más superficiales, los núcleos tienden a la picnosis (disminución de tamaño), o son ausentes. Esta capa se le conoce como estrato corneo. Hacia abajo se aprecia una línea delgada de células pequeñas, de forma poliédrica, basófilas, con núcleos grandes, de forma ovoide, de color azul-violeta, de cara abierta. Esta capa constituye al estrato granuloso. Hacia el centro se observan células poliédricas un poco más pequeñas, basófilas, con núcleos grandes, ovoides de color violeta, de cara abierta, y que terminan en proyecciones papilares y digitiformes que hacen tracción con la capa siguiente. El estrato antes descrito constituye el estrato germinativo. Por último, la capa que es acidófila con algunos puntilleos basófilos está constituida por células irregulares, ovoides y redondas, separadas ampliamente entre sí por un tejido fibroso. Se observan algunas aglomeraciones celulares basófilas que corresponden a algunas glándulas, y otras aglomeraciones de aspecto esponjoso, con formas redondas aparentemente vacías, que corresponden a tejido adiposo, así como grupos de células fusiformes, mononucleadas, con núcleo ovoide, de posición central, de cara abierta y basófilos que corresponden al tejido muscular liso.

PULMÓN, Tricrómica de Gallego.

A simple vista se puede observar que es un órgano que presenta muchos huecos. Con 10x se observa que el pulmón es un órgano parenquimatoso que presenta miles de celdas o pequeños panales denominados alvéolos pulmonares, que son los que le dan esa apariencia hueca a simple vista. Se puede apreciar que los alvéolos están delimitados por unas estructuras llamadas septos inter-alveolares, mismos que se interconectan para formar la red o celdas alveolares. Con 40x se puede observar que los septos están constituidos por un revestimiento epitelial de células escamosas, mononucleadas, con núcleo plano, de posición central y de cara abierta. En algunas porciones de los septos se observan capilares sanguíneos, que pueden contener eritrocitos de color verde limón, y que pueden encontrarse deformados, debido a la elasticidad que presentan cuando pasan por estos conductos estrechos. Se recomienda pasar a 100x para apreciar mejor estos detalles.

HÍGADO, H-E.

Este órgano a simple vista presenta zonas densas, pero con algunos espacios vacíos. El tejido se ve homogéneamente rosa. Al observar la laminilla con lupa o 4x, se aprecian las estructuras hexagonales que corresponden a los lobulillos hepáticos. Con 10x se puede observar en el centro de cada hexágono una estructura redondeada que es la vena central, hacia la que convergen hileras de células poliédricas que son los hepatocitos con algunas zonas pálidas entre ellos, que corresponden a las sinusoides hepáticas (vasos sanguíneos modificados). Con 40x puede observarse que las células son mono y binucleadas, con núcleo esférico, de posición central, o excéntricos si existe binucleación, y son de cara abierta. En la unión de tres lobulillos hepáticos se pueden encontrar estructuras redondeadas u ovaladas, cuya pared está revestida por células cuboides que corresponden a ductos biliares, y que en ocasiones las células son columnares. Dichas células son mononucleadas, con núcleo esférico, de posición central y de cara abierta. Algunos espacios vacíos están revestidos por células escamosas simples, que corresponden a vasos sanguíneos. Dentro de los mismos pueden observarse algunos eritrocitos con su característica forma discoidal bicóncava de color rojo intenso, carentes de núcleo.

CEREBELO, H-E.

Con el objetivo 10x se observa una zona acidófila que se asemeja a un tronco y sus ramas. Este "árbol" está cubierto externamente por otro tejido, el cual, con el objetivo 40x nos muestra tres estratos: el más interno es basófilo, el intermedio está formado por células grandes piriformes y la capa externa es acidófila. Con el objetivo 100x, el estrato intermedio se puede distinguir por las células piriformes mononucleadas, núcleo esférico de posición central y de cara abierta.

CEREBRO, H-E.

Con el objetivo 10x se aprecian dos tejidos diferentes, el interno más acidófilo que el externo. Con el objetivo 40x, el tejido externo contiene células con forma estrellada y piramidal. Si estas mismas se observan con 100x, se aprecian células mononucleadas, con núcleo esférico, de posición central y de cara abierta.

EPIDÍDIMO, H-E.

Con el objetivo de 10x, se puede notar la presencia de gran cantidad de estructuras redondeadas que en realidad corresponden a un solo ducto, el ducto epididimario, cuyo corte (debido a la gran cantidad de flexuosidades que presenta), pasa por varios niveles del ducto simultáneamente. En ese caso se observará una sola porción del ducto. Cambiando al objetivo de 40x, observando hacia el borde luminal del ducto que está revestido por una capa de células columnares que en su borde apical presentan microvellosidades largas, sinuosas y ramificadas. Estas células presentan un núcleo ovoide, de posición basal o central de cara abierta. En la luz del ducto encontraremos un acumulo de células, presentando cada una de ellas un flagelo hacia uno de los polos. Son los espermatozoides, que corresponden a las células flageladas y poseen un núcleo de forma ovoide, de posición central, de cara cerrada, y que ocupa la mayor parte de la célula.

5.5 EPITELIOS

El tejido epitelial es una capa de células que tienen la misma forma, origen y función y se encuentran revistiendo cavidades, cubriendo superficies o como un acumulo complejo de células denominadas glándulas. Las células epiteliales se encuentran unidas entre sí por una sustancia intercelular escasa conocida como cemento. (Cormack, 1988; Wolf y col, 1996; Burns y col, 1978)

El tejido epitelial, en sentido estricto, descansa sobre una base rica en mucopolisacáridos, que contienen fibras reticulares de sostén. El epitelio está integrado y soportado por una matriz extracelular de tejido conectivo en su parte basal, razón por la cual se llama membrana basal. Por otro lado, la parte superficial o "libre" se le conoce como zona apical, la cual es la que está en contacto con el medio externo. (Cormack, 1988; Wolf y col, 1996; Burns y col, 1978)

El tejido epitelial es avascular, por lo que depende del tejido conectivo para obtener los nutrientes, los cuales provienen desde el aporte sanguíneo, atraviesan la membrana basal y llegan finalmente a las células epiteliales. (Cormack, 1988)

La función del tejido epitelial es la de proteger, secretar, excretar, absorber y además es un receptor de estímulos. (Cormack, 1988; Wolf y col, 1996; Burns y col, 1978)

5.5.1 CLASIFICACIÓN DE LOS EPITELIOS

Existen tres aspectos importantes que se deben de considerar para clasificar a los tejidos epiteliales: forma celular, número de capas, y características celulares especiales. (Cormack, 1988; Wolf y col, 1996; Burns y col, 1978)

a) Caracterización del epitelio en función de la forma celular:

El perfil que presentan las células al corte le dan a la superficie epitelial características importantes que permiten diferenciarla de otras. Existen tres tipos de "formas" celulares: escamosa o plana, cuboide y columnar, además existe un tipo de epitelio denominado de transición debido a que sus células cambian de forma. (Cormack, 1988; Wolf y col, 1996; Burns y col, 1978)

Entonces, son cuatro los tipos de epitelio que encontramos, los cuales se describirán brevemente y después se ampliará su descripción y se mostrarán esquemas de los mismos.

El **epitelio escamoso**, se caracteriza por la forma plana de la capa celular superficial. Este epitelio es de gran resistencia y brinda alta protección, sobre todo en las zonas más expuestas al desgaste. (Cormack, 1988; Wolf y col, 1996; Burns y col, 1978)

El **epitelio cuboide** presenta células "cuboides" que pueden tener funciones de revestimiento o glandulares. (Cormack, 1988; Wolf y col, 1996; Burns y col, 1978)

El **epitelio columnar** presenta células prismáticas rectangulares que también revisten conductos glandulares de mayor calibre. (Cormack, 1988)

El **epitelio de transición** presenta continuo cambio en la forma de las células de acuerdo a los cambios de presión que se ejercen sobre ellas. Estas células presentan una disposición convexa con respecto a la superficie. Sus células son ovales en estado relajado, y cuando están en estiramiento, las células superficiales, las cuales son más grandes que las células basales, aparecen en forma plana. (Cormack, 1988; Wolf y col, 1996; Burns y col, 1978)

b) Por el número de capas o estratos:

Según el número de estratos, el epitelio puede ser simple, estratificado y pseudoestratificado. (Burns y col, 1978)

El **epitelio simple** consiste en una sola capa celular, en la cual cada célula mantiene una forma constante. (Burns y col, 1978)

El **epitelio estratificado** presenta más de una capa celular. Las capas celulares profundas que constituyen a este tipo de epitelio están compuestas por células que mantienen una forma prácticamente constante, pero que pueden diferir en forma con las células superficiales. La forma celular de la capa más superficial o externa es la que se toma en cuenta para la clasificación de los tejidos. (Cormack, 1988; Wolf y col, 1996; Burns y col, 1978)

El **epitelio pseudoestratificado** consiste en una sola capa celular, pero aparenta tener más. Todas las células que constituyen este epitelio tocan la base, pero no todas llegan a la superficie. Las células que integran este tipo de epitelio son piramidales y columnares, y en algunos casos entre ellas se pueden encontrar intercaladas algunas células caliciformes. (Cormack, 1988; Torres y col, 1995; Burns y col, 1978)

c) Características celulares especiales:

Las características celulares a considerar son las estructuras especiales que presentan las células de algunos órganos. Así, por ejemplo tenemos células con microvellosidades, otras con cilios, también existen células en estado queratinizado, etc. (Torres y col, 1995)

Es importante mencionar que **para definir a un epitelio específico**, es necesario usar los adjetivos que caracterizan a los tejidos, uno **que defina el tipo de tejido y su forma celular**, otro **que describa el número de capas** y por último uno **que describa las características especiales celulares**. (Torres y col, 1995)

Para exponer un ejemplo de cómo se pueden definir y describir los epitelios, se da la siguiente descripción:

“Epitelio columnar simple con microvellosidades y exocriocitos caliciformes”

La descripción de arriba nos indica que es el tejido que se encuentra en el intestino. Recibe esta clasificación ya que las células más abundantes son de forma columnar, presenta sólo una capa celular, por lo que es simple y cada célula presenta microvellosidades. Además entre las células columnares con microvellosidades se encuentran intercaladas algunas células de aspecto caliciforme que tienen la capacidad de secretar una sustancia mucosa hacia la superficie. (Torres y col, 1995)

Las descripciones deben indicar las combinaciones que podemos encontrar en un corte histológico. Para tener una idea de cómo se puede utilizar de mejor manera la descripción de los epitelios, es importante que conozcamos las características generales de cada uno, así como apreciar los perfiles que presentan al verlos en el microscopio. Es recomendable realizar la descripción en orden, describiendo primero la forma predominante del epitelio con sus características especiales y posteriormente la función que puedan realizar o si comparten lugar con otro tipo celular con función especial. Con la práctica, las descripciones se podrán realizar de una forma más natural, por eso es importante visualizar diferentes tipos de epitelios y describirlos inmediatamente. (Torres y col, 1995)

5.5.2 EPITELIO ESCAMOSO SIMPLE

El epitelio escamoso simple presenta una sola capa celular que tiene la apariencia de escamas, las cuales se extienden sobre la membrana basal como si formarían una sábana protectora. El núcleo es protuberante por la forma aplanada de la célula. La figura 6-1 muestra este tipo de epitelio. Ejemplos de epitelio escamoso simple son: la hoja parietal de la cápsula glomerular, endotelios y mesotelios. (Cormack, 1988; Wolf y col, 1996; Burns y col, 1978; Torres y col, 1995)

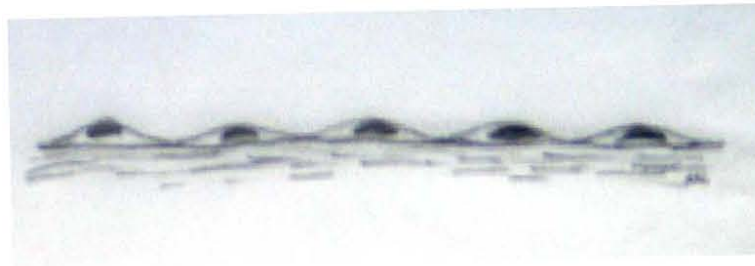


Fig.6-1. Epitelio escamoso simple.
Tejido endotelial compuesto por una sola capa de células planas de aspecto escamoso.

5.5.3 EPITELIO ESCAMOSO ESTRATIFICADO

El **epitelio escamoso estratificado** cumple una función altamente protectora. La figura 6-2 esquematiza este epitelio. En la capa basal se encuentran células madres o progenitoras que tienen una alta capacidad mitótica. Al ir madurando, las células basales van subiendo de capa hasta llegar a las zonas superficiales donde adquieren cierta especialización y después mueren y se desprenden o exfolian, ocupando ahora su lugar las células que vienen de los estratos basales. En este epitelio las células superficiales, que están sometidas a un mayor desgaste, son planas y de mayor resistencia, pero se mantienen vivas. Ejemplo de este tipo de epitelio se encuentra en algunas mucosas como el esófago, la vagina, la parte interna de los labios y el interior de la boca, así como en la cornea del ojo. (Burns y col, 1978; Torres y col, 1995)

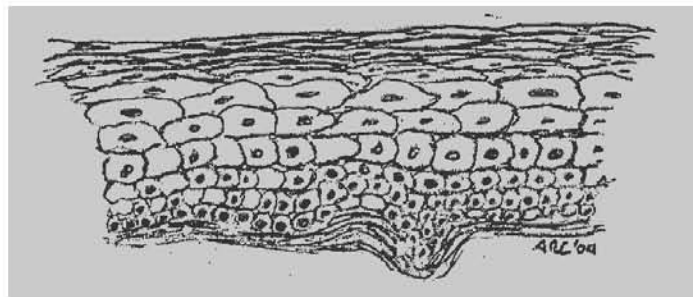


Fig.6-2. Epitelio escamoso estratificado.
Epitelio normal de cuello uterino, compuesto por varias capas de células, de las cuales las de capas más superficiales son totalmente planas y escamosas.

El **epitelio escamoso estratificado queratinizado** es un epitelio de muy alta protección, los estratos son casi siempre más numerosos, y por lo mismo, los nutrientes son cada vez más escasos en las capas superficiales. Esto propicia la muerte celular en la zona superficial, creando de esta forma varias capas de células muertas cornificadas que componen la queratina, de aquí que se le conozca como estrato corneo (ver figura 6-3). Entre los mejores ejemplos que se tienen se encuentran la piel y la superficie de la lengua. (Burns y col, 1978; Torres y col, 1995)

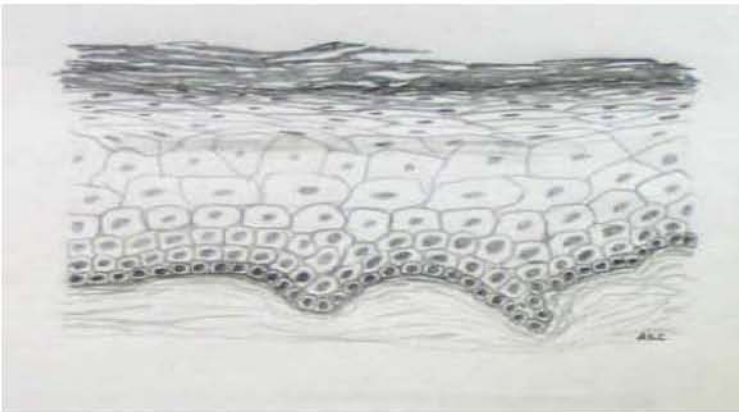


Fig.6-3. Epitelio escamoso estratificado queratinizado.
Epitelio de la piel. Las capas más superficiales está formada por células totalmente planas, pero las que prácticamente están en contacto con el exterior son células anucleadas de aspecto queratinizado.

5.5.4 EPITELIO CUBOIDE SIMPLE

Este epitelio está formado por una sola capa celular que se extiende a lo largo de la membrana basal y que está constituida por células de apariencia cuboide. La mayoría de las células que componen este tipo de epitelio son, en realidad, de forma prismática isodiamétrica, esto es, que su tamaño en largo es lo mismo que a lo ancho y de altura, su núcleo generalmente se localiza en el centro, es esférico y de cara abierta (ver figura 6-4). El epitelio cuboide simple lo encontramos tanto en conductos biliares como salivares pequeños, así como en la mayoría de los conductos pequeños de todas las glándulas exocrinas, también se encuentra recubriendo a los ovarios. (Burns y col, 1978; Wolf y col, 1996; Torres y col, 1995)

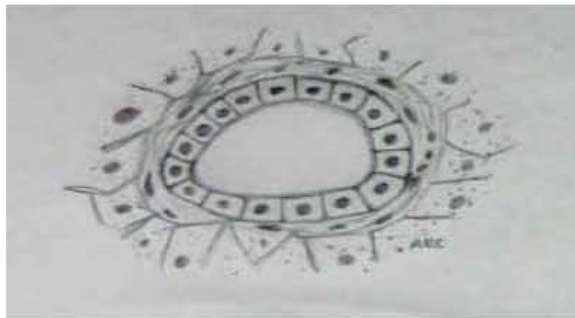


Fig.6-4. Epitelio cuboide simple.
Un ducto biliar, que está compuesto por una capa celular cuboide simple.

5.5.5 EPITELIO CUBOIDE ESTRATIFICADO

Este epitelio, como el que se muestra en la figura 6-5, está compuesto por dos o más capas celulares cuboides, aunque las capas profundas pueden presentar otras formas más bien poliédricas, las de la superficie son siempre cuboides. Este tejido se encuentra en los conductos de mediano calibre de las glándulas, como por ejemplo los salivares, en conductos de la glándula mamaria y en algunas porciones de las glándulas sudoríparas. (Burns y col, 1978; Torres y col, 1995)

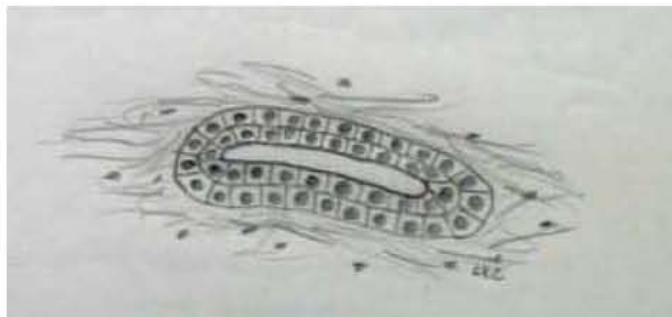


Fig.6-5. Epitelio cuboide estratificado.
Ducto de glándula sudorípara, la cual presenta dos capas de células cuboides.

5.5.6 EPITELIO COLUMNAR SIMPLE

Este epitelio cuenta con células prismáticas largas. Su núcleo se localiza en el centro y generalmente es oval. Algunas células de este tipo presentan su núcleo cerca de la base celular, la esquematización de éste epitelio se encuentra en la figura 6-6. El epitelio columnar simple se encuentra en muchos conductos glandulares, así como en las mismas glándulas como el endometrio. (Burns y col, 1978; Torres y col, 1995)

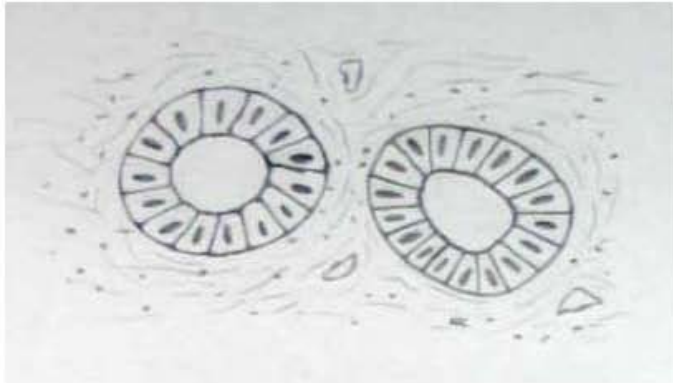


Fig.6-6. Epitelio columnar simple. Glándula endometrial. El endometrio está conformado por tejido glandular, que está compuesto por una sola capa de células columnares.

El **epitelio columnar simple con microvellosidades** se muestra en la figura 6-7. Presenta células columnares más especializadas, ya que presentan proyecciones digitiformes de la membrana apical, que facilitan la absorción. Esto es debido a que dichas proyecciones membranales aumentan aún más el área de contacto. Las microvellosidades presentan en su superficie externa una alta cantidad de mucopolisacaridos que son PAS positivos. Las células de este tipo de epitelio constituyen la capa externa de la mucosa del órgano que componen (como en el intestino), se distribuyen a lo largo de la membrana basal, la cual presenta pliegues que se proyectan hacia el interior dando lugar a lo que se le conoce como criptas, en donde se alojan las células madre. De esta forma las células madre se encuentran totalmente protegidas, evitando el desgaste y la muerte que presentan las células que se alojan fuera de las criptas. Este tipo de epitelio se complementa generalmente con exocriocitos caliciformes. (Burns y col, 1978; Torres y col, 1995)

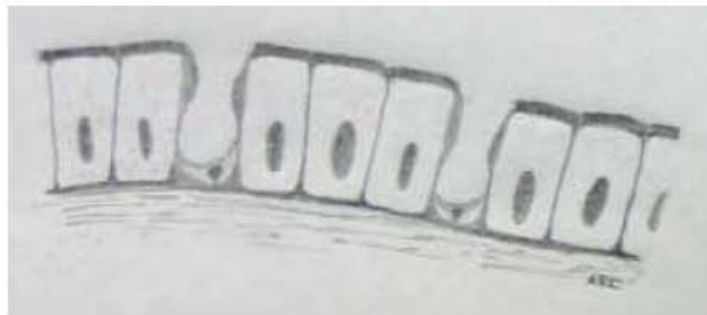


Fig.6-7. Epitelio columnar simple con microvellosidades. Intestino delgado, conformado por una capa de células columnares con microvellosidades. Las células columnares se intercalan con algunos exocriocitos caliciformes.

5.5.7 EPITELIO COLUMNAR ESTRATIFICADO

Este tejido está constituido por dos o más capas de células columnares, como se muestra en la figura 6-8. Se le puede observar en algunas porciones de la uretra masculina así como en los conductos de mayor calibre de glándulas lagrimales y salivares.

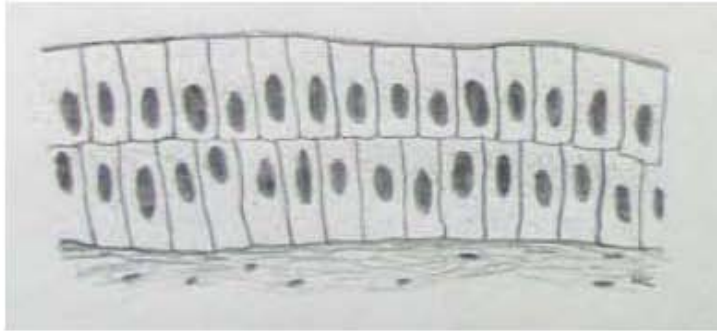


Fig.6-8. Epitelio columnar estratificado.
Conducto secretor de glándula sublingual. Este tejido presenta dos capas de células columnares, característico de muchas glándulas, sobre todo en porciones donde se presenta un gran calibre.

5.5.8 EPITELIO PSEUDOESTRATIFICADO

Este tipo de epitelio tiene es altamente especializado. Da la apariencia de tener dos o más capas celulares, cuando presenta sólo una. Las células tienen cilios, responsables de mover el moco que se encuentran sobre ellas, arrastrándolo hacia el exterior junto con sustancias de desecho y diversos contaminantes que se adhieren a él. Así, este tejido también presenta exocinocitos caliciformes PAS positivos, que son los responsables de la secreción de mucopolisacáridos que forman el moco protector del epitelio. En la figura 6-9 se muestra el epitelio pseudoestratificado. Este tejido se encuentra únicamente en las vías respiratorias superiores. (Burns y col, 1978; Torres y col, 1995)

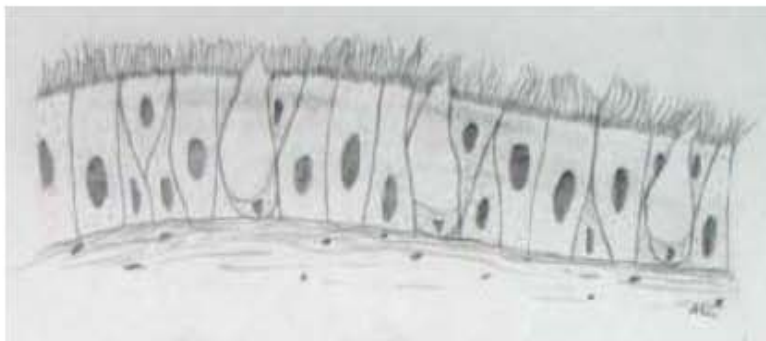


Fig.6-9. Epitelio pseudoestratificado.
Epitelio bronquial. Este tejido tiene la apariencia de presentar varias capas celulares, sin embargo sólo presenta una capa. Nótese los cilios que se presentan en las células columnares. Alternadamente se encuentran algunas células caliciformes.

Los **cilios** son organelos celulares que protuyen desde los cuerpos basales y están compuestos por microtúbulos, mismos que se distribuyen en un cilio como nueve dobletes periféricos y dos singuletes centrales (9:2). En la figura 6-10 se muestra como el cilio protuye a través de la membrana celular, y también se muestra el corte del cilio donde se aprecia la distribución de los microtúbulos. (Burns y col, 1978; Torres y col, 1995)

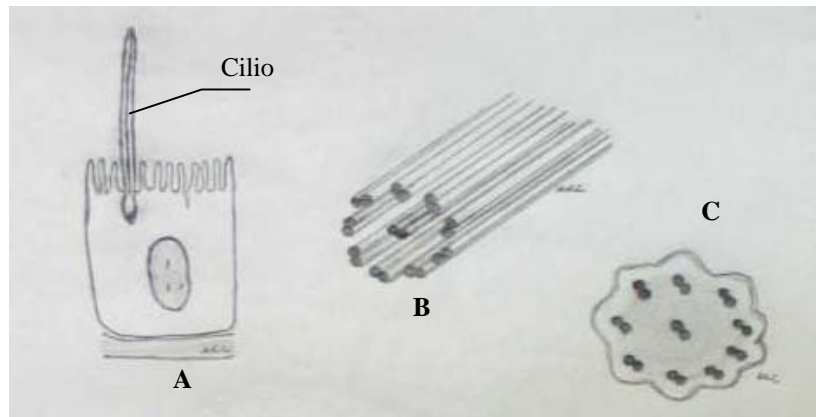


Fig.6-10. Cilio.

- A. Una célula con un cilio, el cuál protuye desde el cuerpo celular.
- B. Vista isométrica de un cilio.
- C. Corte transversal de un cilio, en el que se muestran perfectamente sus nueve dobletes periféricos y los dos singuletes centrales (9:2).

El movimiento de los cilios es en forma rítmica y ondular, y además es autónomo (no depende del SNC). La figura 6-11 muestra el movimiento de los cilios celulares. En el tracto respiratorio, el movimiento ciliar es hacia la laringe, lo que permite que el moco secretado salga y no regrese, de esta forma es expectorado o deglutido. (Burns y col, 1978; Torres y col, 1995)

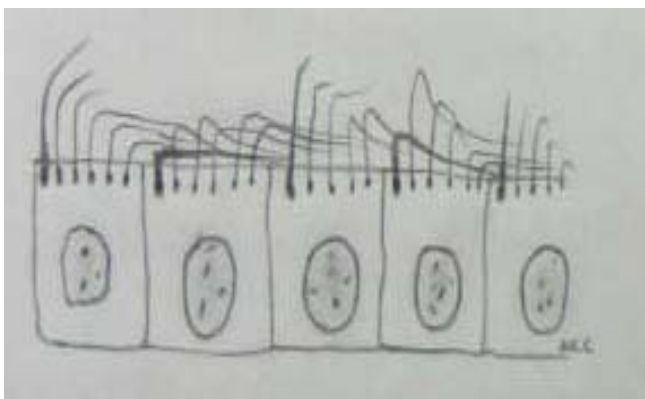
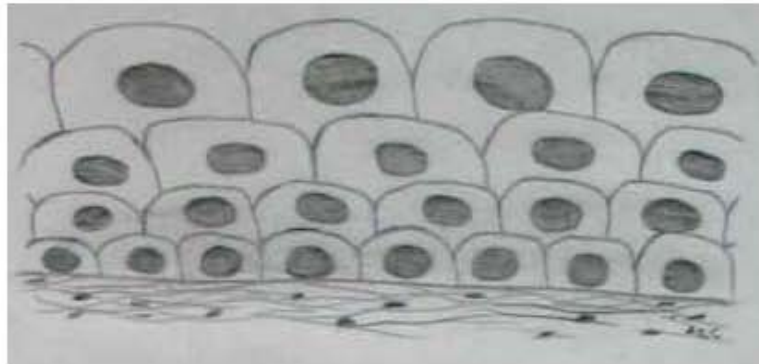


Fig.6-11. Movimiento ciliar.

Movimiento rítmico de los cilios, presente en varios tipos de epitelio, el epitelio bronquial es el mejor ejemplo. El moco que recubre las células se mueve en dirección del movimiento ciliar, que en este caso va de izquierda a derecha.

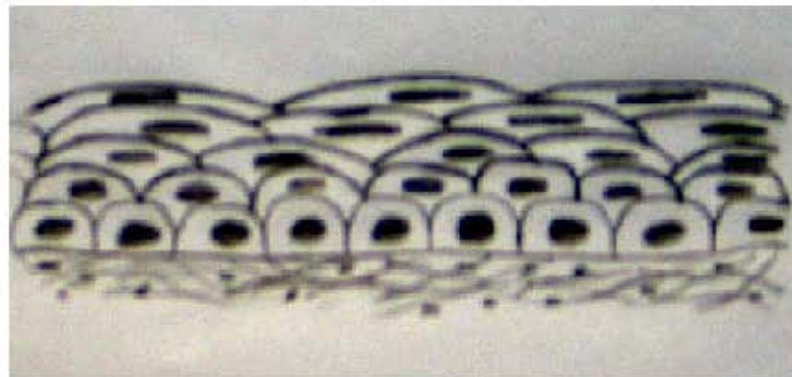
5.5.9 EPITELIO DE TRANSICIÓN

Este epitelio es siempre estratificado. Presenta dos posibles conformaciones de acuerdo al estado de relajación y al de distensión. Cuando éste tejido se encuentra en estado relajado, las células adquieren forma cuboide o incluso casi esféricas, desde los estratos más profundos hasta las más superficiales, siendo éstas más grandes que las primeras. Los núcleos son grandes y esféricos, presentan cara abierta (ver figura 6-12). Por otro lado, cuando este epitelio se encuentra distendido, las células basales conservan su forma, mientras que las superficiales se aplanan, incluso parecen verdaderas escamas, deformando así mismo al núcleo, haciéndose también plano (ver figura 6-13). El epitelio de transición se localiza en las vías urinarias: pelvis renal, uréteres, vejiga urinaria y uretra. El mejor ejemplo es la vejiga urinaria, el epitelio se encuentra distendido cuando la vejiga se encuentra llena de orina, y que después de la micción, las células se encontrarán en estado relajado.. (Burns y col, Cormack, 1988; 1978; Torres y col, 1995)



6-12. Epitelio de transición [relajado].

Epitelio de transición de la vejiga urinaria. Aquí, el epitelio se encuentra totalmente relajado.



6-13. Epitelio de transición [distendido].

Epitelio de transición de la vejiga urinaria. En este caso, la vejiga se encuentra llena de orina, por lo cual éste tejido se encuentra distendido. Note como las células han cambiado su conformación y se ha reducido un poco la altura del tejido.

PRÁCTICA 5 INTERPRETACIÓN DE SECCIONES DEL TEJIDO EPITELIAL

OBJETIVO

Observar los diferentes tipos de tejido epitelial: simple, estratificado, pseudoestratificado y además el epitelio de transición.

TEJIDO EPITELIAL SIMPLE

PULMÓN, TRICRÓMICA DE GALLEGO.

Enfoca con 10x la laminilla y observarás unas estructuras en forma de red, corresponden a los alvéolos. La pared de dichas redes forma múltiples estructuras laminares. Observa con 40x la red y te darás cuenta que está revestida por células escamosas, que dan el contorno de los alvéolos. Puedes observar que estas estructuras constan de una sola capa de células, por lo que recibe el nombre de epitelio escamoso simple. También se observan algunos vasos sanguíneos, se aprecia que también están revestidos por **epitelio escamoso simple**, y en el caso de que este epitelio reviste los vasos sanguíneos recibe el nombre específico de endotelio. Con 100x puedes advertir que el tejido está formado por células de color verde-amarillento, de forma escamosa, con núcleo aplanado, posición central y de cara abierta. En la luz de los vasos sanguíneos, se pueden observar algunos eritrocitos, teñidos de color verde limón.

OVARIO, H-E.

A simple vista se puede distinguir una estructura de forma oval de color rosa pálido. Pueden observarse algunas zonas basófilas y algunos huecos que corresponden a algunos folículos ováricos en diferentes etapas de desarrollo. Con 10x, podrás observar mejor cada detalle mencionado. Recorre el campo hasta que observes la periferia, enfoca con 40x y podrás notar que está rodeado por células cuboides, que en su conjunto forman el **tejido epitelial cuboide simple**, ya que sólo presentan una sola capa de este tipo de células. Esta capa de tejido se denomina epitelio germinal en el ovario. Con 100x observarás que estas células, al corte presentan forma cuboide, con núcleo esférico, de color azul-morado, de posición central, y de cara abierta.

ESTÓMAGO, H-E.

Viendo la laminilla a simple vista, localiza la parte de tejido de color morado, la cual contiene pliegues. Enfócala con 10x. Esta es la parte luminal, en el borde puedes observar una sola capa de células columnares, formadas en empalizada. Puedes advertir que algunos pliegues pueden proyectarse formando criptas. Enfoca con 40x, y aprecia los detalles del **epitelio columnar simple**. Con 100x te darás cuenta de que las células son columnares, con núcleo ovoide, de posición basal, teñido de azul-morado y de cara abierta. En ocasiones se puede observar en la parte profunda de las criptas algunas mitosis, ya que es un tejido que está en continua regeneración debido al desgaste que presenta.

INTESTINO DELGADO, P.A.S.

A simple vista localiza la zona con pliegues, que corresponde al borde luminal y a continuación enfócala con 10x. Observarás una sola capa de células columnares que tapizan todo el borde superficial. Presenta pliegues muy profundos, llamados criptas. Con 40x observarás que se trata de un epitelio columnar simple, puedes notar en el borde de cada célula una coloración rosa intenso. Así mismo advertirás que intercaladamente se encuentran algunas células también teñidas de rosa intenso. Enfoca con 100x para que observes los detalles. Podrás notar que las células son columnares con microvellosidades y presentan una coloración rosa intenso, debido a que contienen algunas porciones con polisacáridos que son P.A.S. positivos. Las células teñidas de rosa intenso son células caliciformes que secretan proteoglicanos y mucopolisacáridos, que son P.A.S. positivos. Este tejido se clasifica como **epitelio columnar simple con microvellosidades y exocricitos caliciformes intercalados**. Las células columnares con microvellosidades presentan núcleo central, ovoide, de color morado y de cara abierta, mientras que las células caliciformes presentan núcleo basal, de forma piramidal, de color morado y de cara abierta.

TEJIDO EPITELIAL ESTRATIFICADO

ESÓFAGO, H-E.

Al observar la laminilla a simple vista notarás que se trata de un órgano tubular en corte transversal. Observa con 10x el órgano y cambia el objetivo a 40x, con él observarás que la capa más superficial está formada por células escamosas. Este tejido está integrado por diferentes formas celulares que se observan mejor con 100x. La zona más profunda del epitelio presenta células que tienen forma poliédrica, con núcleo esférico central de color azul oscuro de cara abierta. Conforme se va ascendiendo hacia la superficie, las células tienden a ser más planas y con núcleo más pequeño, de forma ovoide, de posición central de color azul muy oscuro. La zona superficial presenta células escamosas, con núcleo pequeño, aplanado, de color azul oscuro y de posición central. Todo esto constituye al **tejido epitelial escamoso estratificado**.

LENGUA, H-E.

A simple vista se puede identificar uno de los bordes con superficie muy irregular. Enfoca esta zona con 10x, y notarás que está cubierta por tejido epitelial con las mismas características del esófago. La zona más profunda del epitelio presenta células que tienen forma poliédrica, con núcleo esférico de color azul oscuro de cara abierta. Conforme se va ascendiendo hacia la superficie, las células tienden a ser más planas y con núcleo más pequeño, de forma esférica, de posición central de color azul muy oscuro. La zona superficial presenta células escamosas, planas con núcleo pequeño, ovoide de color azul oscuro, de posición central. En la parte más externa, las células son escamosas, planas, sin núcleo y queratinizadas. Este se le conoce como **epitelio escamoso estratificado cornificado o queratinizado**.

PIEL, H-E.

En este órgano puedes ver que se trata, al igual que la lengua, de un tejido escamoso estratificado queratinizado. Enfoca el tejido con 10x hacia la zona delgada acidófila (rosa intenso) que corresponde a la queratina. Por otro lado, la zona más profunda del epitelio presenta proyecciones digitiformes llamadas papilas. Enfoca esta zona con 40x y luego con 100x y podrás observar que presenta células que tienen forma poliédrica, con núcleo esférico de color azul oscuro de cara abierta y que corresponde al estrato germinativo. Regresa a 10x, y por encima de este estrato se localiza una capa delgada de células de color azul oscuro. Cambia a 40x y observarás que las células tienen pequeños gránulos oscuros que corresponden a gránulos de querato-hialina. Nuevamente cambia a 10x, y ve ascendiendo hacia la superficie, las células tienden a ser más planas y con núcleo más pequeño, este es el estrato lúcido. Enfoca ahora con 40x y verás que las células tienden a ser más planas, con núcleo muy pequeño, de forma redonda, de posición central de color azul muy oscuro. Este estrato puede verse bien sólo en pieles gruesas como la palma de la mano y planta del pie. Estas células van perdiendo su núcleo y mueren para convertirse en el estrato corneo, en el cual se encuentran células escamosas, que son anucleadas. En la parte más externa, las células son escamosas, planas, sin núcleo muy queratinizadas, conformando el estrato corneo (queratina).

GLÁNDULA SALIVAL, TRICRÓMICA DE MASSON.

A simple vista se observa que este órgano está formado por varias porciones grandes (lóbulos), y que a su vez estas porciones están divididas por porciones más pequeñas (lobulillos). Enfocando con 10x y localizando la separación entre dos lóbulos, formado por tejido fibroso azul, se recorre la laminilla por este último tejido hasta encontrar una o más estructuras tubulares de color rojo ladrillo. Enfocando con 40x una de esas estructuras que corresponden a los ductos de las glándulas, revestidas por tejido columnar, que presenta dos o más capas de estas células. Así encontraremos **tejido epitelial columnar estratificado**. No todos los ductos que veas en esos espacios tendrán epitelio columnar estratificado, ya que los ductos de menor calibre pueden presentar epitelio cuboide estratificado. Observa a detalle con 100x y apreciarás que estas células presentan núcleo grande, central o excéntrico, de forma esférica, de color azul oscuro, de cara abierta.

GLÁNDULA SUDORÍPARA, TRICRÓMICA DE MASSON.

Al igual que el tejido antes descrito, enfoca con 10x y observarás al tejido conectivo en azul. Localiza las células teñidas de color rojo-ladrillo, las cuales forman ductos compuestos por tejido cuboide formando dos capas. De este tipo de células. Este es el **tejido epitelial cuboide estratificado**. Enfoca con 40x y luego con 100x para ver los detalles. Encontrarás que las células de este tejido presentan núcleo grande, esférico, de color azul oscuro, de cara abierta y de posición central.

VEJIGA URINARIA, H-E.

Enfocando el lumen con 10x, se observa el **epitelio de transición** que reviste al órgano. Enfoca con 40x se puede ver que este tejido está formado por varios estratos de células de formas variables. Las más superficiales son más grandes, y las basales son mucho más pequeñas y poliédricas. El epitelio de transición debe su nombre a los cambios que experimenta en diferentes etapas fisiológicas. Aquí la vejiga se encuentra relajada, pero cuando la vejiga se encuentra distendida, las células cambian de conformación y adquieren forma escamosa. El epitelio de transición siempre presenta varias capas, por lo que se considera estratificado.

TEJIDO EPITELIAL PSEUDOESTRATIFICADO

TRÁQUEA, P.A.S.

Enfoca con 10x el órgano, éste corresponde a un órgano tubular en corte transversal. Enfoca la luz donde advertirás que se encuentra una capa epitelial con zonas intensamente teñidas de color rosa. Enfoca con 40x y te darás cuenta de que este tejido está integrado por células columnares ciliadas, exocrinocitos caliciformes y células basales de forma piramidal que no alcanzan la superficie. Con 100x observa los detalles en donde las células columnares presentan núcleo en diferentes posiciones, descansan sobre la lámina basal, aunque por efecto de corte se advierten unas células que presentan núcleos apicales y que aparentemente no tocan la lámina basal. Las células piramidales presentan un núcleo esférico, central y de cara abierta de color azul oscuro. Esta combinación de células es lo que les confiere a estos tejidos la apariencia de tener dos o más capas, pero realmente todas las células tocan la lámina basal. Por eso se le conoce como **tejido epitelial pseudoestratificado columnar ciliado con exocrinocitos caliciformes**, por que realmente no presenta tales estratos, si no que es una sola capa celular.

PRÁCTICA 6 INTERPRETACIÓN DE SECCIONES DEL TEJIDO EPITELIAL GLANDULAR EXOCRINO Y ENDOCRINO

OBJETIVO

Reconocer microscópicamente los diferentes tipos de epitelio glandular exocrino y endocrino.

INFORMACIÓN BÁSICA

Las células epiteliales y/o los grupos celulares de este tejido especializado en secreción son denominadas glándulas. Las glándulas exocrinas son aquellas que vierten su producto hacia una superficie corporal externa o interna, por medio de un sistema de ductos (o en algunos casos, en forma directa), que se abren en tales superficies. En el caso de las glándulas endocrinas, éstas se caracterizan por que su producto de secreción lo vierten directamente hacia los vasos sanguíneos, ya que carecen de conductos, y la acción de sus productos se realiza por vía sistémica, dirigida hacia células blanco.

Es importante clasificarlas según la forma histológica que presentan, el número de células constituyentes, la localización con respecto al epitelio de superficie, sitio hacia donde vierte su producto de secreción (exocrina o endocrina), modo de secreción y el tipo de secreción (composición química).

En el modo de secreción es importante mencionar que pueden ser: merócrinas; cuando el producto de secreción se vierte por el conducto excretor sin desprendimiento ni reducción citoplásmica de las células secretoras que continúan elaborando secreción, holócrinas; cuando las células secretoras se desintegran y forman parte de la misma secreción, y apócrinas, cuando los productos son concentrados en la extremidad libre (porción apical) de la célula secretora y eliminados conjuntamente con la porción de protoplasma en la que se habían acumulado.

GLÁNDULAS EXOCRINAS

TRÁQUEA, P.A.S.

Enfoca con 10x el epitelio de superficie que reviste el lumen, con 40x identifica los exocrinocitos caliciformes, teñidos de color rosa intenso. Estas son células caliciformes, unicelulares, de localización intraepitelial, exocrinas, merócrinas, que secretan glicoproteínas.

GLÁNDULA MAMARIA (EN REPOSO), H-E.

Enfoca la parte central de este órgano con 10x y observarás gran cantidad de tejido de color rosa pálido (tejido conectivo), en el que se ven dos tipos de estructuras huecas: las primeras son pequeñas, de color violeta pálido, revestidas por células cuboides y que se encuentran en grupos aislados, y que corresponden a los adenómeros. Las segundas son relativamente grandes y están constituidas por células cuboides de color violeta, siendo además escasas y que corresponden a los ductos de la glándula. El estado fisiológico del órgano en cuestión, al estar en reposo, experimenta una reducción de los adenómeros y proliferación del tejido conectivo. La glándula es tubuloalveolar compuesta, pluricelular, con localización extraepitelial, exocrina, apócrina, y que secretan una mezcla de azúcares, grasas y proteínas, que es lo que se le conoce como leche.

GLÁNDULA MAMARIA (EN PRODUCCIÓN), TRICRÓMICA DE GALLEGO.

A simple vista se aprecia que el corte es compacto y presenta orificios diminutos (como si fuera esponja). Enfocando con 10x en la parte central del corte, el tejido observado presenta un aspecto de red, cuyas paredes están formadas por células de morfología cuboide de color grisáceo (lactocitos). En los espacios de la red se halla una sustancia de color rosa muy pálido (en algunos cortes se aprecia más bien grisácea), que corresponde a la secreción láctea. Cada uno de estos espacios corresponde a un adenómero, revestido de células cuboides. Al localizar un ducto grande, que es de color grisáceo, se observa que está rodeado de tejido conectivo, que aparece en color azul. Al enfocar el ducto con 40x, se puede apreciar que el epitelio de revestimiento es simple o diestratificado cuboide. Estos son los ductos lactíferos de la glándula.

GLÁNDULA SALIVAL, TRICRÓMICA DE MASSON.

Con el objetivo de 10x, enfocando en la parte central, identifica las estructuras redondeadas con luz estrecha de color gris pálido, violeta o ambos colores intercalados, que ocupan la mayor parte del órgano. Estas estructuras corresponden, respectivamente a: adenómeros mucosos, de color gris pálido, integrados por células de morfología piramidal y núcleo aplanado en posición basal; adenómeros serosos de color violeta, constituidos por células de morfología piramidal y núcleo esférico en posición basal o central; y los adenómeros seromucosos, que pueden estar formados por mucocitos y serocitos intercalados, o bien por adenómeros mucosos que en su periferia se encuentran serocitos agrupados en una media luna serosa. Los ductos son de diferentes calibres, existiendo una relación proporcional entre el tipo de epitelio que reviste y el diámetro del conducto (a mayor diámetro, mayor altura celular y mayor número de capas celulares), corresponden a la porción conductora de la glándula. En su interior se localiza una sustancia grisácea correspondiente a la secreción salivar. Las glándulas salivales son: tubuloalveolares compuestas, pluricelulares, de localización extraepitelial, exócrinas, merócrinas y de secreción serosa, mucosa o seromucosa, según la localización anatómica.

PIEL, H-E.

Con el objetivo 10x, enfoca por debajo del epitelio estratificado escamoso queratinizado, en la zona integrada con tejido conectivo, y hallarás estructuras de forma globosa con aspecto adoquinado y de tamaño variable, que corresponden a las glándulas sebáceas. Con 40x puedes observar que las células que las constituyen (sebocitos), son de morfología poliédrica y están llenos de vacuolas de color blanquecino, con núcleo central y en proceso de destrucción. La glándula es alveolar simple y/o ramificada, pluricelular, de localización extraepitelial, exocrina, holocrina y secreta ácidos grasos (sebo). Regresando con el objetivo a 10x, se observan otra serie de ductos agrupados, en cuyo interior se observa ocasionalmente una sustancia grisácea (sudor). Estos son los ductos de las glándulas sudoríferas, cuyas células cuboides a veces presentan pequeñas proyecciones citoplasmáticas semejantes a gotitas. Se debe recordar que cada serie de ductos agrupados constituyen una sola glándula cortada en diferentes niveles en el mismo plano. La clasificación de la glándula sudorífera es: tubular simple en espiral, pluricelular, de localización extraepitelial, exocrina, merócrina de secreción específica como sales y polipéptidos, que en conjunto se denomina sudor.

GLÁNDULAS ENDOCRINAS

HIPÓFISIS, H-E.

A simple vista, el órgano presenta dos zonas diferentes, una basófila (que se divide en dos por un espacio blanco) y la otra acidófila. Con el objetivo de 10x enfoca la zona basófila. Hallarás cordones irregulares de células poliédricas. Esta porción tiene un aspecto cordonado. La zona basófila, localizada junto a la porción acidófila, tiene una forma histológica cordonada y folicular. La glándula se clasifica: cordonada y folicular, pluricelular, extraepitelial, endocrina, merócrina y de secreción hormonal.

TIROIDES/PARATIROIDES, H-E.

A simple vista, la laminilla presenta una amplia zona acidófila, que corresponde a la tiroides, y al lado se encuentra un área netamente basófila, que corresponden a la paratiroides. Al enfocar la tiroides con 10x, se observan estructuras redondeadas que en su interior contienen una sustancia de color rosa. Con 40x se aprecia la forma histológica folicular, representada por las paredes redondeadas constituidas por epitelio simple cuboide. La clasificación de la glándula es: folicular, pluricelular, extraepitelial, endocrina, merócrina, de secreción hormonal. Enfocando la paratiroides con 10x, vemos que es basófila, presenta cordones irregulares de células poliédricas. Al verlas con 40x, la forma histológica es cordonada. La glándula paratiroides se clasifica como: cordonada, pluricelular, extraepitelial, endocrina, merócrina y de secreción hormonal.

GLÁNDULA ADRENAL, H-E.

A simple vista se aprecia la corteza, que es acidófila, y la médula (hacia el centro) que es basófila. Enfocando con 10x observamos que la corteza tiene tres estratos, la más externa con células de forma columnar, formando arcos basófilos, el siguiente estrato forma hileras de células poliédricas dispuestas radialmente. Antes de llegar a la zona medular, tales hileras se tornan irregulares, constituyendo el tercer estrato. Revisando ahora la médula, se distingue la disposición celular que existe en la última zona descrita de la corteza, con células basófilas y que se disponen de manera más compacta. Al examinar con 40x, clasificamos a la glándula como: cordonada, pluricelular, extraepitelial, endocrina, merócrina, de secreción hormonal.

PRÁCTICA 7 INTERPRETACIÓN DE SECCIONES DE LA PIEL

OBJETIVO

Conocer e identificar todos los componentes de la piel como un epitelio especial que se considera un órgano.

PIEL, H-E.

Con el objetivo 10x distingue los dos estratos de la piel: la epidermis (estrato superficial basófilo), constituida por epitelio escamoso estratificado cornificado, y la dermis (corion), que es el tejido conectivo situado por debajo de la epidermis. Al observar con detalle la epidermis, verás que está constituida por varios estratos celulares. Estos estratos se denominan (mencionándolos de dentro hacia fuera): basal, espinoso, granuloso, lúcido y corneo. No todos los estratos son discernibles en el corte. Aquí, el estrato lúcido no está presente, dado que se trata de un corte de piel delgada. La dermis consta de dos estratos: el superficial que se le conoce como estrato papilar, formado por proyecciones irregulares de tejido conectivo colágeno laxo (papilas), que interdigitan con las respectivas proyecciones de la epidermis (crestas epidérmicas). El estrato profundo de la dermis es el estrato reticular, constituido igualmente por tejido conectivo colágeno laxo o colágeno compacto irregular que se fusiona insensiblemente con el estrato papilar. En él se halla el resto de los componentes de la piel que a continuación se describen: los folículos pilosos, que son los más abundantes. Son estructuras de forma ovoide o circular que constan de un anillo de varios estratos celulares con material café en su interior, que corresponde al pelo. Junto a los folículos pilosos encontrarás las glándulas sebáceas, formadas por células poliédricas mononucleadas (sebocitos o exocrinocitos sebáceos), cuyos núcleos ocasionalmente se ven en proceso de destrucción (cariólisis). En algunas glándulas es posible ver como sus ductos se abren dentro del folículo. En las cercanías de estas estructuras anteriormente citadas hallamos al músculo piloerector, constituido por músculo liso. Por debajo de los folículos se encuentran cúmulos de estructuras con forma ovoide o redonda cuyas paredes están compuestas por células cuboides o columnares; se trata de las glándulas sudoríferas. Si bien la glándula es tubular simple, ésta se espiraliza, razón por la cual aparece más de una sección en el corte. En la dermis hay también un número variable de arterias, venas y nervios encargados de la irrigación e inervación de la piel. Por último, hay que señalar que en algunos preparados se distingue el tejido subcutáneo, en el que se puede hallar el panículo adiposo, constituido por tejido adiposo blanco, en forma de agregados de adipocitos y el músculo cutáneo, conformado por tejido muscular estriado esquelético.

PIEL, TRICRÓMICA DE MASSON.

Este corte, debido a la tinción tricrómica, permite una mejor identificación para las estructuras ya descritas en el laminilla anterior.

PIEL, FONTANA-MASSON.

Esta coloración es específica para la melanina, y se observa un puntilleo color negro en los sitios donde se halla este pigmento a nivel de la epidermis. Además, los pelos que se hallan dentro de la zona correspondientes a los folículos pilosos estarán también teñidos de negro (cabe hacer la aclaración que la tonalidad que adopta la melanina puede ser desde café oscuro hasta negro).

5.6 TEJIDO CONECTIVO

El tejido conectivo está formado por células del mismo origen, pero presentan diferente forma y función. Dichas células se encuentran ampliamente separadas entre sí por la sustancia intercelular, que a su vez está integrada por fibras y sustancia amorfa. Las principales funciones del tejido conectivo son las de defensa y nutrición. Participan en la defensa por medio de fagocitosis y producción de anticuerpos, y en la nutrición para los diferentes tejidos con los cuales se relaciona, por medio de las redes vasculares y capilares que contienen. Además, éste tejido brinda soporte y protección mecánica a muchos órganos, y en algunos casos les da elasticidad en algunas estructuras y/o las unen. ^(Burns y col, 1978; Cormack, 1988; Weiss y col, 1982; Young y col, 2000)

Existen diferentes variedades y tipos de tejido conectivo. Una variedad del tejido conectivo es el tejido adiposo que está conformado por adipocitos que poseen lípidos integrados como sustancia intracelular. ^(Burns y col, 1978; Cormack, 1988; Weiss y col, 1982)

Dentro de la clasificación del tejido conectivo también se encuentran el cartílago y el hueso, pero debido a sus estructuras arquitectónicas se consideran como tejido conectivo especial, que se describirá aparte. Así mismo, el tejido hematopoyético que también presenta funciones especiales es considerado tejido conectivo especial. ^(Burns y col, 1978; Cormack, 1988; Weiss y col, 1982; Young y col, 2000)

5.6.1 MATERIAL EXTRACELULAR

La matriz o materia en donde se encuentran dispersos los diferentes tipos celulares, es conocida como **sustancia amorfa**. Ésta se encuentra en estado gelificado, de apariencia homogénea, con una alta cantidad de proteoglicanos y mucopolisacáridos dispersos formando el coloide. Presenta el mismo índice de refracción del agua, por lo que no es visible en preparaciones frescas y se pierde también en los preparados histológicos de rutina. ^(Burns y col, 1978; Murray, 1997; Kiernan, 1990)

En la materia amorfa están incluidos diferentes componentes del tejido conectivo, además de redes capilares, venas y conductos linfáticos, se encuentran las **fibras de colágena**, que son las más importantes y más abundantes en este tipo de tejido y que se encuentran principalmente en la forma de colágena tipo I. Las fibras colágena se tiñen bien con H-E, pero se logran una mejor diferenciación de los demás tejidos con las tinciones tricrómicas. También se encuentran las **fibras elásticas** constituidas por elastina y las **fibras reticulares**, que se entrecruzan y se unen entre ellas. Están constituidas por fibras de colágena tipo III y además se encuentran asociadas con las membranas basales, dándoles soporte y muchas veces corren junto con las fibras de colágena tipo I. Las fibras reticulares sólo pueden detectarse con tinciones argénticas. ^(Burns y col, 1978; Murray, 1997; Kiernan, 1990)

Estos son los componentes extracelulares, que como nos podemos dar cuenta son componentes no vivos, pero que sin embargo son los que dan soporte a los órganos y demás tejidos con los cuales se asocian. (Burns y col, 1978; Murray, 1997; Kiernan, 1990)

5.6.2 CÉLULAS DEL TEJIDO CONECTIVO

El tejido conectivo está constituido por varios tipos de células. Las más importantes y las que representan en sí a este tejido son los **fibroblastocitos**, que son los que producen y mantienen todo el material extracelular. Los fibroblastocitos pueden emigrar al lugar donde se les necesite, como por ejemplo la formación de cicatriz. Estas células son de forma irregular y presentan ramificaciones. Su núcleo es ovoide y de cara abierta. Es importante distinguir que estas células tienen el núcleo más grande que el de otras células del tejido conectivo. (Burns y col, 1978; Kiernan, 1990; Stanley y col, 2004; Torres y col, 1995)

Los **macrófagos** se derivan de los monocitos (los cuales forman parte de la circulación sanguínea) que a su vez tienen su origen en la médula ósea. Cuando los monocitos salen de la circulación sanguínea, emigran a los tejidos y al formar parte de éstos, se transforman en macrófagos, donde tienen la capacidad de fagocitar cuerpos extraños y destruirlos. También se les conoce como **histiocitos** y son abundantes en el tejido conectivo. La forma de esta célula es irregular, puede presentar movimientos ameboides. Su citoplasma es abundante, su núcleo es ovalado, pero más pequeño que el de los fibroblastos. (Burns y col, 1978; Kiernan, 1990; Stanley y col, 2004)

Las **células plasmáticas** no son muy comunes, pero son abundantes en algunas partes como las vías respiratorias, tracto intestinal y tejido linfático. Estas células son parte de una diferenciación especial de la línea B-linfocítica. La función principal de estas células es la producción de anticuerpos. En éstas células, el citoplasma es más abundante que en los linfocitos pequeños. Una pequeña parte del citoplasma, cerca del núcleo, no se tiñe, dando así la apariencia de vacío. Dicha zona corresponde al aparato de Golgi. El núcleo de las células plasmáticas es esférico, de posición excéntrica y de cara abierta. Según algunos autores, las células plasmáticas semejan a "la rueda de una carreta". (Burns y col, 1978; Kiernan, 1990; Stanley y col, 2004; Torres y col, 1995)

Las **células cebadas** son escasas, se presentan sobre todo durante los procesos inflamatorios. Son responsables de la secreción de histamina, sustancia clave para el proceso inflamatorio. Son de tamaño mediano y presentan un pequeño y pálido núcleo esférico en posición excéntrica, sin embargo su citoplasma está saturado con gránulos secretores que no se observan con las técnicas de coloración comunes. Estos gránulos son metacromáticos con azul de toluidina, los cuales se observan de color rojo carmín. (Burns y col, 1978; Kiernan, 1990; Stanley y col, 2004; Torres y col, 1995)

5.6.3 TIPOS DE TEJIDO CONECTIVO

El tejido conectivo se clasifica de acuerdo al arreglo que presentan las fibras, sobre todo de colágena y de los componentes celulares. (Burns y col, 1978; Kiernan, 1990)

El tejido conectivo, propiamente dicho, se clasifica como: **tejido conectivo colágeno laxo, tejido conectivo colágeno compacto irregular, tejido conectivo colágeno compacto regular y tejido adiposo.** (Burns y col, 1978; Cormack, 1988)

Por otro lado, el **tejido conectivo especial** tiene una conformación, estructura y función muy particular, por lo que se tratará aparte. (Burns y col, 1978; Cormack, 1988)

El **tejido conectivo colágeno laxo** está constituido por fibras colágenas que se encuentran separadas entre sí con un arreglo irregular, creando un aspecto y consistencia de poca densidad, formando bucles y ramificaciones en una forma aparentemente desorganizada. Las fibras elásticas acompañan la ruta que siguen las fibras de colágena y de igual forma lo hacen las fibras reticulares, que además contribuyen formando parte de la membrana basal de los capilares sanguíneos. Todos estos componentes descansan en la sustancia amorfa junto con los diferentes tipos celulares que lo integran. Este tejido es el más abundante y está distribuido en casi todo el cuerpo. Cuando se practica una disección, los órganos o tejidos extraídos se deben disecar bien, removiendo bien éste tejido conectivo para dejar libre al órgano o fragmento de tejido en cuestión. Esto es debido a que el tejido conectivo colágeno laxo forma parte del estroma de los órganos y sobre éste se distribuyen venas, arterias y fibras nerviosas. Todos los intercambios entre los vasos sanguíneos y el parénquima se llevan a cabo en el tejido conectivo laxo. El tejido conectivo colágeno laxo se encuentra acompañado muchas veces de tejido adiposo. (Burns y col, 1978; Cormack, 1988)

El **tejido conectivo colágeno compacto irregular** tiene un arreglo muy similar al tejido conectivo colágeno laxo, sólo que las fibras de colágena están densamente empaquetadas. Por esta razón, este tejido tiene menos espacios abiertos, es más firme y consistente. Este tejido se encuentra en una parte de la dermis, encapsulando a la mayoría de los órganos, en las fascias y en la dura madre. (Burns y col, 1978; Cormack, 1988)

El **tejido conectivo colágeno compacto regular** está formado por varias filas de fibras colágenas paralelas, por lo que hace que este tejido tenga una alta consistencia fibrosa y firme, con gran resistencia. El único elemento celular es el fibroblasto, el cual yace en filas interrumpidas entre las fibras de colágena. Este tejido se encuentra en los tendones, conectando músculos con hueso. También forma parte de los ligamentos, los cuales se encuentran formando fibras gruesas unidas por tejido conectivo laxo. Este tejido está pobremente vascularizado. (Burns y col, 1978; Cormack, 1988)

5.6.4 TEJIDO ADIPOSO

El tejido adiposo es un tipo de tejido conectivo cuya principal función es la de almacenar energía. El citoplasma de las células adiposas, o adipocitos, contienen grandes depósitos de triglicéridos en la forma de una gota grande en la grasa blanca, o varias gotas pequeñas en la grasa parda sin una membrana que las limite. El grupo de adipocitos se distribuye por casi todo el cuerpo y constituye un importante órgano metabólico el cual puede variar en tamaño y distribución, dependiendo de diversos factores como la edad, sexo y estado nutricional. Los grupos de adipocitos están divididos en lóbulos por septos de tejido conectivo de densidad variable. Cada adipocito está rodeado por una malla de fibras reticulares. Existen dos tipos básicos de tejido adiposo: tejido adiposo pardo o café y tejido adiposo blanco. (Burns y col, 1978; Cormack, 1988)

El **tejido adiposo pardo o café** presenta varias gotas pequeñas de lípidos que pueden alcanzar tamaños de hasta 25 μm de diámetro, y que se alojan en el citoplasma de cada célula. Cada célula puede alcanzar una dimensión promedio de 60 μm , presentan núcleo central y esférico. Este tejido está altamente vascularizado. En adultos es escaso o desaparece, pero en el feto es muy abundante. Su principal función es proveer calor debido a su alta actividad metabólica. Los adipocitos de este tejido se derivan de precursores mesenquimatosos exclusivamente durante la etapa fetal. (Burns y col, 1978; Cormack, 1988; Wolf y col, 1996)

El **tejido adiposo blanco** es muy abundante. Presenta sólo una gran gota de lípido en cada célula, misma que desplaza al núcleo y citoplasma hacia la periferia de la célula. Estas células, en general, son mucho más grandes que las del tejido adiposo café, presentan tamaños que oscilan entre 25 a 200 μm . En el corte histológico se observan como anillos, ya que en la mayoría de las preparaciones histológicas en donde se utilizan solventes para lípidos, como acetona, cloroformo, éter, tolueno, benceno y xilol, los lípidos intracelulares se disuelven, pero cuando se tiñen con las preparaciones específicas para lípidos, como la tinción con Sudán, podremos observar cada adipocito con su contenido lipídico. Los lípidos intracelulares adquieren color amarillo, debido a la captación de carotenoides. Este tejido se distribuye ampliamente, ya sea como grasa subcutánea y/o como grasa intraabdominal (sobre todo asociada al mesenterio), el cuál contiene gran vascularización y vías linfáticas. También se le encuentra en la palma de la mano, en la planta de los pies, etc. Se tiene que recordar que este tejido está íntimamente relacionado con el tejido conectivo laxo. Su función principal es servir como almacén de energía y termorregulador. Al parecer su precursor son células del mesénquima las cuales semejan a los fibroblastos. En cada célula, al principio aparecen múltiples gotas de lípidos en su citoplasma y posteriormente se van acumulando, fusionándose hasta formar una sola gota dentro de los lipoblastos. (Burns y col, 1978; Cormack, 1988; Wolf y col, 1996)

PRÁCTICA 8 INTERPRETACIÓN DE SECCIONES DEL TEJIDO CONECTIVO

OBJETIVO

Identificar los siguientes tejidos conectivos: colágeno laxo, colágeno compacto irregular y tejido adiposo blanco.

LAMINILLAS:

ESTÓMAGO, H-E.

Con el objetivo 10x localiza la tela submucosa (segunda túnica de adentro hacia afuera), la cual se observa entre los pliegues con las glándulas y el tejido muscular no estriado. Esta tela submucosa es acidofilia y tiene la apariencia de una red. Está integrada por **tejido conectivo colágeno laxo**. Con el objetivo 40x se observan abundantes fibras colágenas (gruesas y de color rosa) y espacios vacíos. Las células que se observan son, en cantidad moderada, y predominantemente son fibrocitos/fibroblastocitos con núcleos intensamente basófilos. Algunos macrófagos y linfocitos pueden visualizarse, aunque son muy escasos.

INTESTINO GRUESO, TRICRÓMICA DE MASSON.

Localiza con 10x la tela submucosa, que se ve de color azul, constituida por **tejido conectivo colágeno laxo**. Con 40x se observan las fibras de colágeno, teñidas en color azul, los núcleos de los fibrocitos aparecen de color violeta o negro.

PIEL, H-E.

Con el objetivo 10x localiza la parte de la dermis que está conformada por **tejido conectivo colágeno compacto irregular**. El arreglo estructural es similar al del tejido conectivo laxo, pero notarás que se encuentran fibras densamente agrupadas. Los espacios vacíos son menos abundantes en comparación con el tejido conectivo laxo. Enfoca con 40x y podrás observar un denso conjunto de fibras, principalmente de colágena, de color rosa, dispuestas en diferentes direcciones. Esto le da al tejido un aspecto más denso. Entre las fibras se observan los algunos fibrocitos con núcleos basófilos de color morado.

TEJIDO ADIPOSOS, H-E.

Con el objetivo de 10x se observa el tejido adiposo blanco, este tiene una apariencia de un conjunto de burbujas y al observarlas con 40x se aprecia que son los adipocitos, los cuales tienen forma esférica. Presentan un núcleo ovoide, pequeño, de color morado y totalmente desplazado a la posición periférica. Entre los adipocitos pueden observarse núcleos que corresponden a fibrocitos/fibroblastocitos, los cuales a su vez son integrantes del tejido conectivo reticular que sostiene a los adipocitos. Es importante mencionar que no es posible observar íntegramente el tejido reticular, dado que se requiere una impregnación argéntica para que pueda ser visible.

5.6.5 TEJIDO CONECTIVO ESPECIAL

El tejido conectivo especial tal vez no tiene en su totalidad la función principal de conectar, tal como lo indica su nombre. Sin embargo está constituido, al igual que el tejido conectivo común, de una matriz o sustancia extracelular y de los elementos celulares que se encuentran dispersos en ella. (Burns y col, 1978; Cormack, 1988)

El tejido conectivo especial comprende al tejido de sostén: **cartílago y hueso**, y al **tejido hematopoyético**. (Burns y col, 1978; Cormack, 1988)

5.6.5.1 CARTÍLAGO Y HUESO

El cartílago y el hueso son dos tipos de tejido asociados y con características similares. En el hueso la calcificación le confiere alta consistencia y densidad, y por lo tanto gran resistencia. Por otro lado, el cartílago, que no se mineraliza, se mantiene como tejido firme o incluso duro pero con flexibilidad. Tanto en el hueso como en el cartílago las células no predominan como ocurre en los demás tipos de tejido conectivo, de hecho el componente abundante es la matriz extracelular, las células tienen a su cargo la producción y mantenimiento de la matriz. (Burns y col, 1978; Cormack)

El **cartílago** está constituido por una sustancia amorfa gelatinosa, pero firme conocida como matriz cartilaginosa, que es ópticamente homogénea y translúcida. En esta matriz existen fibras de colágena que se encuentran embebidas entre las mucoproteínas polimerizadas en las cuales se forma una condromucoproteína. Los condrocitos, que son las células del cartílago, son esféricos y se caracterizan por su núcleo, que también es esférico y grande, además de contar con nucleolos prominentes. Los espacios ocupados por los condrocitos se denominan *lacunas* o lagunas. Algunas lagunas pueden estar ocupadas por más de un condrocito a lo que se le conoce como nido celular o grupo isógeno. Las lagunas se encuentran separadas entre sí por espacios de matriz cartilaginosa. El cartílago se encuentra rodeado por un tejido envolvente conocido como *pericondrio* (excepto en las superficies articulares), compuesto por una capa fibrosa de colágeno hacia la cara exterior, mientras que en el sitio donde hace contacto con el cartílago se encuentra una capa con células indiferenciadas (madres o progenitoras) que dan origen y ayudan a reparar al cartílago. Por ésta razón se le conoce como capa condrogénica. (Burns y col, 1978; Cormack, 1988)

No existe vascularización ni fibras nerviosas dentro del cartílago, los nutrientes entran por capilaridad al pericondrio y después difunden a través de la matriz hasta alcanzar a las células gracias a la permeabilidad de la matriz. Los productos del metabolismo regresan a la corriente sanguínea por la misma ruta. (Burns y col, 1978)

Se sabe que el cartílago se origina de las células del mesénquima, que desde su etapa embrionaria, comienzan a diferenciarse formando grupos semejantes y empiezan a depositar pequeñas cantidades de matriz entre ellas, creando así la separación entre cuerpos celulares, pero manteniendo la matriz como medio de dispersión. Este es el estado de pre-cartilaginización en la etapa embrionaria, y las células que forman al cartílago son entonces los *condroblastocitos*. (Burns y col, 1978)

El crecimiento de cartílago se da de dos maneras: una es por desarrollo intersticial, en donde se van depositando grandes cantidades de matriz incrementando así la masa interna del cartílago, se van dividiendo y formando nuevas células, cada una con sus lagunas, las cuales se encuentran muy próximas entre sí. Por otro lado, en el desarrollo aposicional, se forma cartílago nuevo sobre la misma superficie cartilaginosa ya existente. El desarrollo de cartílago se da por las células que se derivan de los condroblastocitos de la capa pericondrial. Esto sucede sobre todo cuando el cartílago ya es maduro. (Burns y col, 1978; Wolf y col, 1996)

El **tejido óseo** o **hueso** es duro, rígido y resistente. La matriz del hueso contiene fibras de colágena que le dan resistencia y se encuentran embebidas en la sustancia amorfa (tejido osteoide). Esta sustancia amorfa está impregnada de componentes inorgánicos, los cuales imparten la rigidez y dureza al hueso. Predominan el Fosfato de calcio y el Carbonato de calcio, pero el hueso también contiene pequeñas cantidades de fluoruros, sulfatos, hierro, sodio, magnesio e hidróxidos. Estos minerales presentan un arreglo en forma de cristales de hidroxiapatita. Al igual que el cartílago, las células que componen al hueso provienen de células mesenquimatosas. (Burns y col, 1978; Cormack, 1988; Kiernan, 1990; Wolf y col, 1996)

Los *osteoblastocitos* son células que sintetizan y secretan tejido osteoide, integrado por la matriz del hueso y fibras de colágena. Los osteoblastocitos tienen abundante retículo endoplásmico rugoso y su aparato de Golgi está bien desarrollado, esto les permite sintetizar y secretar mayor cantidad de tejido osteoide. Cuando gran cantidad de esta sustancia ha sido secretada y rodea completamente a las células, éstas quedan alojadas en un espacio denominado "laguna ósea" y ahora reciben el nombre de *osteocitos*, que para este momento han perdido su actividad sintética. (Burns y col, 1978)

Los osteocitos son células ramificadas, sus proyecciones citoplásmicas, largas y delgadas ocupan los espacios denominados *canalículos*. Estos canalículos, que se encuentran entre cada laguna, permiten la comunicación entre los osteocitos. La difusión de nutrientes se lleva a cabo también a través de los canalículos, que se encuentran a una distancia de no más de 2 mm del aporte sanguíneo o de cualquier otro recurso de nutrición, para lo cual se cuenta con la presencia de abundantes capilares sanguíneos que se localizan en los *canales de Havers*, los cuales cursan a través del hueso compacto y se conectan entre sí formando anastomosis, a lo que se le llama *canal de Volkmann*. Gracias a estos sistemas de comunicación se resuelve el problema del aporte de nutrientes y

salida de metabolitos, ya que la matriz ósea resulta ser altamente impermeable. Se sabe que una de las principales funciones del osteocito es la regulación de los iones calcio (Ca^{+2}) en el hueso cuando se requiere como reserva y dar resistencia al mismo, pero cuando los niveles sanguíneos requieren del aporte de éste mineral, los osteocitos remueven el Ca^{+2} del hueso hasta niveles fisiológicos requeridos, evitando así una descalcificación ósea. (Burns y col, 1978; Wolf y col, 1996)

Los *osteoclastos* son células multinucleadas gigantes que se encuentran en las zonas de alta densidad en matriz ósea, zonas denominadas lagunas de Howship. Los osteoclastos participan en estas zonas resorbiendo parte de la matriz ósea. Esto se logra ya que estas células secretan hidrolasas ácidas lisosomales que hacen que el mineral de la matriz se libere y posteriormente se destruyen las fibras de colágena. (Burns y col, 1978)

El *periostio* es una capa de tejido conectivo colágeno compacto irregular, que rodea la superficie de los huesos, excepto por las zonas articulares, y debido a que contienen fibras ancladas dentro del hueso, está firmemente adherido a él. De ésta manera, los tendones y ligamentos se fijan al hueso por el periostio. (Burns y col, 1978; Cormack, 1988; Wolf y col, 1996)

El *endostio* es una fina capa de tejido conectivo colágeno compacto irregular que está en contacto con la superficie interna de las cavidades que ocupa la parte central de la diáfisis medular y del hueso esponjoso que ocupa las epífisis. (Burns y col, 1978; Cormack, 1988; Wolf y col, 1996)

Se sabe que la reparación ósea (después de una lesión que cause fisura o fractura en hueso), se realiza casi en su totalidad con los mejores resultados. Esto gracias a que el periostio tiene la potencialidad de producir un multilímite celular bien diferenciado para poder reparar la lesión de la forma más adecuada. No obstante, que las condiciones de diferenciación celular sean aún poco claras, actualmente se investiga con evaluaciones a nivel celular y molecular a las células progenitoras condrogénicas. Para esto se están utilizando métodos histológicos, inmunohistológicos, análisis de expresión génica cuantitativa, así como el empleo de marcadores múltiples de diferenciación de cartílago, para poder establecer las características esenciales de la neocondrogénesis. (Jung y col, 2005)

PRÁCTICA 9 INTERPRETACIÓN DE SECCIONES DE TEJIDO CARTILAGINOSO

OBJETIVOS

Identificar en diferentes órganos los tipos de cartílago que existen, así como sus componentes histológicos respectivos.

LAMINILLAS:

TEJIDO CARTILAGINOSO

TRÁQUEA, H-E.

Si observas la pared de este órgano con el objetivo 10x, notarás que se delimitan tres zonas; la central corresponde al **cartílago hialino**, que es acidófilo. Se observan abundantes "orificios", algunos con cierto grado de basofilia, y con células en su interior. Al enfocarlos con 40x, cada uno de los orificios corresponde a una laguna cartilaginosa enclavada en la matriz cartilaginosa. Las células que se encuentran en las lagunas centrales son los condrocitos, en tanto que las que se encuentran en las lagunas de la periferia, y que resultan más pequeñas, son los condroblastocitos. Los condrocitos poseen núcleos de cara cerrada, mientras que los condroblastocitos tienen núcleos de cara abierta. La matriz está compuesta por fibras colágenas y sustancia fundamental, que no son discernibles dado su índice de refracción similar. En los bordes del cartílago se observa el pericondrio, que es una membrana de color rosa intenso, formada por el estrato fibroso, que se encuentra en la parte externa, mientras que en la parte interna se encuentra el estrato condrogénico.

TRAQUEA, TRICRÓMICA DE GALLEGO.

A simple vista éste órgano presenta zonas de color púrpura, que corresponden al **cartílago hialino**. Localiza en el microscopio una de estas zonas y distingue los mismos componentes mencionados en la laminilla anterior.

TRAQUEA, P.A.S. -AZUL DE ALCIANO.

Precede de la misma forma que el anterior, pero ahora se distinguen zonas de color azul que corresponden al **cartílago hialino**. Localiza en el microscopio una de estas zonas y distingue los mismos componentes mencionados en la primer laminilla.

EPIGLOTIS, H-E.

A simple vista éste órgano presenta, hacia su superficie convexa, placas ovoides de color morado. Al verlas en el microscopio con 10x se nota que corresponden a **cartílago elástico**. Los componentes de este cartílago son los mismos que en el hialino, pero la proporción y el tamaño de las lagunas son mayores. Enfoca con 40x. Podrás ver detalle de fibras elásticas como una trama de fibras acidófilas sobre un fondo basófilo, que corresponde a la matriz cartilaginosa.

OREJA, H-E.

En este caso, el **cartílago elástico** se halla en el centro del corte dispuesto entre dos capas de piel y se distinguen sus componentes de manera similar a la laminilla anterior de epiglotis.

INSERCIÓN TENDINOSA, H-E.

A simple vista se localiza una zona basófila. Al enfocarla con 10x, dicha zona está formada por cartílago fibroso (fibrocartílago), cuyos componentes son los mismos que para las otras dos variedades de cartílago, salvo el pericondrio, que está ausente. Enfoca con 40x y te darás cuenta de que en este tipo de cartílago el principal componente son las fibras de colágena, que se disponen en forma oblicua unas con otras, y algunas zonas con disposición paralela de las fibras, las cuales son de color intensamente rosa-naranja. Es posible distinguir que las lagunas cartilaginosas son escasas y pequeñas, muy delgadas y basófilas. Entonces, los condrocitos que se alojan dentro de las lagunas son muy pequeños y separados por gran distancia entre ellos, algunas lagunas contienen grupos isógonos en disposición axial.

5.6.5.2 TEJIDO HEMATOPOYÉTICO Y SANGRE

El tejido hematopoyético da origen a los elementos figurados sanguíneos. Este tejido se divide en **tejido hematopoyético linfoide** y **tejido hematopoyético mieloide**.^(Burns y col, 1978)

La sangre cumple la función principal de transporte, se distribuye por todo el cuerpo llevando consigo oxígeno, nutrientes, agua, electrolitos, hormonas, enzimas, anticuerpos, fármacos y además transporta a los elementos celulares que la componen. El transporte de sustancias y cuerpos celulares permite mantener la homeostasis del volumen líquido corporal, pH, temperatura corporal y evita la proliferación de elementos extraños en el cuerpo.^(Burns y col, 1978; Wolf y col, 1996)

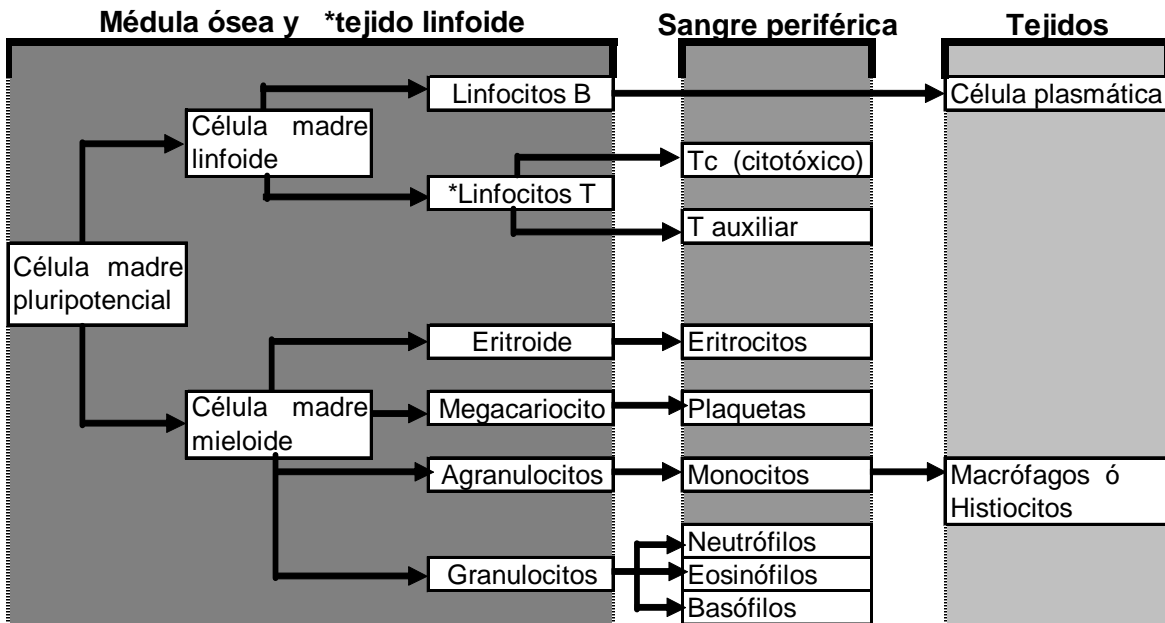
Entre las principales sustancias que constituyen a la sangre están: el plasma, el cual contiene múltiples componentes disueltos como iones (H^+ , Na^+ , Ca^{++} , Cl^-), gases dispersos (O_2 , CO_2) y sólidos también dispersos como proteínas (albúminas, globulinas), pero teniendo como principal constituyente el agua, que a su vez, es el medio en el cual se encuentran dispersas y diluidas las sustancias mencionadas. También la sangre contiene dispersos y en continuo movimiento a los elementos figurados, esto es, a las células sanguíneas, mismas que son las que se encargan del transporte, secreción y captación de algunas de las sustancias mencionadas.^(Murray, 1997; Wolf y col, 1996)

Todas las células sanguíneas provienen de la médula ósea roja, la cual adquiere este color por la producción de eritrocitos en mayor proporción. Las células provenientes de la médula ósea se les conoce como células mieloides, no obstante que algunos linfocitos maduran en tejido linfático como el timo, realmente la célula madre radica en la médula ósea roja. Como es de suponerse, todas las células sanguíneas también se derivan del mesénquima, particularidad todos los tipos de tejido conectivo, incluyendo el tejido conectivo especial, convirtiendo entonces al mesénquima como la parte ontogénica del tejido conectivo especial.^(Burns y col, 1978; Cormack, 1988; Wolf y col, 1996)

El tejido mieloide o médula ósea cumple con la función de producir células sanguíneas, proceso denominado *hematopoyesis*. La hematopoyesis se divide en dos tipos de producción celular: la *eritropoyesis* y la *leucopoyesis*. La eritropoyesis es la producción de eritrocitos, mientras que la leucopoyesis es la producción de leucocitos. A saber, se producen tres tipos de componentes figurados que se encuentran en la sangre: eritrocitos, leucocitos y trombocitos o plaquetas. Estos tipos celulares difieren entre ellos tanto morfológica como funcionalmente.^(Bloom, 1988; Burns y col, 1978; Cormack, 1988; Wolf y col, 1996; Young y col, 2000)

La figura 7-1 esquematiza como una célula madre, que se encuentra en la médula ósea roja, da lugar a una célula madre linfoide, por otro lado se forma también una célula madre mieloide. Ambas formarán a leucocitos y la parte mieloide, además formará también eritrocitos.

Fig.7-1. Hematopoyesis y sitios en donde se llegan a desarrollar algunas células



Tomado de Stanley y col, 2004. Modificado y simplificado en este trabajo.

Como se observa en la figura 7-1, ya sea en médula ósea o en tejido linfóide, las células presentes se encuentran en estado inmaduro y generalmente llevan la función de reproducirse, mientras que las células maduras emigran a sangre periférica, donde desarrollan totalmente su función, sin embargo, algunas de éstas, en particular los linfocitos B y los monocitos, pueden emigrar a los tejidos para cumplir una función especial. (Bloom, 1988; Linman, 1975; Stanley y col, 2004; Young y col, 2000)

A continuación se describirán brevemente a las células de la sangre periférica:

Eritrocitos: Células anucleadas, individualmente son incoloros, pero cuando están en conjunto se aprecian de color rojo, tienen forma de disco bicóncavo en estado normal. Presentan alta elasticidad. Su principal función es el transporte de oxígeno (O₂) hacia los tejidos y transporte de dióxido de carbono (CO₂) para ser eliminado. El tamaño promedio de los eritrocitos es de 7µm. (Bloom, 1988; Linman, 1975; Marcuse, 1966)

Granulocitos: Comprende a aquellas células que poseen gránulos dentro de su citoplasma. Entre las características nucleares, algunos granulocitos pueden presentar núcleo en banda, que le da un aspecto como "U" o herradura, o pueden presentar un núcleo segmentado de dos a tres lóbulos interconectados por un filamento. Existen tres tipos de granulocitos, de acuerdo a la afinidad de coloración de sus gránulos: neutrófilos, eosinófilos y basófilos. El rango en el tamaño para los granulocitos en banda va de 10 a 15µm, y de 10 a 13µm para los segmentados. (Bloom, 1988; Linman, 1975; Marcuse, 1966; Stanley y col, 2004)

Neutrófilos: Presentan gránulos que no se tiñen y le confieren al citoplasma un aspecto homogéneo color salmón. Representan la primera línea de defensa celular, presentan alta motilidad y su principal función es fagocitar, emigran a los tejidos por diapédesis después de la marginación en los vasos capilares, respondiendo a un estímulo quimioatrayente. Sus gránulos contienen peroxidasas que lisan a los agentes extraños que engullen. (Bloom, 1988; Linman, 1975; Stanley y col, 2004)

Eosinófilos: Sus gránulos son eosinófilos, por lo que adquieren coloración rojiza a naranja. Son de movimientos lentos y su capacidad fagocítica es más reducida. Sus gránulos contienen profibrinolisisina y plasminógeno, que ayudan a destruir excesos de depósitos de fibrina. Responden a la histamina como agente quimiotáctico y por lo tanto neutralizan la reacción de inflamación reduciendo la hipersensibilidad y el daño hístico. Una elevada concentración de corticosteroides disminuye la cantidad de eosinófilos en el sitio de acción. (Bloom, 1988; Linman, 1975; Stanley y col, 2004)

Basófilos: También de movimientos lentos y con baja capacidad fagocítica. Sus gránulos son basófilos, por lo que adquieren una coloración azul-violáceo, contienen una alta cantidad de histamina, por lo que se les relaciona con las células cebadas, aunque realmente difieren en morfología y origen. Participan en las reacciones alérgicas. (Bloom, 1988; Linman, 1975; Stanley y col, 2004)

Monocitos: Los monocitos son células muy grandes con abundante citoplasma opaco y de color azul-grisáceo con pequeños gránulos rojizos en la periferia. El núcleo es grande y arriñonado. Están relacionados con la inmunidad celular, presentan alta motilidad y actividad fagocítica, acudiendo inmediatamente hacia bacterias, levaduras, células muertas, etc. Su tamaño promedio es de $20\mu\text{m}$ y resultan ser los cuerpos celulares más grandes en sangre periférica. Cuando acceden a los tejidos, el monocito se convierte en *histiocito*, con la misma capacidad fagocítica y motilidad. (Bloom, 1988; Linman, 1975; Marcuse, 1966; Stanley y col, 2004)

Trombocitos (plaquetas): Son estructuras anucleadas y redondas que se encuentran en el citoplasma del *Megacariocito*. El megacariocito es una célula que se encuentra en médula ósea y es la célula sanguínea más grande (entre 40 y $80\mu\text{m}$), al salir a sangre periférica, forma pseudópodos de membrana que se van separando y se fragmentan llevándose consigo a dichas estructuras como cuerpos individuales que son las plaquetas. Las plaquetas participan ampliamente en la coagulación sanguínea. Son, entre los componentes figurados de la sangre, los cuerpos más pequeños,

presentan un tamaño aproximado de 2 a 4 μm . (Bloom, 1988; Linman, 1975; Marcuse, 1966; Stanley y col, 2004)

Linfocitos: Los linfocitos son células pequeñas, con citoplasma escaso y algunas veces parece que no lo tienen, presentan un núcleo redondo muy denso en posición excéntrica. Son la 2ª línea de defensa y confieren inmunidad humoral y celular. Se dividen en dos grupos principales: Linfocitos B (inmunidad humoral) y Linfocitos T (inmunidad celular). Existen los linfocitos pequeños, que miden de 5 a 8 μm , sin embargo el tamaño promedio es de 8 a 15 μm . (Bloom, 1988; Linman, 1975; Marcuse, 1966; Stanley y col, 2004)

Linfocitos B: Llamados así por que en las aves se derivan de la Bolsa de Fabricio, pero en los mamíferos se desarrollan de la médula ósea. Dan origen a las *células plasmáticas*. Confieren inmunidad humoral por secreción de anticuerpos o inmunoglobulinas. (Bloom, 1988; Linman, 1975; Stanley y col, 2004)

Linfocitos T: Estos linfocitos tienen sus precursores en la médula ósea, pero emigran al timo, bazo y nódulos linfáticos, en donde se diferencian en linfocitos T y posteriormente abandonan dichos tejidos. Existen varios tipos de células T, algunas confieren inmunidad celular respondiendo a las reacciones de histocompatibilidad, células infectadas por virus y tumores celulares, en donde actúan las llamadas células "asesinas naturales". También tienen actividad reguladora mediada por otro tipo de células T auxiliares, ya que moderan o suprimen la inmunidad humoral y celular. (Bloom, 1988; Linman, 1975; Stanley y col, 2004)

Es importante mencionar que el tejido linfoide asociado a tejidos, y en especial a epitelio, representa un importante papel para respuestas inmunes, sobre todo en tejido linfoide asociado a mucosas. Recientemente se ha revelado que folículos linfoides asociados a epitelio, y en especial, el encontrado en porciones terminales del recto de diferentes bovinos, como representante mamífero. Se sabe que las células de dichos folículos linfoides presentan función y fenotipo diferente entre ellas, en un futuro se harán caracterizaciones de ellas, pero que sin embargo todas ellas interactúan activamente en el desarrollo de respuesta inmune contra patógenos. Los estudios inmunohistoquímicos en esta región han identificado diferentes sublíneas linfocíticas, características de una inducción inmune en el sitio. Al parecer, las células foliculares linfocíticas asociadas a epitelio presentan funciones y estructura similares a los de las células cebadas. (Mahajan y col, 2005)

PRÁCTICA 10 INTERPRETACIÓN DE SECCIONES DEL TEJIDO HEMATOPOYÉTICO LINFOIDE

OBJETIVOS

Observar, nodos linfáticos como órgano representativo del tejido hematopoyético linfoide.

LAMINILLAS:

NODO LINFÁTICO, H-E.

Enfoca con el objetivo 10x el órgano y observa el borde, notarás que se encuentra envuelto por una cápsula de tejido conectivo colágeno compacto irregular. De la cápsula se desprenden algunas trabéculas hacia el interior del órgano. De esta forma, cápsula, trabéculas y estroma fino (este último de tejido conectivo reticular, no observable), en conjunto forman parte del estroma del nodo linfático. El parénquima de este órgano se divide en: corteza, paracorteza y médula. Enfoca con 40x. La zona subyacente a la cápsula es la corteza, donde se observan zonas redondeadas ligeramente claras del tejido circundante, que son los centros germinativos de los nódulos linfoides. Hacia el centro se encuentra la médula, las zonas basófilas alargadas son los cordones medulares. Que provienen de proyecciones de los nódulos linfoides. La médula contiene espacios claros que corresponden a los senos medulares. La paracorteza no tiene límites morfológicos precisos, éste término sólo se refiere a la zona ubicada entre la corteza y la médula, rica en linfocitos T.

5.7 CITOLOGÍA SANGUÍNEA

Al igual que el estudio histológico, el estudio citológico es también muy importante. En este caso se estudiarán extendidos celulares, en donde las células se encuentran dispersas en toda la extensión de un portaobjetos. El tratamiento que se les da a los extendidos resulta más sencillo que el que se les da a los tejidos y requiere de un mínimo de tiempo, reactivos y equipo. En general, la citología comprende el estudio de células, tomadas desde los fluidos corporales al cual pertenecen, como la sangre, líquido pleural, líquido sinovial, líquido cefalorraquídeo, esputo, etc. Así mismo, también se pueden tener células por exfoliación. La muestra tomada se extiende en el portaobjetos, y al extendido también se le puede llamar frotis. (Fentanes y col, 1990)

A continuación se estudiará la citología sanguínea, complementando así al tejido hematopoyético, y en caso concreto, a la sangre.

5.7.1 TOMA DE MUESTRA PARA CÉLULAS SANGUÍNEAS

La sangre resulta ser un fluido con un contenido importante de células y que al estar dispersas en un líquido, puede obtenerse una muestra con gran facilidad y darle un tratamiento sencillo. (Allen y col, 2004; Fentanes y col, 1990; Kiernan, 1990)

La muestra puede obtenerse por simple punción de los tejidos. Lo más fácil es puncionar la piel en una zona donde no se requiera mucha profundidad y que se tenga una cantidad suficiente de tejido. Las yemas de los dedos resultan ideales para la punción, además de que sólo se requiere una pequeña cantidad de sangre como muestra. La punción puede realizarse con un alfiler limpio, pero se prefiere utilizar lancetas estériles, exclusivas para la toma de muestra por punción. Una gota de sangre es suficiente para preparar una muestra, depositándola sobre un portaobjetos que deberá estar limpio y desengrasado. La gota de sangre se extiende sobre el portaobjetos formando una película delgada sobre el área de la laminilla, que es a lo que se le llama *frotis*, y que en éste caso es un frotis sanguíneo. Esto debe de realizarse lo más pronto posible para evitar la coagulación. Por otro lado, si se requiere realizar un frotis, pero que no se pueda realizar en ese momento, se deberá tomar una cantidad considerable de sangre, por lo que la punción venosa resulta más útil. La sangre se deberá vaciar en un tubo que contenga un anticoagulante, como pueden ser el citrato de sodio o el EDTA. El citrato de sodio se usa en una cantidad de 25 mg/mL de sangre, mientras que el EDTA se utiliza en una cantidad de 0.5 mg/mL de sangre y es el anticoagulante más comúnmente usado. (Equip. color. Wright, 1994; Fentanes y col, 1990; Kiernan, 1990)

Una vez tomada la muestra, se coloca una gota de sangre en el portaobjetos, se extiende una película delgada con la gota de sangre que ocupe la mayor área posible del portaobjetos. Posteriormente se fija la muestra y se tiñe. La fijación, en este caso, se logra por deshidratación, esto es, con alcohol al 96%. (Fentanes y col, 1990; Kiernan, 1990)

PRÁCTICA 11 PREPARACIÓN DE EXTENDIDOS SANGUÍNEOS

OBJETIVO

Preparar un extendido sanguíneo, para observar los componentes celulares en el microscopio.

INFORMACIÓN BÁSICA

La sangre es un tejido de consistencia líquida. Está compuesta por corpúsculos celulares, que son los eritrocitos y leucocitos, que se encuentran suspendidos en una matriz intercelular líquida, el plasma. En la sangre, la composición aproximada de cuerpos celulares es de 45 %, mientras que existe un 55 % de plasma. El plasma contiene proteínas, grasas, carbohidratos, hormonas, etc. Una de las proteínas que componen el plasma es el fibrinógeno, que es el causante de coagular la sangre. Cuando se extrae el fibrinógeno del plasma lo que queda es el suero.

MATERIAL:

1 Caja de portaobjetos
5 Lancetas estériles
5 Frascos con tapa de volumen aproximado a 150-200 mL
1 Paquete de algodón

REACTIVOS:

- Alcohol al 96 %
- Colorante de Wright
- Solución amortiguadora de Wright

EQUIPO:

Bata de laboratorio de manga larga

INSTRUCCIONES

1. Limpie con algodón humedecido en alcohol la yema de un dedo de la mano.
2. Puncione el dedo con la lanceta estéril.
3. Coloque una gota de sangre sobre el portaobjetos limpio (limpiarlo previamente con alcohol), la gota de sangre deberá colocarse en un extremo de la laminilla como lo indica la figura 8-1-a.
4. Con el borde de otro portaobjetos colocado a 45° del de la muestra, deslizar hacia la gota de sangre y esperar a que por capilaridad corra la sangre a todo el ancho del mismo. Fig. 8-1-b.
5. Manteniendo el mismo ángulo de inclinación del portaobjetos, deslizarlo nuevamente hacia el lado contrario, procurando que éste movimiento sea rápido y firme para formar una película delgada de sangre. Fig. 8-1-c.
6. Fijar el frotis sumergiendo la laminilla en un frasco de 200 ml con alcohol al 96 % durante 10 minutos y después dejar secar al aire.
7. Cubrir la preparación con colorante de Wright dejándolo actuar durante 2 minutos aproximadamente.
8. Agregar al frotis 2 partes de solución amortiguadora para Wright, mezclar bien y dejar reposar 6 minutos.
9. Lavar en el chorro de agua sin mucha presión y dejar secar a temperatura ambiente.
10. Limpiar con un algodón impregnado en alcohol el exceso de colorante que se encuentra el dorso de la laminilla.
11. Una vez seco el frotis, observar al microscopio enfocando primero a 40X para buscar las zonas más uniformes y posteriormente enfocar a 100X sin olvidar poner aceite de inmersión.

Fig.8-1. ESQUEMA DE PREPARACIÓN DE EXTENDIDOS SANGUÍNEOS.

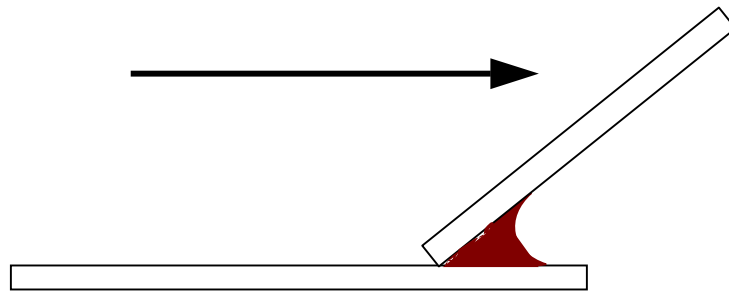
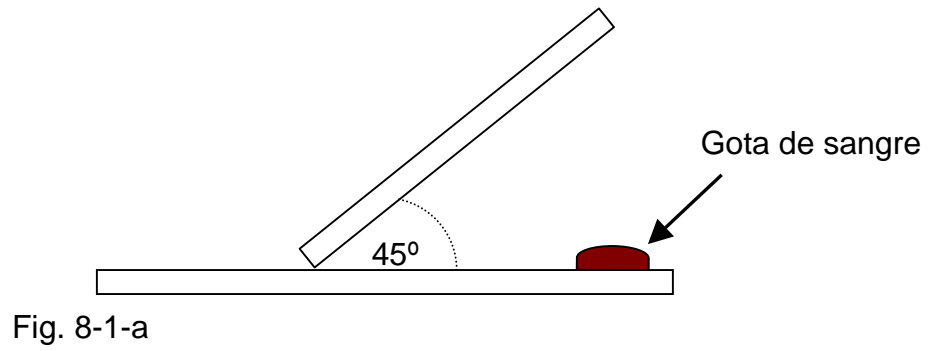


Fig. 8-1-b

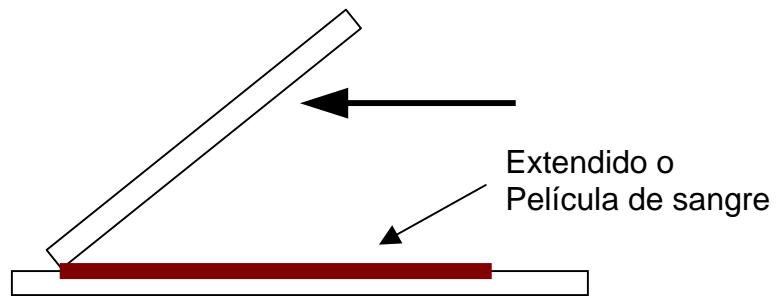


Fig. 8-1-c

5.7.2 INTERPRETACIÓN MICROSCÓPICA

El colorante de Wright está constituido por azul de metileno y eosina. La eosina tiñe principalmente a los eritrocitos. (Fentanes y col, 1990; Kiernan, 1990; Torres y col, 1995)

Al microscopio los eritrocitos son de color rosa pálido, mientras que los leucocitos presentan un núcleo de color púrpura y el citoplasma de color azul y algunos rosa pálido o color salmón. Los gránulos de los neutrófilos no se logran apreciar y el citoplasma es de color rosa pálido. Los gránulos de los eosinófilos son rojos y el citoplasma es rosa pálido, por otro lado los basófilos presentan gránulos azul oscuro. Los linfocitos presentan un citoplasma azul claro y las plaquetas se ven como gránulos sueltos de color violeta. (Fentanes y col, 1990; Kiernan, 1990; Torres y col, 1995)

Al observar el frotis en el microscopio, se deberá realizar un conteo de mínimo 100 células para así poder identificar y cuantificar los diferentes tipos de leucocitos. (Fentanes y col, 1990; Kiernan, 1990; Torres y col, 1995)

A continuación se dan valores de referencia para un adulto normal. (Marcuse, 1966).

Monocitos	2 - 14 %
Linfocitos	12 - 46 %
Eosinófilos	1 - 4%
Basófilos	0 - 2 %
Neutrófilos	40 - 70 %
Mielocitos	0 %
En banda	0 - 5 %
Segmentados	35 - 70 %

Fig. 8-2. Porcentaje celular sanguíneo en un adulto normal.

PRÁCTICA 12 INTERPRETACIÓN DE FROTIS SANGUÍNEO

OBJETIVOS

Reconocer los diferentes tipos de células sanguíneas en frotis sanguíneo de mamífero.

LAMINILLAS:

FROTIS SANGUÍNEO DE MAMÍFERO, GIEMSA.

Con el objetivo 10x se localiza la zona donde las células están más separadas. Ahora con el objetivo 40x se busca cada tipo celular específico y posteriormente enfocamos con el objetivo 100x, así podremos distinguir detalles de cada elemento forme del frotis. Aquí observaremos las formas discoidales, esféricas y ovoides de las células que constituyen al frotis sanguíneo. Los eritrocitos son las células discoidales, anucleadas, de color rojo-rosa debido a la acidofilia que presentan. El centro de éstas células es más claro, debido a la concavidad que presentan por ambos lados del disco, de aquí que se conocen como células discoidales bicóncavas. Éstas son las células más abundantes del frotis, y entre ellas pueden observarse los otros tipos celulares: los leucocitos.

Los leucocitos son células esféricas, o en algunos casos ovoides. Se distinguen por ser más grandes que los eritrocitos, además de poseer núcleo, pero en cantidad son mucho menos abundantes. Entre los leucocitos tenemos a los granulocitos, que poseen gránulos en el citoplasma de color rojo-rosa, azul, y los agranulocitos, los cuales no presentan gránulos. Las características del núcleo pueden variar de ovoide, esférico, anular, en banda, reniforme o segmentado, la posición puede ser central o excéntrica, de cara cerrada. En el caso de los granulocitos, los neutrófilos juveniles presentan núcleo en banda, mientras que los maduros lo presentan segmentado. Los neutrófilos suelen ser los leucocitos más abundantes. Los eosinófilos y basófilos presentan generalmente el núcleo bilobulado. Los eosinófilos son menos abundantes que los neutrófilos, y todavía en menor proporción los basófilos. Los agranulocitos como el linfocito, presentan núcleo esférico, mientras que los monocitos pueden presentar núcleo esférico o reniforme. Por último, los trombocitos son elementos formes extremadamente pequeños, de forma irregular anucleados con ligera granulación citoplásmica.

5.8 TEJIDO MUSCULAR

El tejido muscular está compuesto por células especializadas para la contracción, siendo ésta su función principal. Sin embargo, hay otras características que complementan a este tejido, como lo es la irritabilidad que poseen para responder a estímulos y la conductibilidad con la cual logran comunicación inmediata entre cada célula que compone el tejido. La contractibilidad del tejido muscular puede variar en magnitud según la necesidad, características y capacidad del tejido, así como la extensibilidad que tiene el tejido en función de la contracción. (Burns y col, 1978; Klatt, 1994; Wolf y col, 1996)

Las anteriores características funcionales describen a groso modo el tejido muscular y nos hacen ver el grado de complejidad que posee. El tejido muscular cumple con varias funciones que ayudan a mantener el movimiento estático y cinético del cuerpo, en función del dinamismo bioquímico que lo sostiene. Así, podemos decir que el tejido muscular cumple con una función totalmente mecánica.

El tejido muscular se clasifica en dos clases diferentes, tejido muscular estriado y tejido muscular liso. El músculo estriado, a su vez presenta dos subtipos diferentes, y en total encontramos tres tipos de tejido muscular (Burns y col, 1978; Klatt, 1994; Wolf y col, 1996).

- Tejido muscular estriado esquelético voluntario:
Es voluntario, presenta estrías. Se inserta en huesos. Recibe regulación nerviosa por fibras del sistema nervioso somático.
- Tejido muscular estriado cardiaco involuntario:
Es involuntario y presenta estrías. Forma la pared del corazón. Recibe regulación nerviosa por fibras nerviosas del sistema nervioso autónomo.
- Tejido muscular liso o visceral involuntario:
Es involuntario y no presenta estrías. Forma parte de la pared de muchos órganos, por lo que se le conoce también como tejido muscular visceral. Recibe regulación nerviosa por fibras nerviosas del sistema nervioso autónomo.

Entre las funciones que realizan los músculos en el cuerpo están (Burns y col, 1978; Klatt, 1994; Wolf y col, 1996).

- Mantener el movimiento: La locomoción (que es función principal del músculo esquelético), modificar calibres de orificios y esfínteres (como lo

hace el músculo liso en los revestimientos de capilares, conductos biliares, etc.), propulsión (en el corazón el músculo cardíaco envía sangre a todo el sistema circulatorio). Todo esto implica contracción muscular.

- Mantener la postura corporal: En ésta se presenta una contracción parcial in-interrumpida del músculo esquelético, en donde se obtiene el llamado tono muscular.
- Crear calor corporal: Los cambios químicos en los músculos liberan energía mecánica y calórica, esto crea parte del calor corporal generado.

Las células musculares, llamados también *miocitos*, son en general de forma alargada. Los organelos de los miocitos tienen nombres específicos, a saber la membrana citoplásmica recibe el nombre de *sarcolema*, al citoplasma se le denomina *sarcoplasma* y a las mitocondrias se les conoce como *sarcosomas* y son muy abundantes en los miocitos. Embebidas en el sarcoplasma se encuentran miofibrillas, las cuales se distribuyen a lo largo del *miocito*, y están constituidas por las proteínas actina y miosina, que son las responsables de dar la apariencia de bandas a los miocitos, esto debido a la disposición que presentan y a sus diferentes índices refractivos que tienen entre ellas, así en los casos del tejido muscular esquelético y cardíaco, dichas características les dan el aspecto estriado. (Burns y col, 1978; Klatt, 1994; Wolf y col, 1996)

Existen algunas otras diferencias que caracterizan a los tres tipos musculares, como lo son: el sitio donde se encuentran, el aspecto microscópico que tienen y la regulación nerviosa que actúa sobre ellos. (Burns y col, 1978; Klatt, 1994; Wolf y col, 1996)

5.8.1 TEJIDO MUSCULAR LISO

El tejido muscular liso está formado por células fusiformes, su núcleo es ovalado, de posición central y de cara abierta. Los extremos de la célula son muy estrechos y pueden tener pequeñas proyecciones digitiformes que son las que le permite mantenerse en contacto físico entre ellas o con el tejido conectivo. (Burns y col, 1978; Klatt, 1994; Torres y col, 1995; Wolf y col, 1996)

El músculo liso se compone de células con disposición paralela como se puede observar en cortes longitudinales, mientras que en corte transversal se observan variaciones de tamaño, dependiendo de la altura a la cual se realiza la sección, y como ya se mencionó, a la altura del núcleo o cerca de este, las fibras son más anchas. (Burns y col, 1978; Klatt, 1994; Wolf y col, 1996)

Las células del músculo liso tienen la capacidad de regenerarse, pueden sufrir hipertrofia e hiperplasia compensativa fisiológicamente normal, como en el caso de un embarazo, el músculo del útero suele experimentar estos procesos

compensatorios. Así mismo, el núcleo de cada fibra crece en forma proporcional a ella. (Burns y col, 1978; Klatt, 1994; Stanley y col, 2004; Wolf y col, 1996)

Algunas de las funciones críticas que realiza este tipo de tejido es la peristalsis en el tracto digestivo por movimientos ondulatorios rítmicos. También es responsable de crear las diferencias de presión arterial de los vasos sanguíneos y de mantener en cambio constante el volumen de aire que se distribuye a través de los bronquios, respectivamente, alternando los calibres del diámetro de estos ductos tubulares. (Burns y col, 1978; Klatt, 1994; Wolf y col, 1996)

Todas las contracciones del músculo liso están reguladas por el Sistema Nervioso Autónomo, por lo que son involuntarias. Las contracciones del músculo liso se desarrollan de forma lenta y relativamente débil, pero pueden persistir durante mucho tiempo sin experimentar fatiga. De esta manera mantienen el tono muscular. (Burns y col, 1978; Klatt, 1994; Wolf y col, 1996)

5.8.2 TEJIDO MUSCULAR ESTRIADO

El tejido muscular estriado posee la característica de que las fibras que lo componen presentan bandas transversales visibles en el microscopio óptico. Dichas bandas son visibles debido a los diferentes índices de refracción que presentan y que se las proteínas que componen cada fibra se disponen en forma intercalada. Cuando se observa su ultraestructura en el microscopio electrónico, podemos diferenciar las bandas que la componen, como lo son las bandas A, H, I, Z y M. (Burns y col, 1978; Cormack, 1988; Klatt, 1994; Wolf y col, 1996)

Existen dos clases de tejido muscular estriado: el *músculo esquelético* y el *músculo cardíaco*. (Burns y col, 1978; Cormack, 1988; Klatt, 1994; Wolf y col, 1996)

5.8.2.1 MÚSCULO ESQUELÉTICO

El tejido muscular esquelético, durante su etapa generativa, está constituido por células individuales derivadas del mesénquima, y que al diferenciarse, se van uniendo unas con otras creando *sincitios*, dando lugar a la formación de una sola estructura celular, una fibra elongada extremadamente larga y multinucleada, esto es, una fibra muscular. La formación de sincitios en el músculo esquelético es importante porque esto le permite coordinar de forma rápida la contracción del músculo a todo lo largo de la fibra. Así, los potenciales de acción se propagan por toda la superficie de la fibra muscular desde el punto de sinápsis con la neurona motora. El diámetro entre cada fibra muscular puede variar considerablemente, pero en general, dicho diámetro se mantiene casi constante en toda la extensión de la fibra. (Burns y col, 1978; Cormack, 1988; Klatt, 1994; Wolf y col, 1996)

Las fibras musculares, como ya se dijo, son multinucleadas, los núcleos se encuentran en la periferia de la fibra muscular, justo debajo del sarcolema. Los núcleos son ovalados, alargados en dirección a la longitud de la fibra muscular y son de cara abierta. Los núcleos se distribuyen a lo largo de toda la fibra muscular. (Burns y col, 1978; Klatt, 1994; Torres y col, 1995; Wolf y col, 1996)

En el sarcoplasma de cada fibra se encuentran los diferentes organelos que lo constituyen, y además se encuentran las miofibrillas que corren a lo largo de toda la fibra. Las miofibrillas están constituidas, a su vez, por las proteínas actina y miosina, principalmente. Ya se mencionó que el arreglo intercalado de estas proteínas es lo que da lugar al aspecto estriado de las fibras del músculo esquelético y también debido a las diferencias entre los índices de refracción que presentan las bandas formadas. El sarcoplasma se encuentra en mayor proporción alrededor del núcleo y alrededor de las conexiones neuronales llamadas placas motoras, contiene una alta cantidad de sarcosomas, los cuales brindan la posibilidad de máxima utilización energética. (Burns y col, 1978; Cormack, 1988; Klatt, 1994; Wolf y col, 1996)

El músculo esquelético se organiza, al corte transversal, en secciones circulares por la arquitectura cilíndrica de cada fibra. Cuando se presenta en organizaciones musculares, las fibras están densamente empaquetadas, de tal forma que la compresión mutua crea secciones transversales poligonales. (Burns y col, 1978)

La reunión de varias fibras musculares forman los que se le conoce como fascículo, mismo que está rodeado por tejido conectivo, que en este caso se denomina *endomicio*, y éste está en contacto directo con el sarcolema. El endomicio mantiene separadas cada fibra muscular, pero al mismo tiempo forma a cada agrupación de ellas. También contiene vasos sanguíneos y nervios. Cuando se unen varios fascículos, estos se encuentran unidos y rodeados por otra capa de tejido conectivo más grueso, el *perimicio*. La unión de los fascículos totales forman lo que es anatómicamente el músculo íntegro. Dicha unión se logra por otra capa de tejido conectivo muy gruesa, que a su vez contiene aporte sanguíneo, nervios y tejido adiposo. Esta última capa que rodea a todo el músculo se llama *epimicio*. (Burns y col, 1978; Cormack, 1988)

El músculo esquelético se asocia al hueso mediante uniones tendinosas, y éste último se une al periostio. Este músculo logra contracciones de gran magnitud y de acción inmediata, pero la fatiga también se hace presente en forma rápida, por lo que el tiempo de contracción se puede decir que es corto. (Burns y col, 1978; Cormack, 1988)

El músculo esquelético puede sufrir hipertrofia compensatoria ante un estímulo constante como lo es el ejercicio. Esto hace que el volumen muscular aumente y la potencia y capacidad de contracción puede verse también aumentadas. Es importante mencionar que no siempre el músculo más

prominente es el más sano, sino aquel que logra una rápida respuesta de contracción cuando es requerida. (Burns y col, 1978; Klatt, 1994; Stanley y col, 2004; Wolf y col, 1996)

La capacidad de regeneración de músculo esquelético es nula, por lo que una lesión fuerte (como la producida por un objeto punzocortante, un desgarramiento severo, quemaduras de tercer grado, etc.), puede dar lugar a la proliferación de tejido conectivo en el sitio dañado, sustituyendo el músculo por una cicatriz resistente, pero que no posee la capacidad de contracción, mermándose así la función del músculo afectado o incluso perderla totalmente. El ejercicio constante y una adecuada alimentación mantendrán músculos sanos. (Klatt, 1994; Stanley y col, 2004)

5.8.2.2 MÚSCULO CARDIACO

El músculo cardiaco se constituye de una red formada por células columnares alargadas ramificadas. Cada célula contiene uno o dos núcleos paracentrales ovalados y de cara abierta. (Burns y col, 1978; Torres y col, 1995)

El músculo cardiaco no está formado por sincitios, sin embargo las células se interconectan, una con otra por medio de conexiones digitiformes que sobresalen en las partes terminales de cada célula, conocidas como *discos intercalares* o *bandas brillantes de Ebner*. Las fibras del músculo cardiaco contienen abundante sarcoplasma con un alto número de sarcosomas, más que en el músculo esquelético, pero con menor densidad de miofibrillas estriadas. Este tejido se encuentra principalmente en el miocardio del corazón y en las porciones proximales de grandes conductos arteriales. En los ventrículos las fibras son más cortas y gruesas, mientras que en los atrios las fibras son más largas y delgadas. (Burns y col, 1978; Cormack, 1988; Klatt, 1994; Wolf y col, 1996)

El músculo cardiaco es autónomo y presenta contracciones rítmicas. Los nervios autónomos pueden influir en la velocidad de contracción, pero no pueden hacer iniciar o parar el corazón por ellos mismos. La contracción es constante y sin fatiga. Esto se logra gracias a que el músculo cardiaco puede aprovechar la glucosa y el ácido láctico generado. (Burns y col, 1978; Cormack, 1988; Klatt, 1994; Murray, 1997)

Se ha observado que el miocardio humano, en periodos de hibernación o de prolongado reposo corporal donde existe una escasez del aporte sanguíneo a dicho tejido, existe un incremento en un factor de crecimiento específico que ayuda a mantener bajo el latido del corazón con el consiguiente ahorro energético y de oxígeno, mismo que no se degrada al estar sometido en dichos periodos de prolongado descanso, asegurando así la adaptación de los miocitos durante dichos estados. (Kubin y col, 2005)

Al igual que el músculo esquelético, el músculo cardiaco no puede regenerarse. En caso de una lesión isquémica (aporte deficiente de oxígeno a los tejidos) en el corazón, se pueden necrosar varias fibras, que serán sustituidas por tejido conectivo fibroso, mismo que no tiene la capacidad de contracción. Esto

mermará la potencia de la contracción y por ende, disminuye la capacidad de bombear y distribuir sangre al organismo (deficiencia cardiaca). Esto puede fomentar una hipertrofia compensatoria del tejido cardiaco (por la pérdida de tejido muscular y sustitución fibrosa), sin embargo, la hipertrofia compensatoria puede funcionar bien durante cierto tiempo, posteriormente, las fibras miocárdicas hipertróficas requerirán una mayor demanda de oxígeno, convirtiendo la deficiencia cardiaca en un círculo vicioso, que generalmente termina mal. Tarde o temprano el aporte sanguíneo y la fuerza de contracción seguirán siendo deficientes. Igualmente, el ejercicio moderado y constante, una dieta bien balanceada, así como la disminución de excesos que hacen “placentera” la vida (nicotina, alcohol y otras drogas), nos mantendrán lejos de sufrir afecciones cardiacas. (Burns y col, 1978; Klatt, 1994; Stanley y col, 2004)

PRÁCTICA 13 INTERPRETACIÓN DE SECCIONES DEL TEJIDO MUSCULAR

OBJETIVOS

Observar las diferencias estructurales entre las tres variedades de tejido muscular.

LAMINILLAS:

TEJIDO MUSCULAR ESTRIADO ESQUELÉTICO

LENGUA, H-E.

Localiza a simple vista la zona central teñida de color rosa intenso. Ahora con el objetivo 10x te darás cuenta de que el tejido en cuestión se encuentra debajo de una franja epitelial de color morado y otra franja de tejido conectivo. Se trata de miocitos esqueléticos cortados en sentido longitudinal, transversal y oblicuo. Entre los miocitos puedes observar fibras de tejido conectivo, teñidas de color rosa pálido, se trata del endomicio y perimicio. Debido a que la lengua no contiene músculos del sistema locomotor, no presenta epimicio. Advierte que la lengua presenta miocitos estriados que en conjunto forman el tejido muscular estriado esquelético. Enfoca con 40x y podrás observar que las células son verdaderos sincitios, esto es, que la forma celular es columnar alargada con estrías citoplásmicas, multinucleada, con núcleos ovoides, de posición periférica y de cara abierta. Ahora enfoca con 100x y podrás ver que algunos miocitos se continúan en la parte terminal con el tejido conectivo y que se proyectan como tiras muy delgadas, largas y onduladas, de color rosa-rojo, y que infiltran el tejido conectivo adyacente.

LENGUA, TRICRÓMICA DE MASSON.

En esta laminilla sigue el mismo procedimiento de la anterior. Podrás apreciar la diferencia de coloración y advertirás mayor contraste, ya que ahora los miocitos aparecen de color rojo escarlata y el endomicio en color azul.

TEJIDO MUSCULAR ESTRIADO CARDIACO

CORAZÓN, H-E.

El tejido muscular del corazón no forma sincitios, por el contrario, está formado por células independientes. Enfoca con 10x y podrás observar que las fibras de color rojo aparecen en corte longitudinal y notarás que entre ellas existe poco tejido conectivo, el cual presenta algunos núcleos en aparente posición periférica de las células musculares, pero realmente pertenecen al tejido conectivo, que, en este caso constituye al endomicio. Este tejido, por lo tanto, es predominantemente muscular y se advierte que no presenta perimicio ni epimicio. Enfoca con 40x y entonces podrás distinguir las divisiones de cada célula, donde se conjugan y se unen las células, marcando el límite de cada una. Dicha división se le conoce como *disco intercalar*, característico del tejido muscular cardíaco. Las características celulares del tejido se distinguen por que presentan células alargadas y ramificadas, con estrías citoplásmicas, con discos intercalares. Estas células pueden presentar uno o dos núcleos, central o excéntricos, respectivamente. Son ovoides y de cara abierta.

TEJIDO MUSCULAR LISO

INTESTINO GRUESO, H-E.

Localiza a simple vista el tejido de color rosa intenso. Ahora enfoca éste con 10x y observarás algunas franjas de color rojo-rosa, que corresponden a tejido muscular liso. Enfoca ahora con 40x y podrás ver que los miocitos son células fusiformes, mononucleadas, núcleo ovoide, de posición central y de cara abierta. No observarás estrías en dichas células, tal es la razón por la cual se considera músculo liso. Las células de la capa externa están cortadas transversalmente, ya que esta capa se dispone en forma longitudinal.

5.9 TEJIDO NERVIOSO

El tejido nervioso, que es el principal componente de todo el Sistema Nervioso, tiene como función principal la comunicación y regulación de los órganos, sistemas y aparatos del cuerpo, creando impulsos en respuesta a los estímulos que ha detectado. De esta forma, el tejido nervioso está formado por células que, comparándolas con otras, presentan la mayor capacidad de irritabilidad, creando impulsos, conducción y comunicación inmediata a todo el organismo. El impulso nervioso se logra por la liberación de diferentes mediadores químicos a terminaciones celulares que cuentan con los receptores adecuados, y así transmite el estímulo a través de cada célula hasta llegar a aquella que efectuará la acción. (Burns y col, 1978; Stanley y col, 2004; Wolf y col, 1996)

En general, el tejido nervioso contempla dos tipos generales de células: **Neuronas** y **Neuroglía**, siendo las primeras células altamente especializadas y a la vez las más complejas del organismo en cuanto a estructura y función. Las neuronas forman parte del grupo de células permanentes con capacidad de regeneración nula. Una lesión puede causar la pérdida total de neuronas afectadas, y en caso de una lesión grave, provocará un daño irreparable. Si la lesión afecta a un área grande o que controle a una actividad o función crítica (como lo es la respiración), las consecuencias pueden presentarse como fatales para quien la sufre. (Stanley y col, 2004)

Dada la importancia y vulnerabilidad que tienen las células nerviosas, éstas deben contar con un sistema de protección especial ante la exposición a diferentes tipos estrés y agentes que puedan provocar daño, ya sean de tipo químico, físico o microbiológico. (Stanley y col, 2004; Wolf y col, 1996)

Así, el tejido nervioso se convierte en el tejido de mayor complejidad y que es necesario detallar y diferenciar.

5.9.1 NEUROGLÍA

Las células de la neuroglía (*neuro = nervio; glia = pegamento*), que son células no excitables, constituyen las células de sostén de las neuronas y defensa para el Sistema Nervioso Central (SNC), convirtiéndolas en el equivalente al tejido conectivo de todo el tejido nervioso. En general las células gliales son más pequeñas que las neuronas, pero superan a estas últimas de 5 a 10 veces en número, ocupando aproximadamente el 50% del volumen del encéfalo y la médula espinal. Existen cuatro tipos celulares que constituyen la neuroglía: los **astrocitos**, los **oligodendrocitos**, la **microglia** y el **epéndimo**. Estas células presentan algunas diferencias morfológicas y funcionales, dependiendo del sitio en donde residen. (Burns y col, 1978; Stanley y col, 2004; Wolf y col, 1996)

Los *astrocitos*, considerados como parte de la macroglía, son células que se encuentran en el SNC, de aspecto estrellado con abundantes prolongaciones largas y ramificadas y que en ocasiones forman verdaderas redes que se entrelazan alrededor de las neuronas y sus prolongaciones. Otras ramificaciones llegan hasta los vasos sanguíneos que brindan el aporte nutricional necesario a las neuronas. Los astrocitos llamados fibrosos se encuentran en la sustancia blanca y están unidos a los vasos sanguíneos, mientras que los astrocitos protoplasmáticos se encuentran en la sustancia gris. Son la parte homóloga de lo que serían los fibroblastos del tejido conectivo, ya que en una lesión llegan a proliferar para reparar el daño, pero al contrario de los fibroblastos que forman fibras colágena, la reparación de los astrocitos es glial, esto es, que los astrocitos no producen una proteína fibrosa extracelular equivalente al colágeno, sino que la reparación glial es realizada únicamente por procesos celulares. (Stanley y col, 2004; Wolf y col, 1996)

Los *oligodendrocitos* se encuentran en el SNC y son también parte de la macroglía. Como lo indica su nombre, contienen muy pocos procesos o prolongaciones ramificadas. Se encuentran tanto en sustancia gris como en sustancia blanca, y en la primera suelen formar pequeños agrupamientos alrededor de las neuronas, denominándose como células satélite, y en éste caso producen mielina, sirviendo así como aislamiento miélinico para axones neuronales. La mielina está compuesta por la membrana celular de los oligodendrocitos. Cada célula pueda aislar varios axones con enrollamientos en espiral, incluso en diferentes internodos. (Stanley y col, 2004; Wolf y col, 1996)

Las células de la *microglía* son pequeñas, ramificadas y efectúan fagocitosis. Cuando se detecta algún proceso inflamatorio en el SNC, estas células migran para efectuar su trabajo como lo hacen los macrófagos en los demás tejidos. Poseen movimientos ameboides. (Stanley y col, 2004; Wolf y col, 1996)

Las *células ependimales* son células cuboides, ciliadas, que se encuentran recubriendo los ventrículos cerebrales y el canal del epéndimo. Al parecer no tienen intervención notoria en la mayor parte de las reacciones. (Stanley y col, 2004; Wolf y col, 1996)

5.9.2 NEURONAS

La neurona es una célula de forma piramidal y/o estrellada que tiene un núcleo grande de cara abierta, el citoplasma contiene cúmulos de retículo endoplásmico rugoso con altas cantidades de ribosomas y que se tiñe fuertemente con colorantes básicos y se les denominan grumos de Nissl. El cuerpo de la neurona contiene múltiples procesos celulares que se prolongan a manera de ramas llamadas **dendritas**, que a su vez pueden también ramificarse y que les sirven para mantener el contacto con otras neuronas. Presentan un proceso celular más grande que es el **axón**, mismo que también se ramifica en una terminación arborescente denominada telodendrón, y mediante éste entra en contacto con

otras neuronas en sinapsis. Algunas neuronas, como las que pertenecen al sistema nervioso periférico, presentan a lo largo de su prolongación axonal vainas de mielina, que no son otra cosa que células que se enrollan y envuelven al axón, conocidas como células de Schwann. Esto se debe a que dichas células cuentan con una membrana plasmática expandida y muy delgada. Las células de Schwann están espaciadas a lo largo del axón en intervalos regulares, y en dichos espacios el axón se encuentra desprotegido. Dicho espacio, entre una célula de Schwann y otra, se le conoce como nodo de Ranvier, región que cuenta con un papel importante en la propagación de los impulsos nerviosos. En general, las neuronas tienen una amplia variedad de formas y tamaños. (Burns y col, 1978; Stanley y col, 2004; Wolf y col, 1996)

Las neuronas resultan ser, como ya se había mencionado, las células más complejas de la economía, pero también las más vulnerables. No se regeneran, por lo que la muerte de alguna de ellas no podrá ser reparada por células nuevas. Básicamente, cuando se pierden neuronas, el mecanismo reparador consiste en la prolongación de las ramificaciones axonales de otras neuronas hacia la zona dañada, y así reponer la sensibilidad perdida. Desgraciadamente este proceso puede llevar mucho tiempo y a veces no es muy efectivo, además depende mucho del daño ocasionado, esto es, si la herida resulta ser muy irregular, las prolongaciones axonales serán en extremo desordenadas y con alto grado de desorientación, sin lograr conexión total entre ellas. Por otro lado, las incisiones quirúrgicas, que suelen llevar una línea de corte uniforme, permitirán que la mayoría de las prolongaciones axonales logren tener contacto entre ellas y así la sensibilidad puede repararse casi en su totalidad. Es importante mencionar que mientras no se destruya el cuerpo celular de la neurona, esta tendrá la capacidad de regenerar sus procesos celulares. (Kierszernbacaum, 2002; Stanley y col, 2004)

Las neuronas, al ser células permanentes y no sufrir, por lo tanto, división mitótica, hacen de ellas células que difícilmente podrán tener alguna transformación maligna. De hecho, es muy raro tener tumores que se deriven de las neuronas, la mayoría de tumores del sistema nervioso provienen de células gliales. Se sabe que algunos tumores de origen neuronal atacan sobre todo a niños, recordando que en ellos, muchas veces algunas células permanentes no han alcanzado, tal vez, totalmente la madurez, aunque se sabe de algunos tumores de origen neuronal que se manifiestan en las dos primeras décadas de vida. (Stanley y col, 2004; Osteen y col, 1990)

5.9.3 EL SISTEMA NERVIOSO

El sistema nervioso es el que nos mantiene en contacto con el medio en el que nos desenvolvemos, regula funciones diferentes como los reflejos a ciertos estímulos primarios como el hambre, el cansancio, el frío, el calor, además de que regula niveles más avanzados como la conducta. El sistema nervioso ayuda a mantenernos en equilibrio y a controlar diferentes acciones. (Burns y col, 1978; Wolf y col, 1996)

El sistema nervioso está dividido en: **Sistema Nervioso Central (SNC)** y **Sistema Nervioso Periférico (SNP)**. Conjuntamente, forman el más complejo y avanzado de los sistemas del cuerpo. Como ya se mencionó, el Sistema Nervioso presenta células altamente especializadas tanto en forma como en función y su capacidad de regeneración resulta totalmente nula. No obstante, son las diferencias que entre sus componentes celulares lo que nos permite saber bajo el microscopio si éstas pertenecen al SNC o al SNP, además de que cada tipo celular desarrolla algunas funciones específicas y características, sin embargo es la integración de ambos sistemas lo que permite al sistema nervioso ser el sistema más complejo con el que cuenta un organismo. (Burns y col, 1978; 1989; Wolf y col, 1996)

Anatómicamente el sistema nervioso está constituido por el **encéfalo**, la **médula** y los **nervios**. Tanto el cerebro como la médula espinal, constituyentes principales del sistema nervioso, son elementos muy vulnerables a cualquier daño que los afecte, por lo mismo resultan estar altamente protegidos por estructuras óseas. Por otro lado, los nervios salen de la médula y se ramifican hacia todo el cuerpo. (Burns y col, 1978; Wolf y col, 1996)

Para tener una idea íntegra del sistema nervioso, se describirán por separado algunas características esenciales del SNC y SNP.

5.9.3.1 SISTEMA NERVIOSO CENTRAL (SNC)

El SNC está constituido por el encéfalo y la médula espinal, mismos que están protegidos por las meninges y hueso. Celularmente constituido por neuronas y neuroglía como sostén. Todos los estímulos que llegan a los receptores desde la superficie o el interior del cuerpo se registran en el SNC, y allí se originan todas las respuestas que conllevan al movimiento o secreción. (Burns y col, 1978; Stanley y col, 2004; Wolf y col, 1996)

Sin embargo, el órgano que resalta al hablar de Sistema Nervioso es sin duda el **cerebro**. Como ya se comentó el tipo de células que componen a éste sistema es muy complejo, no es de dudar que el cerebro presente también una complejidad enorme comparada con la de otros órganos. El cerebro está constituido, en su corteza, por la llamada sustancia gris, que consiste en cuerpos neuronales, dendritas, axones amielínicos y células gliales. La materia gris se encuentra en la corteza cerebral y contiene una serie de pliegues llamados circunvoluciones. Por debajo de la materia gris, se encuentra la sustancia blanca, que forma la mayor parte del volumen cerebral y que está constituida por fibras nerviosas con mielina. El cerebro presenta regiones motoras que controlan diferentes grupos de músculos esqueléticos a voluntad y también presenta regiones sensoriales que reciben las sensaciones de todo el cuerpo, como el calor, el frío, tacto y presión, también controla las recepciones visuales, auditivas, olfatorias y gustativas. (Burns y col, 1978; Stanley y col, 2004; Wolf y col, 1996)

Lo que hace diferente al cerebro con otros órganos parenquimatosos es que diferentes zonas del cerebro desempeñan diferentes funciones. Esto no ocurre con los otros órganos parenquimatosos, como el hígado, pulmón, riñón, etc. Cualquiera de estos órganos, en caso de que se vean afectados por alguna pequeña lesión focal, las áreas que no tiene daño seguirán cumpliendo su función y tal vez lo harán con mayor intensidad, buscando de alguna manera compensar la deficiencia que en ese momento presentan. Por otro lado, el cerebro, al presentar también una pequeña lesión focal, puede ocasionar un déficit selectivo y grave en una función única, con consecuencias tal vez catastróficas. ^(Stanley y col, 2004)

Lo antes descrito remarca a la Neuropatología como un área relativamente muy compleja, que ha llegado a intimidar a muchos estudiantes, pero una vez comprendiendo y tomando en cuenta la localización de funciones que se desempeñan en cada parte del cerebro, se podrá llevar a cabo un mejor estudio de las afecciones del SNC. ^(Stanley y col, 2004)

Dentro del encéfalo no sólo está el cerebro, también se encuentran: el **bulbo raquídeo**, que comunica a los troncos nerviosos con regiones superiores del cerebro y está relacionado con los impulsos de los hemisferios cerebrales y del cerebelo; el **cerebelo**, que se desarrolla en la parte anterior al bulbo raquídeo y representa la regulación y coordinación de los movimientos; el **mesencéfalo**, coordina algunos reflejos visuales y auditivos; el **diencéfalo**, en él se integran los sistemas nervioso y endocrino, constituido por el **tálamo** como enlace de impulsos sensitivos y que regula las manifestaciones emocionales externas, y el **hipotálamo**, que regula la temperatura corporal, el apetito y el equilibrio de agua; el **telencéfalo**, representando a los hemisferios cerebrales, unidos uno al otro por el cuerpo calloso, y con separaciones como la cisura de Rolando. El telencéfalo está relacionado con las funciones mentales más elevadas y donde se dirigen todas las actividades. ^(Klatt, 1994; Wolf y col, 1996)

La **médula espinal** es una masa cilíndrica de tejido nervioso que recorre longitudinalmente al cuerpo, ocupa el canal raquídeo y está encerrada en la columna vertebral. Posee también sustancia gris y sustancia blanca, pero en este caso la sustancia blanca se encuentra en la periferia, mientras que la sustancia gris, que forma una especie de letra "H", está rodeada por la sustancia blanca. La importancia de la sustancia gris, es que aquí regula el arco reflejo al recibir un impulso, ya que contiene a los cuerpos neuronales de las vías sensitivas y las motoras, lo que promueve el movimiento involuntario de músculos esqueléticos. En la sustancia blanca se encuentran las fibras nerviosas ascendentes y descendentes. ^(Burns y col, 1978; Stanley y col, 2004; Wolf y col, 1996)

El SNC se encuentra protegido por membranas de tejido conectivo llamadas **meninges**, que proveen armazón y sostén al encéfalo y a la médula espinal. La membrana que se encuentra adherida íntimamente a la superficie del cerebro y la médula espinal es la **piamadre** y que además conduce a los vasos sanguíneos que abastecen las superficies externas de ambas regiones. El **aracnoides** es una capa delgada, separada de la piamadre por el espacio subaracnoideo, en el cual

circula el líquido cefalorraquídeo. La última capa es la ***duramadre***, que se adhiere íntimamente a los huesos del cráneo, pero que sin embargo no se adhiere a los huesos circundantes del canal espinal, aquí existe un espacio entre esta membrana y los huesos denominado espacio epidural. (Burns y col, 1978; Stanley y col, 2004; Wolf y col, 1996)

No obstante que el sistema nervioso está constituido en general por un tejido parenquimatoso. Sin embargo, a pesar de guardar una relación histológica homogénea casi en su totalidad, el sistema nervioso es en sí heterogéneo en sus funciones. Esto es, cada zona es importante e individual, ya que cumple con una función específica, a lo que una lesión focal sobre el sistema nervioso puede contribuir con mucho a un daño irreparable y grave.

5.9.3.2 SISTEMA NERVIOSO PERIFÉRICO (SNP)

El sistema nervioso periférico regula los movimientos del cuerpo. Los nervios del SNP salen a partir del encéfalo y médula espinal, distribuyéndose en todo el cuerpo, esto es, inervándolo completamente. Puede considerarse que el SNP es en sí todos los nervios que llegan a todo el cuerpo. (Stanley y col, 2004; Wolf y col, 1996)

El SNP está constituido por **nervios cerebrospinales**, esto es, parten de una pequeña porción del encéfalo y de la médula espinal del SNC. Del encéfalo parten doce pares nerviosos (nervios motores y sensitivos), llamados nervios craneales, mientras que de la médula espinal salen 31 pares nerviosos que atraviesan los espacios vertebrales. De los 31 pares nerviosos espinales, ocho son cervicales, doce dorsales, cinco lumbares, cinco sacros y uno coccígeo. Así, todos los nervios se distribuyen, formando además, diferentes ramas que corren a distintos territorios de todo el cuerpo. (Klatt, 1994; Wolf y col, 1996)

Las **fibras nerviosas** que constituyen al SNP son **aférentes**, que son las fibras receptoras o sensitivas, responsables de recoger el estímulo del exterior de toda la periferia corporal, y canalizarlo al SNC. Por éste motivo se dice que las fibras nerviosas aferentes tienen conducción centrípeta. Por otro lado, las fibras nerviosas **eférentes** son las que llevan a cabo la acción, esto es, son las fibras efectoras o motoras, responsables de transmitir los impulsos del SNC a órganos periféricos, esto es, que tienen conducción centrífuga. (Klatt, 1994; Wolf y col, 1996)

Los nervios cerebrospinales, que pertenecen al sistema nervioso somático, se conectan por medio del **sistema ganglionar**, a los **nervios simpáticos** o vegetativos, pertenecientes al sistema nervioso autónomo, constituido exclusivamente por nervios motores que inervan músculo liso, vísceras (incluido el corazón) y glándulas. Esto es, es responsable del funcionamiento de órganos y tejidos totalmente autónomos, que no funcionan a voluntad, dependiendo con mucho de las sensaciones introceptivas del individuo. (Klatt, 1994; Wolf y col, 1996)

En resumen, el SNP se divide en sistema nervioso somático y sistema nervioso autónomo. El sistema nervioso somático controla los movimientos de los órganos del cuerpo como reflejo de los estímulos recibidos en el SNC. Por otro lado, el sistema nervioso autónomo o vegetativo estimula los movimientos involuntarios o inconscientes. Los nervios que salen de la médula espinal están conectados a "estaciones" de relevo para estímulos nerviosos llamadas ganglios, por lo que también se le conoce como sistema periférico ganglionar. El sistema nervioso autónomo se divide en sistema autónomo simpático, que implica a los nervios que se originan de la región torácica y lumbar; y el sistema autónomo parasimpático, que es de origen craneal y sacro. El simpático es antagónico al parasimpático y se encarga de regular la contracción o relajación del músculo liso, produce contracción de la musculatura lisa por acción adrenérgica, mientras que el parasimpático actúa relajando el músculo liso por la cesación de adrenalina o por incremento de acetilcolina. (Burns y col, 1978; Stanley y col, 2004; Wolf y col, 1996)

Las sustancias que actúan como la adrenalina o que estimulan al simpático se les conocen como simpaticomiméticos, mientras que las sustancias que estimulan el parasimpático son parasimpaticomiméticos, y que son muy importantes en las aplicaciones de diversas sustancias o fármacos conocerlas bien. (Burns y col, 1978; Stanley y col, 2004; Wolf y col, 1996)

Por último, es importante mencionar que en el SNP se encuentran otro tipo de células especiales, estas son las *células de Schwann* y su función es aislar a los axones neuronales del SNP, envolviéndolos con capas de mielina que rodean completamente al axón únicamente en cada internodo de mielina. (Stanley y col, 2004; Wolf y col, 1996)

PRÁCTICA 14 INTERPRETACIÓN DE SECCIONES DEL TEJIDO NERVIOSO

OBJETIVOS

Identificar en el microscopio el tejido y los órganos que conforman el sistema nervioso central y sistema nervioso periférico en base a los componentes histológicos que los integran.

Identificar en el microscopio los órganos que componen al sistema nervioso periférico: nervios, ganglios y terminaciones nerviosas.

SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

CEREBRO, H-E.

Enfoca con 10x y distinguirás acidofilia predominante en todo el tejido, pero al mismo tiempo podrás distinguir que se presentan dos zonas con arquitectura tisular diferente. La que se encuentra en la periferia es la más abundante, y corresponde a la sustancia gris. La sustancia gris presenta un aspecto granuloso homogéneo, debido a que presenta cuerpos neuronales de diferente forma y tamaño semejando algunas veces formas piramidales y tal vez estrelladas en algunos casos. También se encuentran numerosos núcleos que corresponden a células del neuroglía y se encuentran también algunos vasos sanguíneos. Al centro se puede apreciar la sustancia blanca, la cual presenta un aspecto granular fibroso. Los gránulos, que son basófilos, corresponden a células gliales. Se observan también algunos vasos sanguíneos. En la misma sustancia blanca se encuentran algunos espacios vacíos que corresponden a los ventrículos encefálicos, en donde se produce el líquido cefalorraquídeo por los plexos coroideos. Enfoca con 40x para mayor detalle, luego con 100x, objetivo con el cual apreciarás un poco mejor algunos detalles. Si regresas a la periferia con 100x, podrás notar que los contornos están formados por membranas de tejido conectivo, que corresponden al aracnoides y piamadre encefálicas. Al entrar a la sustancia gris podrás distinguir las formas celulares piramidales y estrelladas características de las neuronas, las cuales varían en forma y tamaño, pero que se mantienen en tamaño mayor en comparación con los núcleos observados en su rededor y que corresponden a las células gliales, y que desgraciadamente no es posible distinguir su forma celular, aún con éste objetivo. Se observan algunas prolongaciones o procesos neuronales que corresponden al neurópilo, que se mantiene constante en ésta zona y le dan aspecto homogéneo al tejido. Sin embargo, al ir hacia el centro, en la sustancia blanca, el neurópilo no es tan homogéneo ni abundante, pero le sigue dando cierto aspecto fibroso al tejido. En esta zona se siguen observando núcleos celulares de la neuroglía, pero no se observan neuronas en esta zona. Busca uno de los ventrículos y te darás cuenta que están revestidos por células cuboides llamadas células ependimales.

CEREBELO, H-E.

Observa a simple vista la laminilla, y podrás apreciar una estructura arborescente, donde las “ramas” presentan un color basófilo intenso cerca de la periferia, rodeadas por tejido acidófilo, así como también en el centro. Enfoca con 10x y podrás ver que la capa externa no presenta formas celulares y tiene un aspecto homogéneo, de color rosa pálido, que corresponde a la capa molecular. Dirigiéndote hacia el centro encontrarás que la capa basófila (morada) es de aspecto granular (capa granular), formada principalmente por células gliales y neuronales, y son sus núcleos los que le dan éste aspecto. Inmediatamente, debajo de las dos capas descritas (y siendo el centro de la formación arborescente a manera de “tronco”), se aprecia un tejido acidófilo fibroso (rosa), con algo de basofilia. Esta capa es la materia blanca, que presenta algunas células gliales que le dan el aspecto ligeramente basófilo. Con los objetivos 40 y 60x aprecia mejor los detalles, pero con 100x puedes darte cuenta que en la zona más externa de la capa granular, en la zona limítrofe con la molecular, se observan células más grandes, de aspecto piriforme, basófilas y dispuestas en forma radial, son las células piriformes de Purkinje. Por último, enfoca la parte externa del tejido, y te darás cuenta que la capa molecular está cubierta por tejido conectivo, que corresponde a la meninge más interna, la piamadre.

MÉDULA ESPINAL (CORTE TRANSVERSAL), H-E.

Observa la laminilla a simple vista y podrás ver un tejido ovalado, que presenta una fisura que casi llega hasta el centro del tejido. Corresponde a la fisura media ventral. Al centro podrás observar un espacio vacío muy pequeño, que es el canal central o canal del epéndimo. El tejido presenta una coloración rosa en toda la periferia, que corresponde a la sustancia blanca, y en el centro se distingue un tejido basófilo con forma de “H” o alas de mariposa (dentro del cual se encuentra el canal ependimal). Dicha estructura es la sustancia gris. Enfoca con 10x y distingue los detalles. Con 40x observa la sustancia blanca, en la cual están ausentes los cuerpos neuronales, pero se observan numerosas células gliales. En la periferia, rodeando a todo el tejido se aprecia tejido conectivo, correspondiente a las meninges, siendo la meninge más externa la duramadre, donde se pueden apreciar algunos vasos sanguíneos y la raíz dorsal y ventral de algunos nervios espinales. Dirígete hacia el centro, dentro de las “alas de mariposa” y observa el aspecto granular de la materia gris compuesta por células gliales y cuerpos neuronales. Enfoca en el centro el canal ependimal, y te darás cuenta de que se encuentra revestido por células ependimales cuboides. Por la luz de este canal circula el líquido cefalorraquídeo.

MÉDULA ESPINAL, RÍO-HORTEGA.

El corte corresponde al descrito anteriormente, pero ahora la porción central del órgano se tiñe de color amarillo ocre y corresponde a la sustancia gris. Con el objetivo 10x en esta zona, se identifican los cuerpos neuronales, el neurópilo y las células de la neuroglía. Rodeando a la sustancia gris se encuentra la sustancia blanca, de aspecto esponjoso y de color café pálido. Se observan los núcleos de tamaño homogéneo que corresponden a las células de la neuroglía. Nota que en esta parte hay ausencia de cuerpos neuronales.

SISTEMA NERVIOSO PERIFÉRICO

GLÁNDULA SALIVAL, TRICRÓMICA DE MASSON.

A simple vista se pueden delimitar los lóbulos y lobulillos, entre ellos se aprecia el tejido conectivo que constituye los septos interlobulares e interlobulillares respectivamente. Con el objetivo 10x localiza un septo interlobular (el más grueso que encuentres), que se caracteriza por presentar una gran cantidad de estructuras a las que le da sostén, como lo son los ductos secretores, vasos sanguíneos, fascículos nerviosos y ganglios. Las últimas dos son las que nos interesan, diferenciándose de las otras ya que son compactas, mientras que las otras son huecas. Los fascículos nerviosos que aparecen en corte transversal presentan un aspecto esponjoso, rodeados de una cápsula de tejido conectivo bien definido (perineurio), los mismos fascículos también pueden estar en corte oblicuo o longitudinal. Se puede apreciar el epineurio, en el que las fibras de tejido conectivo tienen aspecto ondulado. Los ganglios tienen aspecto similar a los nervios y podrás apreciar a los cuerpos neuronales, que son de color rojizo o violeta intenso.

PÁNCREAS, H-E.

Siguiendo el mismo procedimiento de la laminilla anterior, localiza los septos interlobulares. En este órgano, a diferencia de la glándula salival, aparecen espacios vacíos y/o un tejido muy fino, ya que el tejido conectivo es laxo y además se ha retraído. Recorriendo los septos con el objetivo 10x, localizarás en los de mayor tamaño y grosor, unas estructuras irregulares a manera de círculos concéntricos con una cápsula aparente, que son terminaciones nerviosas encapsuladas, encargadas de captar estímulos de presión.

5.10 PRINCIPIOS BÁSICOS Y GENERALES DE PATOLOGÍA CELULAR

El organismo que tiene un padecimiento por alguna disfunción en alguna parte de su cuerpo, puede experimentar malestar, sufrimiento e incluso dolor, manifestándose en forma proporcional al daño que padece. Se dice entonces que quien padece dicho daño se encuentra enfermo. (Underwood, 2004; Stanley y col, 2004)

La Patología es la rama de la Medicina que estudia las enfermedades, comprende también la etiología (causas de la enfermedad), el diagnóstico y tratamiento. Patología es una palabra que se deriva de la voz griega *pathos* (enfermedad), aunque realmente ésta voz griega ha sufrido un cambio semántico, ya que ésta definía más a los estados sentimentales y en especial a los que rigen la pasión. Si alguien sufría de una pasión extrema, se decía que tenía una “enfermedad del alma que le nublabla la razón” (patético= Que produce una tristeza, un sufrimiento o una melancolía muy intensos). El cambio semántico comienza al término *pathéin*; que significa padecimiento o sufrimiento (ante un dolor), no se limita únicamente a los sentimientos producidos por la pasión, si no a padecimientos que sufre el cuerpo. Así que la Patología define las enfermedades que sufre cualquier organismo. (Stanley y col, 2004; Mateos, 1984)

El tema de la enfermedad es demasiado extenso como para considerarse en este trabajo, sin embargo se pueden considerar ciertas manifestaciones generales que se presentan en un organismo a nivel celular, y obviamente se puede recurrir a bibliografía especializada para profundizar en el tema.

La Patología Celular estudia las enfermedades a nivel microscópico y nos ayuda a comprender los cambios que experimentan las células cuando sufren algún daño o estrés inducido. En estos estados, las células pueden presentar una merma en sus funciones y modificación en su estructura. Estudiar la enfermedad a nivel celular permite darle un diagnóstico lo más acertado posible, tener un mejor conocimiento de las posibles causas que la originan, dar un mejor pronóstico de su evolución, proporcionar el tratamiento adecuado para atacarla y establecer las bases para su prevención y profilaxis. Aprender las diferencias estructurales que existen entre una célula sana y la enferma es, sin duda, parte medular de la Patología Celular. (Kierszernbacaum, 2002; Stanley y col, 2004; Underwood, 2004)

Un organismo multicelular debe mantener un equilibrio constante entre sus componentes celulares, los cuales han desarrollado diferentes mecanismos para resistir el estrés constante que los afecta. Estos mecanismos son los responsables de que cada célula pueda actuar de la mejor manera ante el estrés para mantener la supervivencia del tejido u órgano al cual pertenecen. Sin embargo cada célula presenta sus propios límites para soportar dicho estrés y no siempre es posible que logren adaptarse al cambio o que sobrevivan ante las nuevas condiciones a las cuales se enfrenta. (Kierszernbacaum, 2002; Stanley y col, 2004)

Los cambios que van presentando las células que experimentan un estrés van desde niveles moleculares hasta cambios estructurales de los componentes celulares, y cuando dichos cambios afectan el funcionamiento normal de la célula se dice que ésta se encuentra en un estado patológico. Las afecciones que exhibe una célula dañada pueden provocar alteración en su bioquímica, en su genética, en sus componentes moleculares de estructura y en organelos, finalizando en problemas estructurales y de función. Que si bien, ante un estrés inducido, la célula puede adaptarse y modificar algunas de sus funciones y morfología con el fin de sobrevivir e incluso sacar ventaja de los cambios producidos, puede ser posible que en determinado momento la célula no soporte el cambio, entonces no podrá sobrevivir y morirá. En resumen, el estrés inducido puede provocar adaptación, lesión o muerte a las células afectadas. (Stanley y col, 2004)

Referiremos al *estrés* como cualquier agente o condición de cualquier clase que induzca cambios al estado "normal" de la célula. Veremos los diferentes mecanismos que pueden utilizar las células como alternativas para sobrevivir ante una lesión, los cambios que se presentan en ellas y su adaptación ante el estado alterado en el que se presentan. (Stanley y col, 2004)

El conocimiento previo de la clasificación general de los tipos celulares en función de su reproducción y regeneración, como mecanismo de adaptación proliferativo, nos ayudará a comprender y pronosticar en que estados pueden sobrevivir algunas células y en cuales no son viables ante una lesión, considerando, también las posibles alteraciones que se pueden presentar durante la proliferación celular. El Cáncer es la mejor ejemplificación de las alteraciones durante la proliferación celular, y será un tema a tratar en éste capítulo (Stanley y col, 2004)

Este capítulo sólo expone en forma muy breve los principios básicos de las generalidades de Patología Celular, así que los temas se tratan muy superficialmente y en forma muy general y resumida, pero con bases mínimas necesarias para comprender la Patología como complemento al curso de Histología. Se sugiere ahondar más en algunas de las referencias bibliográficas aquí citadas o se podrán apoyar en otros textos si el interés de cada persona así lo dispone.

5.10.1 LESIÓN Y ADAPTACIÓN CELULAR.

La célula normal se encuentra en modificación constantemente, tanto en su estructura como en su función, de acuerdo a las demandas y estrés cambiantes de su entorno. Cuando el estrés es demasiado intenso, la célula tiende a conservar un rango relativamente estrecho de estructura y función, designado como "normal". Esto hace que dentro de ciertos límites, la adaptación celular sea una alteración estable, lo que preserva la salud de la célula a pesar del estrés continuo. Pero si se exceden los límites de la capacidad adaptativa, se origina lesión o aún muerte celular. (Kiersznerbacum, 2002; Stanley y col, 2004)

Lo anterior se puede resumir como: “en respuesta al estrés creciente, la célula puede adaptarse, lesionarse de modo reversible o morir”. (Stanley y col, 2004)

Así, la célula puede estar afectada por un estrés leve, por ejemplo, en el músculo esquelético, los miocitos estarían trabajando mucho al realizar su actividad cuando alguien carga un objeto de peso moderado, si éste trabajo se realiza repetidas veces por alguna persona que nunca antes lo había hecho, por ejemplo en el ejercicio físico. Los miocitos de su músculo estarán sufriendo un estrés, que a su vez provocará cambios en ellos. Lo primero será la demanda de una mayor cantidad de nutrientes, los procesos anabólicos de los miocitos se acelerarán y sintetizarán mayor cantidad de proteínas, resultado: incremento en el tamaño de los miocitos y por consiguiente, aumento en la masa muscular. Entonces se dice que estas células se encuentran en un estado **adaptado**, que mantiene el equilibrio y la compatibilidad de supervivencia ante un estrés. Si de repente, se carga un objeto de mayor peso sin previa preparación y sin dar tiempo para que el músculo se adapte a la nueva condición de trabajo, la persona podría experimentar algún dolor muscular, esto pasa debido a que algunos miocitos no soportaron el estrés inducido y se lesionaron. El dolor obligará a la persona a cesar en su actividad. Al estar los miocitos lesionados, estos podrían recuperarse después de dejarles de inducir dicho estrés, entonces tendremos células que han sido **lesionadas en forma reversible** y por lo tanto aún su condición es viable, esto es, pueden sobrevivir. Sin embargo, algunos miocitos pudieron haber experimentado un daño muy grave, al grado que no podrán recuperarse ni sobrevivir, entonces la **lesión no es reversible** y automáticamente sobreviene la **muerte** celular. (Kierszembacaum, 2002; Stanley y col, 2004)

Es entonces la magnitud e intensidad de un estrés lo que determina si una célula puede adaptarse, lesionarse reversible o irreversiblemente o morir. Sin embargo es importante considerar el tipo de agente lesivo que induce el estrés, el tiempo de exposición y la especificidad que tenga éste sobre los diferentes tipos celulares, así como la vulnerabilidad celular. Es importante mencionar que en respuesta a un estrés moderado, la célula podría pasar por toda la sucesión de estados de adaptación y lesión solo para morir, pero como se dijo antes, un estrés demasiado intenso podría lesionar o incluso matar a la célula sin pasar necesariamente por todos los estados de adaptación y lesión. (Stanley y col, 2004)

Ahora conoceremos algunas condiciones y agentes que provocan estrés y/o estados nocivos a la célula, detallando algunos de sus mecanismos principales de acción. Con esto se puede establecer la etiología de la enfermedad, se puede predecir el cambio celular consecuente y con esto se puede determinar hasta que punto el estrés inducido puede provocar daño irreversible. (Stanley y col, 2004)

5.10.1.1 CAUSAS DE LESIÓN, ADAPTACIÓN Y MUERTE CELULAR.

Cualquier estrés que cause cambios morfológicos y funcionales en la célula puede ir desde la sutil ausencia de una sola enzima (como ocurre en las afecciones genéticas), hasta un gran traumatismo. Se pueden mencionar algunos agentes principales que provocan influencias nocivas y alteraciones que afectan las funciones celulares, como: (Stanley y col, 2004; Underwood, 2004)

- hipoxia
- sustancias químicas y fármacos
- agentes físicos
- agentes microbiológicos
- mecanismos inmunitarios
- defectos genéticos
- desequilibrios nutricionales
- envejecimiento

Hipoxia

La hipoxia comprende una disminución de la respiración oxidativa aeróbica, con la consecuente disminución de la presión de oxígeno sobre los tejidos o la total ausencia de éste. La disminución del riego sanguíneo debida a la interrupción de la circulación arterial o venosa es la principal causa de hipoxia. Las vasculopatías y la obstrucción intraluminal (en venas y arterias) provocan afección del riego sanguíneo. Las enfermedades cardiorrespiratorias propician a la sangre una oxigenación inadecuada, causando también hipoxia. Algunos agentes nocivos como el monóxido de carbono, que se une covalentemente a la hemoglobina (una unión muy fuerte entre estas dos moléculas), formarán carbomonoxihemoglobina estable que bloquea totalmente el transporte de oxígeno a los tejidos (en estado normal, la hemoglobina se convierte en oxihemoglobina cuando se une a las moléculas de oxígeno, unión relativamente débil que puede ser fácilmente desplazada por la presencia del monóxido de carbono). Según el estado hipóxico, la célula puede adaptarse, disminuyendo su tamaño para compensar la deficiencia de oxígeno y bajar así mismo su demanda metabólica, pero en casos de extrema hipoxia la célula puede lesionarse y morir. (Kierszernbacaum, 2002; Stanley y col, 2004)

Sustancias químicas y fármacos

La mayoría de las sustancias químicas y fármacos propician cambios celulares, algunos no perceptibles y otros que generan un gran daño. Incluso sustancias que parecen inocuas, como la glucosa, en altas cantidades puede provocar cambios osmóticos membranales en la célula que pueden ser lesivos y/o mortales para ella. Algunas sustancias afectan la permeabilidad de la membrana celular o actúan sobre una enzima o cofactor. Los fármacos son ejemplo importante en este tipo de alteraciones, muchos de ellos muy específicos, otros, por su falta de especificidad

pueden alterar varios tipos de células. Por ejemplo, los fármacos utilizados en el tratamiento del cáncer, son altamente tóxicos. Su acción principal es sobre células que tienen una alta capacidad mitótica y reproductiva, característica de las células cancerosas. No obstante, también ciertas células normales presentan elevada actividad mitótica y reproductiva, por ejemplo las células epiteliales de la piel y tracto digestivo, así como las células sanguíneas. Es por eso que muchos pacientes que se tratan con estos medicamentos, sufren de alopecia, infecciones en la piel, vómitos y desnutrición, así como cuadros anémicos, inmunocompromiso y deficiencia de células de defensa, así como posibles leucemias. (Stanley y col, 2004)

Agentes físicos

Los traumatismos mecánicos tienen la particularidad de lesionar la célula sutilmente a nivel intracelular sobre los organelos, o destruir la célula al romperla por completo. (Kierszernbacaum, 2002; Stanley y col, 2004)

Las bajas temperaturas pueden inducir vasoconstricción tisular, reduciendo el riego sanguíneo a las células, en casos extremos puede ocurrir estancamiento sanguíneo, provocando coagulación intravascular. El agua tisular puede cristalizarse, deteniendo todo movimiento intracelular. Por otro lado, las temperaturas altas pueden crear hipermetabolismo excediendo la capacidad del riego sanguíneo disponible, originando acumulación de metabolitos ácidos y, consecuentemente bajando el pH hasta cifras críticas. Los casos extremos de temperaturas altas pueden incinerar tejidos. (Stanley y col, 2004; Underwood, 2004)

En los cambios repentinos de presión, como por ejemplo los que pueden experimentar los buceadores de aguas profundas, ellos tienen concentraciones mayores de gases atmosféricos en sangre cuando están buceando. Si alguno de estos buceadores regresara a la superficie demasiado rápido sufrirá de descompresión, provocando una rápida expansión del gas "disuelto" en sangre (sobre todo nitrógeno molecular N_2), formando burbujas que quedan atrapadas en la circulación o incluso que salen con gran fuerza rompiendo tejidos. Las burbujas formadas pueden llegar hasta circulación cerebral provocando lesión hipóxica mortal por obstrucción de riego sanguíneo. (Stanley y col, 2004)

Las radiaciones pueden inducir lesiones a nivel genético, dando como resultado diferentes tipos de mutaciones, o la formación de radicales libres altamente activos que pueden reaccionar con moléculas celulares importantes o formando sustancias altamente tóxicas. (Stanley y col, 2004; Underwood, 2004)

La energía eléctrica puede producir quemaduras en los tejidos, pero también actúa sobre la conducción nerviosa y suele causar muerte por arritmias cardíacas. El grado de lesión inducido por corriente eléctrica depende del voltaje, amperaje y de la resistencia hística, ésta última como la responsable de la generación de calor. La vía de entrada y salida que sigue la corriente dentro del organismo resulta crítica en la manifestación lesiva que produce. (Stanley y col, 2004)

Agentes microbiológicos

Los microorganismos patógenos son conocidos por su afección en diferentes funciones celulares a nivel estructural y metabólico, por parasitismo y oportunismo. Pueden crear infecciones que bajan las defensas celulares, producir toxinas que lesionan o actuar sobre enzimas o cofactores esenciales para la vida celular o desplazar microorganismos que son normales en la flora e incluso benéficos al organismo por comunidad simbiótica. Se puede desencadenar una reacción inmunitaria, causada por estos agentes, en forma demasiado agresiva y que incluso deterioraría algunas células de los tejidos afectados. Existen diferentes tipos de microorganismos como las bacterias, las rickettsias, hongos y protozoarios que pueden crear daño celular. Así mismo, los virus, que son parásitos intracelulares obligados pueden inducir citólisis (muerte celular) o estimular la replicación celular que quizá puedan provocar neoplasias (virus oncógenos), o el ya conocido VIH que causa SIDA cuando logra manifestarse. El prion, que más bien es, al parecer una fracción proteica, crea un daño muy específico sobre ciertos sistemas, como la encefalopatía esponjiforme (enfermedad de Creutzfeldt-Jakob y el kuru en humanos y enfermedad de “las vacas locas” en ovejas, cabras y en las mismas vacas). Lo más impresionante es que el prion, siendo un agente infeccioso proteináceo, resulta ser transmisible y al parecer cumple con los postulados de Koch. (Stanley y col, 2004; Privat y col, 2000)

Mecanismos inmunitarios

Las reacciones inmunitarias son raras pero pueden ser responsables de daño hístico y celular grave, como por ejemplo los daños autoinmunitarios por la presencia de un antígeno exógeno o endógeno. En casos extremos, un antígeno exógeno puede crear una reacción alérgica aguda muy exagerada y provocar un shock anafiláctico que puede ser mortal si no se logra controlar a tiempo. El síndrome de Landry-Guillain-Barre, enfermedad desmielinizante, es al parecer una afección inmunitaria donde existe destrucción mielínica por ataque leucocitario específico a las células de Schwann. (Stanley y col, 2004; Underwood, 2004)

Defectos genéticos

Si no se cuenta con un aparato genético normal, el cual es crucial para la homeostasis de la célula, entonces la mutación presente hace inminente la aparición de un defecto que; puede ser irreconocible, privar a la célula de una enzima creando lo que se le conoce como error congénito del metabolismo, o crear una mutación grave totalmente incompatible con la vida. Algunas de estas mutaciones son causantes del desarrollo anormal de una célula y/o de una reproducción incontrolable, como lo es el desarrollo de un cáncer. Muchos síndromes y malformaciones están relacionados con diversos defectos genéticos, ya sea congénitos o adquiridos por algún agente lesivo como radiación electromagnética de alta frecuencia o sustancias tóxicas, que se sabe son teratogénicas y/o cancerígenas. (Kierszernbacum, 2002; Stanley y col, 2004)

Desequilibrios nutricionales

Las deficiencias nutricionales se hacen presentes no solo en países en vías de desarrollo, también países con un elevado estatus social se han visto amenazados por problemas en el balance nutricional. Las naciones pobres, en donde la inanición se hace presente, sufren deficiencias proteínicas-calóricas y de avitaminosis, degradando las proteínas corporales como aporte energético. Por otro lado, el exceso en el consumo de nutrientes, característica de los países desarrollados, llevan consigo el problema de la obesidad con su consecuente problema cardíaco y vascular. En general son muy bien conocidas las consecuencias de los problemas nutricionales. (Stanley y col, 2004; Underwood, 2004)

Envejecimiento

El envejecimiento celular puede considerarse como parte de la etapa de cualquier célula. Hay quien afirma que las células son inmortales, y que son más bien los errores mitóticos que van arrastrando problemas en la capacidad adaptativa de cada célula, además de todos los efectos ambientales que con el tiempo han deteriorado el funcionamiento y estructura celular. Sin embargo se sabe de los programas internos que cada célula presenta dentro de su código genético, que destinan a cada célula a realizar cierto número de replicaciones y llevar un periodo de vida útil para que después muera. Dicho programa se conoce como apoptosis o muerte celular programada, en donde intervienen diversos factores como la supresión de acción de ciertas enzimas, autólisis por acción lisosómica o destrucción nuclear, entre otras. (Stanley y col, 2004)

5.10.1.2 MORFOLOGÍA DE LA LESIÓN CELULAR.

Existen diferentes cambios celulares durante la lesión, pero son los cambios morfológicos los que podemos observar al microscopio y los que nos permitirán evaluar el daño producido en cada célula, así como pronosticar su compatibilidad con la vida en caso de ser lesionada.

En etapas tempranas, generalmente la lesión celular se caracteriza por alteraciones de la membrana plasmática, causando trastornos en la regulación iónica, dando como consecuencia diferencias osmóticas y acumulación de líquido en muchas ocasiones, fenómeno conocido como tumefacción, el cual se manifiesta como inflamación del tejido afectado. Existe también pérdida de ATP como aporte energético. La formación de vesículas citoplásmicas y pérdida de señales intercelulares se incrementan, se van formando figuras de mielina (enrollamiento de la membrana) como consecuencia de alteraciones de membrana citoplásmica, aumentando así el desequilibrio iso-osmótico. En casos de lesión irreversible, la membrana celular se rompe dando origen a la muerte celular. (Stanley y col, 2004; Klatt, 1994)

En las lesiones isquémicas, que van evolucionando a un estado hipóxico elevado, las mitocondrias suelen alcanzar tamaños exageradamente grandes y comienzan a formar depósitos de calcio en ellas, siguiendo de rotura de la membrana mitocondrial en casos irreversibles, presentando calcificación. El retículo endoplásmico se dilata por movimiento de iones y agua. Existe desprendimiento de ribosomas con la consecuente disminución en la síntesis de proteínas como respuestas reversibles, pero en el caso de que la lesión continúe, comienza la fragmentación del retículo endoplásmico y formaciones mielínicas. Los lisosomas suelen aumentar de tamaño y pueden romperse, liberando enzimas lisosómicas provocando autofagia para casos de lesión irreversible o muerte celular. (Stanley y col, 2004; Underwood, 2004)

Los cambios nucleares suelen ser variados. En lesiones muy avanzadas, pero reversibles, la cromatina suele aglutinarse contra la membrana nuclear. Se pueden manifestar cambios degenerativos como aumento de tamaño nuclear con respecto a la relación núcleo-citoplasma, cambio conocido como anisocariosis, que se manifiesta como agrandamiento notable del núcleo. La discariosis, es una formación irregular de los contornos de la membrana nuclear y que muchas veces se acompaña de anisocariosis e hiper cromasia. Al estudio microscópico, el núcleo suele hiperpigmentarse con el colorante utilizado (hipercromasia). Al morir la célula, se pueden encontrar tres diferentes degeneraciones en el núcleo, como la cariólisis, que se manifiesta por la disminución basofila como consecuencia de los cambios de pH. La picnosis, que se manifiesta cuando la densidad nuclear aumenta y el tamaño del núcleo disminuye considerablemente, creando una masa basófila sólida. En el último patrón desarrollado, que es la cariorrexis, el núcleo picnótico o parcialmente picnótico se fragmenta. (Stanley y col, 2004; Fentanes y col, 1990)

Posterior a estos cambios, la célula se transforma en un cuerpo anucleado con citoplasma opaco y granular, además de ser altamente acidófilo, debido a la desnaturalización de proteínas que exponen grupos básicos. A continuación comienza el estado necrótico. (Stanley y col, 2004; Fentanes y col, 1990)

5.10.1.3 ADAPTACIÓN CELULAR.

Ya se ha comentado acerca de la adaptación celular, cuando la célula se enfrenta ante un estrés que puede ser continuo o que se presenta en forma aguda y con diferentes grados de intensidad y naturaleza. Muchas veces las células logran la adaptación y además un cambio que las lleva a seguir un nuevo patrón "normal" y la continuación de la vida. Sin embargo, algunas veces estos cambios pueden propiciar otros estados patológicos que, con el tiempo o deteriorar aún más las expectativas de vida para el órgano o tejido afectado. La atrofia (hipotrofia) y la hipertrofia son dos mecanismos principales presentes en la adaptación celular. (Stanley y col, 2004; Underwood, 2004)

El sufijo -trofia proviene de la voz griega *trophein*, que significa alimentarse, derivándose de aquí los términos atrofia (*a/sin-trofia/alimentarse*) e hipertrofia (*hiper/mucho-trofia/alimentarse*). (Stanley y col, 2004; Klatt, 1994; Mateos, 1984)

La adaptación celular, y en específico, la atrofia y la hipertrofia denotan diferencias en la alimentación a nivel celular, en el grado de anabolismo o capacidad para sintetizar nutrientes, dando como consecuencia cambios en el volumen y estructura celular (tamaño, cantidad de organelos y otros componentes celulares). La adaptación tratará de mantener a la célula en un estado de equilibrio, que sin embargo estará alterado, enfrentándose y se adaptándose ante el entorno que está creándole el estrés o estado nocivo. (Kierszembacum, 2002; Stanley y col, 2004)

Recientemente se ha investigado, sobre bases moleculares de los mecanismos de respuesta del miocardio de neonatos de rata ante exposiciones de estrés hipóxico. Se reporta la existencia de factores de “supervivencia”, conocidos como proteínas inhibitorias de apoptosis y de reguladores de señal de apoptosis como respuesta adaptativa de la hipoxia. (Cataldi y col, 2005)

Atrofia

La reducción en el tamaño de la célula por pérdida de sustancia celular se denomina atrofia. La manifestación atrófica se hace presente al disminuir la capacidad nutricional de la célula como causa compensativa a diferentes factores que la inducen. Estas causas pueden ser: disminución de la carga de trabajo, pérdida de inervación, disminución del riego sanguíneo, nutrición inadecuada y pérdida de la estimulación endocrina. (Stanley y col, 2004; Underwood, 2004)

Los cambios celulares suelen incluir disminución en el número de mitocondrias, miofilamentos y retículo endoplásmico, pero conservando las características normales de la célula. (Stanley y col, 2004)

Durante la disminución en la carga de trabajo, la célula no requerirá un aporte energético importante, induciéndola a disminuir su tamaño. Otros factores como un aporte sanguíneo disminuido proporciona pocos nutrientes a la célula, como ocurre también en una nutrición inadecuada e insuficiente, así como la estimulación endocrina disminuida que reduce el anabolismo o que la estimulación origine un aumento en el catabolismo celular, pueden ser causa de que la célula disminuya su tamaño para compensar la pérdida de aporte energético. En pocas palabras, la célula, al no requerir o no tener un aporte energéticamente rico, disminuye su tamaño y de esta forma se adapta al cambio y logra su supervivencia. (Stanley y col, 2004; Underwood, 2004)

Hipertrofia

La hipertrofia es el aumento en el tamaño celular, el cual puede causar también un incremento en el tamaño del órgano o tejido que componen. Estos cambios son debidos a factores totalmente opuestos a los que causan la atrofia, así los

cambios hipertróficos pueden ser también funcionales y/o patológicos. Un ejemplo de hipertrofia adaptativa fisiológica es cuando las hormonas estrogénicas estimulan el crecimiento de las células musculares lisas del útero de la mujer embarazada, originando un incremento en el tamaño del mismo. Cuando un deportista, al exceder el trabajo mecánico del músculo esquelético, éste requiere un mayor aporte energético y mayor capacidad de aporte de oxígeno. Así, los miofilamentos se hacen más gruesos y resistentes, mientras que el número de mitocondrias incrementa, entonces las estructuras miofilamentosas se hacen más gruesas y se acelera la síntesis de proteínas, incrementando la captación nutricional y el aporte de oxígeno por aumento en el número mitocondrial, así el músculo esquelético crece y se hace más resistente ante el estrés inducido, creando una adaptación hipertrófica. Por otro lado, cuando el tejido muscular cardíaco, al encontrarse ante una demanda mayor de aporte energético, debido a un aumento en su carga de trabajo por estímulo de una presión arterial elevada, logra un límite hipertrófico y la masa muscular ya no logra compensar la capacidad aumentada, surgiendo entonces insuficiencia cardíaca, provocando diversos cambios degenerativos en las fibras miocárdicas y pérdida de elementos contráctiles miofibrilares, dando como consecuencia daño isquémico por hipoxia e infarto. Como vemos, las células musculares estriadas son el mejor ejemplo en el cual se presenta la hipertrofia, debido a su incapacidad de reproducirse para crear más componentes celulares, éstas en cambio incrementan su volumen como respuesta compensatoria a las demandas por exceso de trabajo que se presenta. (Stanley y col, 2004; Kurman y col, 1989)

La atrofia y la hipertrofia son adaptaciones celulares que únicamente provocan la modificación del volumen celular, pero de ninguna manera son adaptaciones proliferativas, esto es, no provocan que se aumente o disminuya la cantidad de células en el sitio de adaptación. Por otro lado, existen adaptaciones celulares como la hiperplasia, metaplasia y tal vez la displasia, que son adaptaciones celulares proliferativas, ya que modifican el número celular debido a que las células se reproducen para crear más células, esto en respuesta también a un estrés inducido. Estos tres tipos de adaptación se verán más adelante, ya que estos comprenden una proliferación celular. (Stanley y col, 2004; Underwood, 2004)

5.10.2 INFLAMACIÓN Y REPARACIÓN CELULAR.

Cuando una lesión se hace presente, comienzan los procesos para recuperar las zonas afectadas. Si no existieran los procesos de inflamación y reparación, las heridas serían siempre llagas dolorosas que nunca se curarían, las infecciones aparecerían y nunca podrían controlarse. (Stanley y col, 2004)

La inflamación es una reacción de los tejidos vivos a todas formas de lesión, es el ataque a agentes extraños y lesivos. Durante la inflamación, comienza a desarrollarse el proceso de reparación celular, el cuál restituye el tejido perdido durante la lesión y durante la reacción inflamatoria. La inflamación

domina los estados iniciales de la lesión, mientras que la reparación adquiere mayor importancia después. Sin embargo, aunque estos dos procesos están estrechamente entrelazados en respuesta a la lesión, son realmente procesos totalmente distintos. (Stanley y col, 2004; Underwood, 2004)

La reparación es el proceso mediante el cual las células perdidas o destruidas son reemplazadas por células vivas. Algunas veces la reparación es por regeneración de células parenquimatosas, pero otras veces se da por sustitución fibroblástica, dando lugar a una cicatriz. (Stanley y col, 2004)

En conjunto, el proceso inflamatorio-reparador se encarga de mantener y neutralizar una lesión, restituyendo la continuidad morfológica de los tejidos, pero con la desventaja de que no siempre se recupera la función específica de todo el tejido. En otros casos, el proceso inflamatorio-reparador puede ser peligroso, como por ejemplo, las reacciones de hipersensibilidad suelen ser un riesgo que muchas veces se debe atender con urgencia para los casos inflamatorios, mientras que para los casos de procesos reparadores, la sustitución de tejido cicatrizal en el miocardio debida a lesiones ocasionará una disfunción cardíaca por pérdida de elementos contráctiles como lo son las fibras musculares cardíacas, y que podrían crear un cuadro agudo que también debe tratarse con extrema urgencia. Actualmente se estudia la posibilidad de implantar a nivel de epicardio, un cultivo de mioblastos esqueléticos (tomados de células satélite de los miocitos esqueléticos). (Stanley y col, 2004; Rendal y col, 2005)

Sin embargo, y a pesar de los posibles infortunios que se pueden presentar durante el proceso inflamatorio-reparador, las respuestas inflamatorias y reparadoras son fundamentales para la supervivencia del organismo, y pueden, en cierta forma, ser controlados mediante el uso de algunos medicamentos, como los antiinflamatorios y/o agentes hormonales, para que la acción de inflamación-reparación sea menos agresiva o incluso se detenga. (Stanley y col, 2004)

5.10.2.1 INFLAMACIÓN

La inflamación comprende dos estadios: la inflamación aguda y la inflamación crónica. La inflamación aguda actúa cuando un agente lesivo se hace presente en el momento y se requiere acción inmediata para responder, resistir y atacar dicho agente por la gravedad de la lesión que produce o por la acción transitoria, pero a la vez grave que causa en el organismo. Ejemplos en los cuales se da la respuesta de inflamación aguda son un traumatismo físico o alguna infección microbiológica aguda que requiere erradicación inmediata del organismo. Por otro lado, la inflamación crónica aparece cuando una reacción aguda no grave no pudo resolver el problema, ya sea por la persistencia del agente lesivo o por la interferencia en el mecanismo reparador. Las exposiciones prolongadas a ciertos agentes que incluso pudieran considerarse inertes y no degradables, pueden crear acumulación corporal con el tiempo y ser reconocidos como cuerpos extraños, y por lo tanto desencadenan una reacción inflamatoria crónica. (Stanley y col, 2004)

La inflamación aguda es relativamente de corta duración, de horas o días. Anticuerpos y leucocitos son transportados en el torrente sanguíneo y los fenómenos vasculares se hacen presentes. La inflamación aguda comprende tres componentes principales: ^(Stanley y col, 2004)

- *Alteraciones en el calibre vascular que incrementan el flujo sanguíneo.* El sitio se llena de sangre (congestión). Posteriormente se lentifica el torrente sanguíneo y existen cambios en la presión intravascular y alteraciones en la orientación celular respecto a las paredes de los vasos, los eritrocitos se orientan hacia el centro, mientras que los leucocitos (neutrófilos) adquieren orientación periférica, fenómeno denominado marginación.
- *Alteraciones de la permeabilidad vascular.* Existen cambios estructurales en la microvasculatura que permiten que proteínas plasmáticas y leucocitos salgan de la circulación, proceso conocido como exudación. Esto hace más viscosa la sangre y provoca aglomeración de eritrocitos y resistencia al flujo, con esto se impide la salida de sangre.
- *Agregación de leucocitos en el foco de lesión.* Después de la marginación de neutrófilos y monocitos, teniendo contacto con los tejidos endoteliales, éstos pavimentan el endotelio (pavimentación) y comienzan a salir por diapédesis (migración). Al salir, los leucocitos van hacia el sitio de lesión atraídos por acción quimiotáctica (quimiotáxis), que son atrayentes químicos (como la histamina) derivados del sistema inmunológico o de productos bacterianos.

A veces la reacción inflamatoria puede ser perjudicial, por ejemplo, la liberación de histamina puede inducir un aumento en la permeabilidad vascular y salida excesiva de proteínas plasmáticas y abundante exudado, dando como resultado la "hinchazón" excesiva después de sufrir un traumatismo severo en la cabeza, provocando en las meninges y en cuerpo encefálico una gran hinchazón, pero sin poder expandirse más debido a que el cráneo limita la tumefacción, entonces aparecerá dolor muy intenso. En éstos casos se corre el riesgo de obliteración de capilares y/o pequeñas arterias que pudieran provocar la ruptura de alguna de éstas y originar una hemorragia cerebral, formación de coágulos y el peligro latente de una embolia cerebral.

En casos críticos como el de un traumatismo severo en la cabeza, la medicación resulta muy importante en el tiempo y estado adecuado. A veces, en etapas tempranas de inflamación y permeabilidad vascular, debido liberaciones importantes de histamina como agente quimiotáctico y que propicia la permeabilidad vascular mencionada, el uso de antihistamínicos es muy buena opción, mientras que el uso de antiinflamatorios resulta útil en etapas tardías de la reacción inflamatoria. Durante el periodo inflamatorio, el calor generado en la reacción y la destrucción tisular provoca enrojecimiento y dolor, así que muchas veces se recomienda la utilización de antipiréticos, que bajan la temperatura, y

analgésicos, que disminuyen el dolor. Se tienen en el mercado variedad de medicamentos que pueden presentar un efecto combinado para el tratamiento de los síntomas que se pueden presentar. (Stanley y col, 2004)

Existe un estudio en donde se detectan células cebadas en el conducto obstruido de la vesícula biliar. Se detectan diferentes poblaciones de células cebadas, estructuras nerviosas y células endocrinas en la parte baja del ducto biliar. Las células cebadas participan ampliamente en la liberación de histamina, contribuyendo así en la participación del desarrollo del proceso patológico. (Gulubova y col, 2004)

5.10.2.2 CLASIFICACIÓN DE LAS CÉLULAS REGENERATIVAS.

Bizzozero clasificó, en el siglo pasado, a las células de acuerdo a su capacidad de regeneración, clasificación que sigue operando hasta ahora. La clasificación comprende tres grupos celulares: células lábiles, estables y permanentes, cada una con diferente extensión del periodo Go del ciclo celular. Los dos primeros grupos pueden proliferar durante toda la vida del individuo, mientras que el último grupo no puede tener reproducción. (Stanley y col, 2004; Márquez, 1994)

También debe mencionarse que las células presentan diferentes grados de complejidad tanto en estructura como en función. Existe una relación inversa en cuanto al grado de complejidad y la capacidad regenerativa de las células, aquellas que son relativamente más simples tienen una alta capacidad regenerativa. Por otro lado, las células con mayor grado de complejidad resultan tener poca o nula capacidad regenerativa. (Stanley y col, 2004; Márquez, 1994)

- **Células lábiles:** En estos casos existen células madres que se multiplican durante toda su vida en forma activa y continua, formando constantemente células nuevas que van diferenciándose para sustituir a las células maduras que se van perdiendo por el corto periodo de vida que poseen, o que se pierden por descamación y/o exfoliación. Ejemplos son todas las células epiteliales, que están expuestas a un desgaste continuo, como el recubrimiento del intestino delgado, que reemplaza por completo su epitelio en pocos días. Las células lábiles van sustituyendo a las células que se destruyen por procesos fisiológicos normales, partiendo de células totalmente inmaduras, que van diferenciándose hasta alcanzar la madurez para desarrollar propiamente su función. Así, el tejido hematopoyético y el linfóide tienen también una actividad muy grande en su regeneración. Estas células tienen un periodo de vida relativamente corto, de días hasta quizás algunos años. Son células relativamente simples, con poco grado de complejidad y especialización. (Stanley y col, 2004; Márquez, 1994)

- **Células estables:** Las células estables mantienen la capacidad latente para regenerarse, sin embargo, en circunstancias normales no lo hacen, o al menos no de forma activa, así que es raro encontrar figuras mitóticas en los tejidos que conforman. Este grupo celular es el que constituye a los tejidos y órganos parenquimatosos, como por ejemplo el hígado, el cual si es extirpado en un 80% en animales de experimentación, es posible encontrar la regeneración casi total con un peso normal del órgano en alrededor de una semana. Las células mesenquimatosas y los fibroblastos también pertenecen a éste grupo celular, ya que además de tener gran capacidad regenerativa, son muy especiales en el sentido de que les es posible diferenciarse en varias líneas celulares, haciendo posible la restitución de células de diferentes linajes a partir de células mesenquimatosas. Las células endoteliales y el músculo liso caen también en la categoría de estables. Por ejemplo, después de una lesión, las células endoteliales logran regenerarse, al igual, el músculo liso del miometrio, al tener influencia hormonal puede regenerarse, y lo hace también para reparar lesiones vasculares en grandes vasos. El tiempo de vida de las células estables es de años, y tal vez hasta completen toda la vida desde el nacimiento de un organismo. Estas células son más complejas en comparación con las células lábiles, pero, a excepción de las células mesenquimatosas, no llegan a diferenciarse después de su regeneración, ya que prácticamente las células nuevas ya son totalmente maduras. (Stanley y col, 2004; Márquez, 1994)
- **Células permanentes:** Las células permanentes no tienen la capacidad de regenerarse, la pérdida de alguna de ellas es total e incluso irreparable. Entre los ejemplos mejor conocidos se encuentran las neuronas, ya sean del sistema nervioso central o ganglionar. Sin embargo, si después de la lesión, el cuerpo neuronal se mantiene, es posible que el axón de la neurona vuelva a crecer, incluso se puede prolongar más para mantener la conexión en zonas donde se hayan perdido neuronas, siempre y cuando el nuevo axón en degeneración lleve la misma vía preexistente, de lo contrario, su crecimiento será enmarañado y discontinuado y, en consecuencia, no funciona. El músculo estriado, tanto el cardíaco como el esquelético, tampoco tienen la capacidad de regenerarse después de una lesión, incluso, la reparación de éstos siempre es mediante tejido cicatrizal. El infarto al miocardio va seguido de forma casi inevitable por cicatrización. En los bordes del infarto no se encuentra actividad reproductiva en las células miocárdicas aún vivas, por lo tanto la reparación por tejido cicatrizal es característica en lesiones severas del músculo cardíaco. Las células permanentes perduran durante toda la existencia del organismo al que pertenecen, poseen un grado de complejidad muy alto, pero su capacidad regenerativa es nula. (Stanley y col, 2004; Márquez, 1994)

Actualmente se sabe que después de una lesión a tejidos, en las células del mismo existe una alta actividad mitótica y al mismo tiempo hay participación apoptótica, considerando ambos procesos como parte importante durante la

regeneración tisular. Estas observaciones fueron observadas al inducir daño en glándula sublingual de rata, provocando atrofia de la glándula al ser ligada por una semana. Posteriormente la ligadura fue retirada para que comience el proceso de regeneración. Marcadores celulares para detección de células en mitosis y en estado apoptótico y determinados por inmunohistoquímica, fueron detectados en cantidades estadísticas considerables en comparación con los controles utilizados. (Takahashi y col, 2005)

5.10.2.3 REGENERACIÓN PARENQUIMATOSA.

Se tiene que recordar que el parénquima está constituido por células del mismo tipo, que guardan la misma relación en función y estructura, así como en tamaño. (Stanley y col, 2004)

La pérdida de una parte de tejido permitirá la regeneración parenquimatosa hasta alcanzar el volumen normal del tejido o el órgano, así como la función normal y arreglo estructural entre las células. Hay que recalcar que la mayor parte del éxito de la reparación parenquimatosa depende, con mucho, de la habilidad que tienen las células para regenerarse. Otra característica que dicta también el éxito de la reparación es la preservación de la arquitectura o esqueleto del tejido lesionado, como por ejemplo, la conservación del estroma. Si el estroma se pierde, la reparación parenquimatosa será sólo parcial e incluso desordenada, y será conjunta con tejido cicatrizal, entonces esta reparación será imperfecta, ya que se perderá parte de la función normal del tejido u órgano al que pertenecen, esto es, se restituye masa, pero no la función completa. (Stanley y col, 2004)

En resumen, la perfección en la reparación parenquimatosa depende tanto de la capacidad regenerativa celular y la conservación del esqueleto y su arquitectura. Así que no siempre es posible una reparación parenquimatosa, pero se tiene la opción de reparación por tejido conectivo, que desgraciadamente no es perfecta, ya que no repone el parénquima perdido, pero que sin embargo repone la masa y volumen perdido con tejido cicatrizal como se explica a continuación. (Stanley y col, 2004)

5.10.2.4 REPARACIÓN MEDIANTE TEJIDO CONECTIVO.

La reparación mediante tejido conectivo se lleva a cabo cuando: no es posible la reparación parenquimatosa por no contar con células con la habilidad para reproducirse, no se completa la reparación del parénquima en un tiempo razonable debido a que durante la lesión se destruyó gran cantidad de tejido, o cuando hay pérdida del estroma del tejido afectado. Esto da como consecuencia la formación de cicatriz, para la cual se desencadenan varios pasos previos como la proliferación de fibroblastos, depósito de colágena y formación de yemas capilares, que son las que van a generar una nueva vascularización como vía de aporte de nutrientes necesarios durante la reparación, proceso conocido como (angiogénesis). (Stanley y col, 2004)

La cicatrización es un método eficaz de reparación, pero por desgracia, y como ya se indicó, existe pérdida de la función especializada del parénquima. (Stanley y col, 2004)

Por ejemplo, en el caso de una lesión en la epidermis, si esta es causada por un traumatismo mecánico grave (una lesión causada por un objeto punzocortante o por una quemada severa), que no da tiempo a la reparación parenquimatosa a pesar de que la piel cuente con células de reserva de alta proliferación, entonces se formará una cicatriz. Dicha cicatriz está formada por fibroblastos que no tienen la capacidad funcional como lo tiene la epidermis, sin embargo, la cicatriz cumple con la función protectora. En el caso de que el hígado lesionado haya perdido parte del estroma, entonces habrá regeneración parenquimatosa, pero con crecimiento y desarrollo desordenado, dejando algunos huecos y deformando el contorno normal del órgano, no obstante, respetando el volumen normal hepático. Los huecos que no se llenaron son ocupados por cicatriz, que sirve para unir a los hepatocitos, pero sin la capacidad funcional de los mismos. En otro caso, la pérdida de músculo estriado trae como consecuencia la sustitución por cicatriz resistente, pero sin la capacidad de contracción y pérdida funcional del tejido. Si hablamos de tejido muscular cardíaco, después de sufrir lesión miocárdica por isquemia, los miocitos necrosados son sustituidos por cicatriz que no tienen la capacidad de contracción, por lo tanto el bombeo del corazón es insuficiente, y podría ocasionar, a la larga, muerte por insuficiencia cardíaca. (Stanley y col, 2004)

La reparación ósea es, en sí, reparación mediante tejido conectivo. Los procesos son muy similares a la reparación del parénquima insuficiente, se siguen los mismos pasos que preceden a la lesión, como la inflamación, pero con la diferencia de que posteriormente, los fibroblastos y tejido mesenquimatoso del periostio y del endostio, adyacentes a la lesión, sufren transformación metaplásica (ver definición de metaplasia) en los tejidos conectivos adyacentes. Además, los osteoblastos y osteoclastos tendrán la tarea para seguir la formación celular donde se requiera y suprimir lo que no es necesario. La reparación ósea puede resultar tan perfecta que incluso en una radiografía tomada después de tiempo en el sitio de la lesión, no pueden observarse rastros de que alguna vez se tuvo alguna fractura o fisura del hueso. (Stanley y col, 2004)

Un caso especial de reparación es el del tejido nervioso, no existe en realidad reparación de neuronas, como ya sabemos, sin embargo, las lesiones suelen repararse, en el caso de haber perdido gran cantidad de masa de tejido, por el tejido glial, preferentemente por astrocitos. El tejido glial, presente únicamente en el sistema nervioso, es el equivalente al tejido conectivo. Los astrocitos proliferan y agrandan sus procesos celulares hasta llenar el hueco formado por la lesión. No secretan cantidad alguna de sustancias relacionadas con el colágena, así que la reparación es totalmente celular. (Stanley y col, 2004)

En general, la reparación mediante tejido conectivo se encargará de “rellenar” los espacios que no pueden ser reparados por el tejido parenquimatoso,

hasta completar el volumen requerido para tratar de mantener las dimensiones y la cantidad de masa iniciales perdidas durante la lesión. Esto se lleva a cabo a través de la mediación de factores de crecimiento y supresores, que se mencionarán a continuación. (Stanley y col, 2004)

5.10.2.5 MECANISMOS QUE PARTICIPAN EN LA REPARACIÓN.

Los mecanismos que participan en la reparación controlan de diferente forma la proliferación parenquimatosa y la formación de cicatriz hasta que se repare el daño. Para entender estos mecanismos de reparación es necesario detallar algunos de éstos, ya previamente se mencionó acerca de la clasificación celular en función de la capacidad que tienen para regenerarse. Ahora es importante conocer el por qué ciertas células tienen gran capacidad para reproducirse y por qué otras no, y bajo qué influencias se diferencian y adquieren las características que poseen. (Kiérszernbacáum, 2002; Stanley y col, 2004)

Aproximadamente, hace 530 millones de años, en el paleozoico, se dio la asociación de células para crear comunidades multicelulares con células de la misma especie. Para llevar una mejor vida comunal, se dieron las primeras señales químicas entre las células para afectar a otras y así obtener un cierto trabajo específico de alguna parte del organismo. Como consecuencia se dio la evolución de estos nuevos seres pluricelulares, tal que fue necesario la diferenciación y especialización en algunas zonas específicas del organismo multicelular. Desde entonces, estos nuevos organismos llegaron a convertirse en los primeros metazoarios, conformados por diferentes órganos y tejidos, con las características que ahora conocemos. Para la completa armonía de todos éstos componentes del organismo, las señales químicas se hicieron más sofisticadas, al grado de tener especificidad y función especial sobre las células a las cuales afectan. (Stanley y col, 2004; Márquez, 1994)

Ahora sabemos que las señales químicas que regulan diferentes funciones en cada célula, tejido u órgano pueden darse a tres niveles: **autocrina**, cuando cada célula secreta sustancias químicas que la afectan a ella misma, esto es, se afectan las células de forma individual. Aún, la misma sustancia, sin ser secretada, algunas veces puede afectar a la célula. Cuando las sustancias secretadas afectan a un grupo de células vecinas, se dice que actúan a nivel **parácrino**. Por último, cuando las sustancias secretadas entran a circulación y se dirigen a un órgano o tejido distante y de diferente naturaleza, y lo afectan, se dice que la acción es a nivel **endocrino**. (Stanley y col, 2004; Márquez, 1994; Murray, 1997)

Las sustancias que son secretadas por las células, y que actúan en cualquiera de los niveles autócrino, parácrino o endocrino, son conocidas como citocinas, entre las cuales destacan: interferones (interfieren con la replicación viral), factores de estimulación de colonias y **factores de crecimiento** (estimulan el desarrollo de células y/o tejidos blanco), interleucinas (actúan como mensajeros entre los leucocitos). (Stanley y col, 2004; Márquez, 1994; Murray, 1997)

Los factores de crecimiento son de gran importancia durante la reparación de los tejidos, entre ellas se encuentran algunas citotrofinas, que son las que estimulan el desarrollo de células blanco, estas actúan generalmente sobre receptores de membrana, dando la señal y activando a segundos mensajeros, que a su vez generan fosfatos de alta energía, los cuales actúan sobre el núcleo estimulando la replicación y multiplicación de organelos celulares. Por esto se dice que estas sustancias son mitógenas. Las sustancias secretadas son, en general, de tipo hormonal, crean diferentes efectos sobre células con receptores específicos. Algunos factores de crecimiento pueden ser negativos, esto quiere decir que detienen el estímulo desencadenante de replicación celular, son entonces sustancias supresoras de crecimiento. (Stanley y col, 2004; Márquez, 1994; Murray, 1997)

Los seres pluricelulares contienen programas de diferenciación y longevidad, según los genes reguladores que contienen, los que a su vez son regulados por los diferentes factores de crecimiento. La culminación del objetivo programado para ciertas células con reproducción constante (como las células lábiles) termina con la degradación natural de cada una de ellas, degradación conocida como apoptosis. Se sabe que cuando algunas células estables, al enfrentarse ante alguna infección por ataque viral, se activa el mecanismo de apoptosis cuando la célula no tiene escapatoria de librar la batalla ante el agente extraño. Esto mediado por los diferentes tipos de citocinas. (Stanley y col, 2004; Márquez, 1994; Murray, 1997)

En teoría, uno de los factores que estimulan la reparación celular son las hormonas estimulantes y factores de crecimiento, provocando la proliferación parenquimatosa, proliferación del tejido epitelial o del tejido conectivo. El crecimiento celular es regulado y el estímulo cesa cuando se completa la reparación por volumen parenquimatoso y/o cicatrización, esto mediado por agentes inhibidores de crecimiento o por disminución en la concentración de citotrofinas. Si esto no fuera regulado, cada individuo que sufriera de alguna lesión tendría una reparación celular con crecimiento incontrolado, la reparación consistiría en una regeneración de células que no pararían de reproducirse, encontrándose individuos llenos de tumores por cada lesión que tuvieran. (Stanley y col, 2004; Márquez, 1994)

Técnicas actuales tratan acerca de la “ingeniería tisular”, que tiene como uno de los objetivos el repara tejidos, extendiendo su longevidad, prolongando su reproducción celular e incluso mejorando sus actividades funcionales. Se ha estudiado el uso de la telomerasa reversa transcriptasa humana (hTERT) de células inmortales. Se han creado cultivos celulares que sobreexpresan el gen de la hTERT. Sin embargo, una alta actividad de telomerasa permite también una elevada proliferación celular asociada a inestabilidades genómicas y riesgo de transformación celular maligna. Así que se debe encontrar una solución para q el uso de telomerasas sea seguro antes de emplearse en práctica clínica. Se está trabajando para el desarrollo condicional o intermitente de la activación de telomerasas. (Kassem y col, 2004)

Existen otras dos teorías que se cree intervienen en la regulación de la reparación. Una de ellas es la **interacción célula-célula** (inhibición por contacto), cuando se desarrolla crecimiento parenquimatoso, hasta alcanzar cierta densidad celular, las células, al rellenar los huecos dejados por células muertas y tener contacto entre ellas se crea una inhibición de crecimiento por contacto. Un experimento consiste en sembrar células en cajas de Petri. Las células proliferan, migran y forman una sola capa celular. En el momento en el que las células entran en contacto, al llenar los huecos, las células dejan de reproducirse, apareciendo la inhibición de crecimiento dependiente de la densidad. (Stanley y col, 2004)

La **interacción célula-matriz** es otra teoría que resulta también importante en la regulación del crecimiento celular y desarrollo de cicatriz. Se sabe que algunas sustancias secretadas durante la cicatrización como las fibronectinas, que son sustancias que permiten la adherencia de fibroblastos, son quimiotácticas a los mismos fibroblastos, monocitos y células parenquimatosas. Dichas sustancias disminuyen su concentración al cubrirse la demanda de reparación tisular, esto es, el movimiento y proliferación ordenada de las células están regulados no sólo por el contacto entre células, sino también entre el contacto que tienen las células y la matriz extracelular de una herida en cicatrización. (Stanley y col, 2004)

Entre los **factores que afectan la reparación** se encuentran los relacionados con el agente lesivo y con el huésped. Ya se mencionó acerca del impacto que tienen también la intensidad, duración y naturaleza del agente lesivo, así como el tipo de respuesta de la reacción inflamatoria. Entre las influencias generales, la edad resulta, por consiguiente, importante para la reacción de reparación que se va a tener. La respuesta de reparación en un niño es muy diferente a la de un adulto, y más todavía a la de una persona anciana. También las condiciones de nutrición determinan la calidad reparadora de un daño, una persona con desnutrición tendrá algunas deficiencias en su sistema de reparación celular al experimentar alguna lesión. Ciertas enfermedades pueden deteriorar la calidad de reparación, como por ejemplo alteraciones de sangre y la diabetes sacarina. Así mismo, algunos medicamentos pueden interferir con el mecanismo reparador, como lo hacen algunas hormonas glucocorticosteroides, excelentes para detener los procesos inflamatorios y el dolor, pero creando problemas en los procesos de regeneración por inhibición de angiogénesis (que proporcionarían citotrofinas, aporte nutricional y oxígeno) y disminución de células del paquete blanco que intervienen en los procesos inflamatorios normales y que preparan la reparación. Entre las influencias locales, el aporte sanguíneo resulta ser el más importante. Los cuerpos extraños adquiridos durante una lesión pueden interferir en la acción reparadora, por lo que muchas veces es necesario removerlos, ya sea lavando las heridas o esperando la remoción natural, que se lleva a cabo como eliminación por acción enzimática. Algunas veces es importante inmovilizar las lesiones, como las fracturas óseas, para que la acción reparadora pueda realizarse de la mejor manera. Por último, es importante saber localizar la lesión y de qué tipo de células está conformada la región afectada. (Stanley y col, 2004)

En fin, los mecanismos de reparación y los factores que la influyen son de especial interés en la actualidad. Diversas investigaciones han sido realizadas al considerar los mecanismos reparadores, en especial los factores de crecimiento. Ahora se sabe de los riesgos que se pueden tener cuando las células escapan del control que ejercen los factores de crecimiento, o cuando éstos no cesan de seguir actuando. El Cáncer es una enfermedad muy relacionada a estos problemas. El tema de Neoplasia es la mejor explicación que se puede dar cuando surge el descontrol de la inducción de los factores de crecimiento.

5.10.3 NEOPLASIA.

Neoplasia significa literalmente crecimiento nuevo o nueva formación. Proviene de la voz griega *neo*/nuevo y *plassein*/forma, y es precisamente una manifestación tisular que tiene un crecimiento nuevo similar o totalmente diferente al tejido del cual forma parte o del que se originó. La nueva masa anormal formada se conoce como tumor. Anteriormente se denominaba tumor, de manera indistinta, a cualquier prominencia anormal de un tejido, por lo que una simple hinchazón de un tejido, que pudiera haber sido originado por un golpe, se le denominaba tumor, de ahí que se le reconoció como una tumefacción (sabemos que la tumefacción se da por los mecanismos normales de inflamación, en la cual escapan; suero y a veces sangre por capilares, vénulas y arteriolas, provocando así hinchazón en el área afectada). Actualmente un tumor se denomina a los diferentes tipos de neoplasias que se pueden encontrar en un órgano o tejido. (Stanley y col, 2004; Mateos, 1984)

Se sabe que las neoplasias son producto de un desarrollo anormal y en cierta forma descontrolada, de células que debido a diversos factores que estimulan su transformación, muchas veces favorecido por cambios en sus programas genéticos normales, o también en el desarrollo erróneo de dichos programas desde el inicio de la diferenciación durante el desarrollo fetal, conocido como alteración epigenética. (Franks, 1998; Stanley y col, 2004)

La atención prestada a las neoplasias es debida a que muchas veces son el origen de proliferaciones tumorales malignas, denominadas cánceres. El cáncer sigue siendo considerado como una de las enfermedades más peligrosas de todos los tiempos. Así mismo, la proliferación de tumores, denominados benignos, son también neoplasias, que también participan como parte de un problema patológico, y a pesar de no ser malignas, pueden crear también serios problemas de salud, y muchas veces igualmente peligrosas a las neoplasias malignas, incluso existe la ligera sospecha de que estas lesiones “benignas” pudieran transformarse en neoplasias malignas. La transformación de células normales a neoplásicas y su continua proliferación, pudiera llevar una secuencia, en donde, la célula, por diversos factores, sea obligada a transformarse, y pudiendo pasar por etapas proliferativas, que a su vez pueden evolucionar a etapas proliferativas neoplásicas. (Stanley y col, 2004; Underwood, 2004)

En términos generales, los tumores compuestos por células parenquimatosas presentan el sufijo *-oma* cuando son tumores benignos, mientras que los cánceres se denominan *-sarcomas*. Por ejemplo, un lipoma denomina un tumor benigno del tejido adiposo, mientras que el liposarcoma es la tumoración maligna del mismo tejido. Para el caso de tumores de origen epitelial, se denominan *adenomas* para tumores benignos glandulares y *carcinomas* o *adenocarcinomas* para las lesiones malignas glandulares, por ejemplo, para tumores quísticos se denomina cistadenoma cuando el quiste es benigno, y cistadenosarcoma cuando es maligno. No obstante algunas terminaciones son mal empleadas, como lo podría ser un linfoma, que es una lesión maligna de las células linfocíticas, pero que sin embargo la terminación no denomina esa malignidad. (Stanley y col, 2004; Enzinger y col, 1983)

5.10.3.1 PROLIFERACIÓN CELULAR NO NEOPLÁSICA.

Debe hacerse una distinción entre una proliferación neoplásica y una no neoplásica. Se debe de recordar que un factor estresante puede provocar cambios en las células, quienes buscarán la forma de sobrevivir. La atrofia y la hipertrofia son dos características adaptativas de las células, y que tienen que ver con la disminución o aumento del volumen de la célula respectivamente, pero son adaptaciones no proliferativas. Por otro lado, existen estados adaptativos en los cuales existe proliferación celular, esto en respuesta ante un estrés y mediada por ciertos factores estimulantes, como factores de crecimiento u hormonas, que sabemos actúan mediante los diferentes tipos de comunicación celular que existen (autócrino, parácrino y endocrino). (Stanley y col, 2004)

Las proliferaciones no neoplásicas pueden compensar una demanda fisiológica normal, pero si esta proliferación continúa, entonces pueden escapar de control proliferativo y transformarse en un serio peligro con probable formación neoplásica. Se puede decir que la proliferación no neoplásica es una proliferación controlada y un estado adaptativo celular. En cambio, las proliferaciones celulares que escapan de control son el origen de una neoplasia. Existen diversas formas de proliferación celular, de las cuales a continuación se definirán algunas de las características de cada una de éstas. (Stanley y col, 2004; Underwood, 2004)

5.10.3.1.1 HIPERPLASIA.

La hiperplasia se caracteriza por el incremento en el número celular de un tejido u órgano (Fig.11-1). Los tejidos aumentan también de tamaño, pero a diferencia de la hipertrofia, las células no aumentan de volumen, sólo en número. La hiperplasia puede ser fisiológica como estado compensatorio u hormonal, adaptativo a una lesión o estrés constante, pero puede manifestarse también como un cambio patológico, mismo que puede representar un terreno peligroso si la proliferación celular comienza a descontrolarse. (Stanley y col, 2004; Underwood, 2004)

En el caso fisiológico-hormonal del sexo femenino es posible ver a un útero, en el que las células musculares lisas incrementan su número debido a estimulación estrogénica durante los inicios de la pubertad. Cuando el útero está en estado grávido, se manifestará también un aumento de células del músculo liso, pero además también sufrirá de hipertofia, en respuesta a la cantidad de esteroides presentes en sangre (estrógenos y progesterona), creando así un aumento en el volumen del útero y preparando el ambiente para el neonato que se alojará dentro de él. Así mismo, los estrógenos estimulan la proliferación glandular del endometrio (Fig.11-1-a), y cuando cesa este estímulo después de la menstruación, la proliferación glandular cesa como desarrollo controlado. Si después de la etapa menstrual continúa la acción estrogénica por efecto de algún tumor ovárico que no deje de sintetizar tal hormona, o si se tiene un abuso en el consumo de fármacos estrogénicos (anticonceptivos), ya sea por terapia de sustitución o por control natal, la proliferación glandular del endometrio continuará, con el riesgo de presentar posteriormente un crecimiento descontrolado como estado patológico (Fig.11-1-b). Lo mismo sucede en efecto que produce la testosterona en el individuo del sexo masculino al inducir hiperplasia en la próstata, si el estímulo hormonal persiste, la hiperplasia prostática se convierte en una estado patológico de alarma. (Stanley y col, 2004; Kurman y col, 1989)

El estado fisiológico-compensatorio se presenta cuando se requiere mayor número de células específicas por la pérdida irreparable de otras. Por ejemplo, al extirpar un riñón, en el riñón que quedará en el individuo, las células epiteliales tubulares incrementarán su número, aumentando así el tamaño de las nefronas (pero no creando nefronas nuevas), como cambio compensatorio a la nueva demanda de trabajo del riñón. Estos cambios se dan para compensar la demanda de trabajo que tendrá el riñón restante. El resultado es el aumento de volumen del órgano, así como un incremento en su actividad funcional. (Stanley y col, 2004)

Un estado adaptativo de la hiperplasia se presenta, por ejemplo, cuando se tiene un desgaste epitelial en la palma de la mano después de realizar un trabajo pesado, si el desgaste es constante, las células basales del epitelio aumentarán su actividad mitótica, incrementando así el número de células para compensar las que se han perdido. La hiperplasia se manifestará de forma muy acelerada, y dará lugar a la formación del callo, compuesto por un cúmulo abultado de células queratinizadas en las zonas de mayor desgaste, lo mismo sucede en las plantas de los pies después de caminar mucho con calzado de suela dura. (Stanley y col, 2004)

La hiperplasia es característica de las células que tienen actividad mitótica alta o que son sensibles a agentes mitógenos. Las células permanentes como neuronas o tejido muscular estriado, las cuales se sabe que nunca entran a la fase M debido a un bloqueo en la fase G₂ de su ciclo celular, no sufren hiperplasia, pero si lo hacen las células lábiles e incluso las estables. En estado patológico, la hiperplasia puede traer como consecuencia cambios en la estructura y función celular. En casos más avanzados, la hiperplasia puede concurrirse con otros estados proliferativos como la metaplasia o displasia, preparando el terreno para la posible aparición de neoplasias. (Stanley y col, 2004; Underwood, 2004)

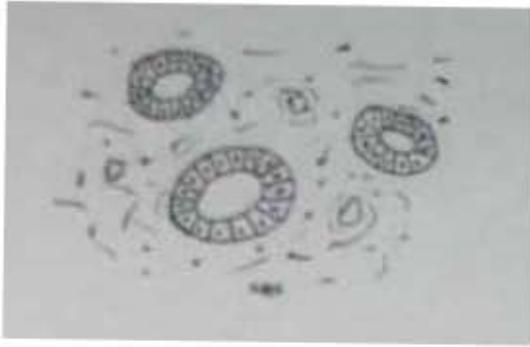


Fig. 11-1-a. Glándulas endometriales en estado proliferativo normal. Nótese la forma de cada glándula que forma un anillo regular.

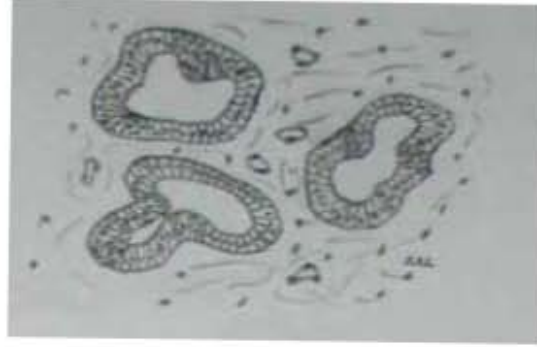


Fig. 11-1-b. Endometrio hiperplásico (patológico). Las glándulas están deformadas y contienen un aumento en el número celular, lo que ocasiona cúmulos de ellas en algunas zonas.

Fig. 11-1. Comparación entre células normales e hiperplásicas.

5.10.3.1.2 METAPLASIA.

La metaplasia es un cambio adaptativo de la célula debido a un estrés, siendo su función la de proteger o hacer más resistente al tejido. Este cambio se manifiesta por un crecimiento anormal de las células, pero en cierta forma controlado. El crecimiento de dichas células consiste en la sustitución de un tipo de célula adulta o completamente diferenciada por otro tipo de celular. La transformación metaplásica es, en la mayoría de los casos, ordenada, conservando la arquitectura y volumen de tejido. No obstante, dicha transformación que ahora brindará mayor protección ante el estrés inducido, tiene ciertos inconvenientes, como la pérdida de muchas funciones específicas de las células originales en las zonas afectadas. (Kiersznerbacum, 2002; Stanley y col, 2004)

La mayoría de las veces la metaplasia se presenta en células epiteliales y en fibroblastos. Generalmente es un cambio adaptativo reversible, excepto para la transformación fibroblástica, que es irreversible. Es importante mencionar que la transformación metaplásica en células epiteliales no se da por conversión de una célula adulta a otra de diferente tipo, si no que más bien la transformación comienza en las células de reserva del epitelio, transformándose entonces por nuevas vías de diferenciación, gobernadas tal vez por el estímulo estresante y las citocinas presentes que propicien dichos cambios. (Stanley y col, 2004; Fentanes y col, 1990)

Un ejemplo muy claro se presenta en los fumadores. Los bronquios y bronquiolos, que presentan un epitelio columnar, ciliado, pseudoestratificado con exocricitos caliciformes secretoras de moco, queda sustituido por tejido epitelial escamoso estratificado más resistente, sin embargo la secreción de moco y el movimiento ciliar protectores, normales en el epitelio cilíndrico, en tejido metaplásico se pierden (Fig.11-2). Al principio, el cambio adaptativo permitirá soportar el estrés inducido en las vías respiratorias del fumador, sin embargo, con el tiempo sus vías respiratorias se volverán resacas y a veces se acompañará de

cierta dificultad para respirar, lo que puede ser un foco para el desarrollo de microorganismos patógenos, pudiendo entonces empeorar la situación para el fumador. Por otro lado, si el fumador cesa su actividad a tiempo, el tejido puede recobrar sus células normales originales (transformación reversible). Muchas veces la deficiencia de vitamina A (retinol) crea transformación metaplásica de tejido escamoso queratinizado en vías respiratorias, esto por razones desconocidas. De alguna manera la vitamina A protege el epitelio cilíndrico excretor de moco. Se sabe que la vitamina A tiene un efecto que ayuda a regenerar y mejorar las condiciones del tejido epitelial, sobre todo de las vías respiratorias. Esto explica el por qué de las grandes campañas de comercialización farmacéutica impulsando las ventas de vitaminas que contengan vitamina A, sobre todo en periodos invernales, cuando las enfermedades respiratorias aumentan en gran proporción en muchas poblaciones. (Stanley y col, 2004)

Los fibroblastos suelen sufrir transformación metaplásica a osteoblastos cuando ocurre una fractura ósea, pudiendo lograr la reparación total del tejido. Esta transformación resulta irreversible. El problema de éste tipo de transformación irreversible se presenta, por ejemplo, cuando se tiene una lesión en el miocardio, con pérdida de algunas fibras musculares. La reparación mediante tejido conectivo se hace presente, pero además, los fibroblastos que conforman dicho tejido conectivo pueden sufrir transformación metaplásica osteoblástica, dando lugar a una “miocarditis osificante”, poniendo en riesgo la vida del paciente por insuficiencia cardíaca. (Stanley y col, 2004)

La transformación metaplásica no representa ningún peligro funcional grave, pero si el estrés persiste, creando un ambiente más hostil y aumentando la irritación tisular, entonces la transformación celular comienza a tener patrones desordenados en cuanto a su arreglo estructural, algunas diferencias entre las formas y tamaños celulares, así como cambios nucleares como hipercromasia, discariosis o aniscariosis. Esta transformación se conoce como metaplasia atípica, la cual puede dar lugar a la transformación displásica, que se describe a continuación. (Allen y col, 2004; Stanley y col, 2004; Fentanes y col, 1990)

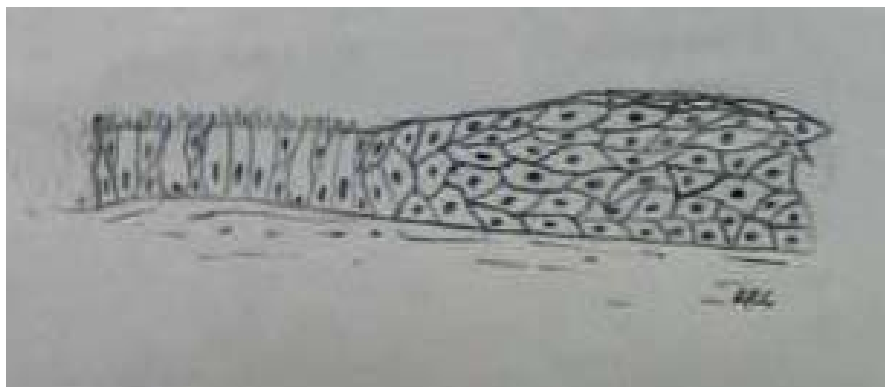


Fig. 11-2. Metaplasia.

Epitelio bronquial metaplásico. El lado izquierdo presenta epitelio normal del bronquio, conformado por células columnares, ciliadas y que se intercalan con exocriocitos caliciformes. Mientras, al lado derecho se aprecia el epitelio escamoso más resistente que sustituye al epitelio normal.

5.10.3.1.3 DISPLASIA.

La displasia resulta ser una proliferación no neoplásica en extremo desordenada, con pérdida de orientación celular, considerable anarquía arquitectónica y pérdida de la orientación estructural, así como cierta disfunción del tejido. A nivel celular se advierte acentuado pleomorfismo, elevada anisocariosis con núcleos anormalmente grandes, también con cierto pleomorfismo, muy hiper cromáticos y nucleolos prominentes. También es posible apreciar abundantes mitosis (Fig. 11-3). (Allen y col, 2004; Stanley y col, 2004; Fentanes y col, 1990)

La displasia se presenta generalmente en epitelios, pudiéndose mencionar a las vías respiratorias y cuello uterino, entre los casos más abundantes. También es posible observar degeneraciones displásicas también en cavidad bucal, y vesícula biliar. La displasia siempre va acompañada de irritación e inflamación y es precisamente una irritación crónica prolongada lo que generalmente crea los cambios displásicos. (Stanley y col, 2004; Fentanes y col, 1990)

En un epitelio displásico es común observar también pérdida de maduración del tejido, aún en estratos superficiales del epitelio. Las figuras mitóticas no suelen estar confinadas sólo en estratos basales, sino que pueden presentarse en todo el espesor del epitelio, incluso el estrato superficial. (Stanley y col, 2004; Fentanes y col, 1990)

No obstante que la displasia es un estado adaptativo reversible, siempre y cuando cese el estímulo desencadenante, en etapas más avanzadas, la displasia puede adquirir transformación neoplásica maligna, incluso hay un punto en el cual ya no es posible diferenciar una displasia severa de un carcinoma in situ, esto es, un cáncer epitelial en etapa inicial. Las causas de transformación maligna realmente se desconocen, pero se especula que el elevado número de mitosis y la acelerada reproducción celular pueden crear algunos errores genéticos o mutaciones, transformando aberrantemente a las células y haciendo que éstas además escapen de los programas de regulación de crecimiento. De esta forma, la displasia severa suele ser la frontera de la malignidad y es una llamada de atención en sus etapas iniciales. (Allen y col, 2004; Stanley y col, 2004; Fentanes y col, 1990)

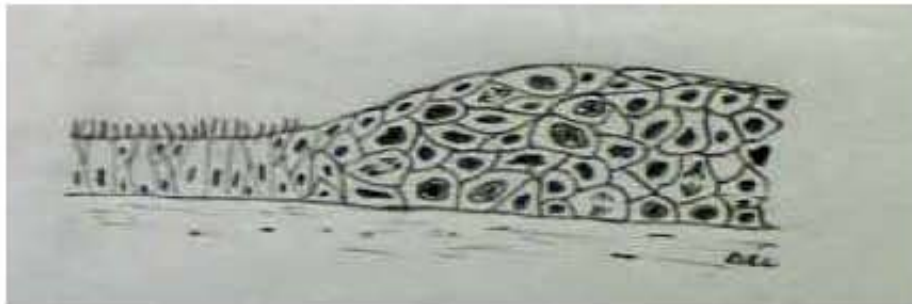


Fig. 11-3. Displasia.

Epitelio bronquial displásico. El lado izquierdo conserva las características epiteliales normales del bronquio, pero el lado derecho está conformado por células displásicas, las cuales presentan tamaños grandes con núcleos también anormalmente agrandados con elevada discariosis. Se observan algunas mitosis.

5.10.3.2 PROLIFERACIÓN CELULAR NEOPLÁSICA.

Dentro de todas las formas de proliferación celular, la proliferación neoplásica resulta ser la más temida de todas. Debido a que éste tipo de proliferación escapa totalmente de los controles de crecimiento celular, esto conlleva a el surgimiento de los tumores. La Oncología [del griego *oncos*/ tumor y *logos*/tratado] es la rama de la medicina que se encarga del estudio de los tumores, tanto “benignos” como malignos (cánceres). (Stanley y col, 2004; Mateos, 1984)

El término benigno sólo denota la relativa baja peligrosidad del tumor. Una tumoración benigna se encuentra generalmente bien delimitada, muy rara vez alcanza grandes dimensiones, su origen histológico es fácilmente reconocible, ya que presenta alta diferenciación, o sea que semeja muy bien a las células que lo originaron, no invade otros tejidos, no se disemina, puede disminuir de tamaño o incluso desaparecer al haber menor aporte de nutrientes y/o factores de crecimiento. Sin embargo, a veces pueden crear cuadros clínicos serios en algunos pacientes, ya que pueden estrangular y obstruir una vía de circulación importante. Existe aún la duda de que las neoplasias benignas puedan sufrir transformación maligna. Debido a otras posibles consecuencias clínicas de importancia que puedan generar estas neoplasias, la designación de “benigno” no es otra cosa que una simple clasificación de la neoplasia con las características antes mencionadas. Por otro lado, las neoplasias malignas resultan ser los crecimientos tumorales más peligrosos, mejor conocidos como Cáncer. (Stanley y col, 2004; Enzinger y col, 1983)

Existen ciertas características que determinan si una neoplasia es benigna o maligna, pero dos resultan de gran importancia: La proliferación del parénquima, que es la más importante y la otra es la constitución del estroma o tejido de sostén. En el parénquima se determina la diferenciación que tienen sus componentes celulares o mejor dicho, el grado de anaplasia que presentan, con esto es posible dar un pronóstico, la peligrosidad del tumor y si tiene capacidad de invasión. Por parte del estroma, la capacidad que éste tiene para encapsular el tejido neoplásico nos ayudará, en cierta forma, a saber si habrá invasión o no a otros tejidos. Sin embargo, y como ya se mencionó, la probabilidad de invasión de un tumor se basa más en sus características parenquimatosas, que en las del estroma. Lo esencial, no obstante, es considerar el comportamiento del conjunto parénquima-estroma para pronosticar si existirá diseminación y metástasis de células tumorales. (Stanley y col, 2004)

El ritmo de crecimiento y la progresión tumoral son otras características de las proliferaciones neoplásicas que interesan, ya que afectan también de forma directa el comportamiento de una neoplasia. (Stanley y col, 2004; Underwood, 2004)

5.10.3.2.1 DIFERENCIACIÓN Y ANAPLASIA.

Diferenciación y anaplasia son características que se encuentran únicamente en células parenquimatosas (Fig.11-4) y son éstas últimas las que constituyen el fondo común y el volumen de la mayoría de las neoplasias. ^(Stanley y col, 2004)

Se define a la diferenciación como el grado al cual las células del parénquima semejan a sus ascendientes normales, tanto morfológica como funcionalmente. Sabemos que la diferenciación celular de los organismos celulares, ya sea en células lábiles, estables o permanentes, comprenden la expresión de ciertos programas genéticos y la represión de otros. Tal es el motivo por el cual las células lábiles y estables tienen activo el programa de replicación a diferencia de las células permanentes, que lo tienen reprimido. En el caso de las neoplasias, los programas genéticos de replicación pueden reactivarse y pueden iniciar un patrón de crecimiento celular y a la vez mantener la diferenciación celular, incluso en células permanentes. ^(Stanley y col, 2004)

Las neoplasias benignas se caracterizan por que las células del parénquima son bien diferenciadas y semejan en forma estrecha a sus contrapartes normales. Mantienen la misma función, solo que pueden ser un poco más grandes. El crecimiento de estos tumores mantiene un arreglo ordenado y llegan hasta cierto límite. No hay escape de células hacia otros tejidos adyacentes, las mitosis presentes son muy escasas y tienen configuración normal. Las células de las neoplasias benignas no logran diferenciarse más y mueren, manteniendo el tamaño del tumor de forma controlada. Si un tumor de carácter benigno se presenta en glándulas endocrinas, las células neoplásicas suelen elaborar las mismas hormonas que sus contrapartes normales, así que en cuanto a función y composición bioquímica, éstas mantienen patrones normales. ^(Stanley y col, 2004)

Algunas neoplasias malignas mantienen células bien diferenciadas del parénquima, mantienen incluso la función y la composición bioquímica normal. Este tipo de neoplasias malignas son las que designan a los cánceres bien diferenciados (Fig. 11-4-a). De esta manera podemos decir que la diferenciación celular de una neoplasia está en relación directa en la retención de la capacidad funcional normal. ^(Stanley y col, 2004; Underwood, 2004)

Por otro lado, en los casos de neoplasias en donde la diferenciación se ha perdido tendremos patrones de comportamiento totalmente distintos. La anaplasia se refiere a la pérdida de diferenciación de las células del tejido que formaban parte. Literalmente anaplasia significa "en retroceso", como si las células fueran desdiferenciándose hasta llegar a ser células relativamente inmaduras con alta capacidad replicativa y que escapan completamente de los programas de control de crecimiento, con pérdida funcional normal y cambios fenotípicos importantes, así como diferencias en los perfiles enzimáticos normales, cambios en vías de especialización metabólica y "simplicidad" funcional. La realidad es que estas células, denominadas anaplásicas, no se desdiferencian, si no que más bien las células nuevas adquieren un menor grado de diferenciación o lo pierden

totalmente, por lo que es más correcto decir que se forman células indiferenciadas. Por ésta razón, la anaplasia realmente proviene de células de reserva, en las cuales ocurrió alguna alteración genética (o incluso epigenética) y no llegan a diferenciarse más. (Franks, 1998; Stanley y col, 2004)

Las células anaplásicas muestran notorio pleomorfismo, así como anisocariosis e hiperchromasia abundante, el núcleo suele ser raro y aberrante, la relación núcleo-citoplasma puede ser 1:1, en lugar de 1:4 o 1:6 normal. Se encuentran nucleolos prominentes, abundantes mitosis y muchas de ellas con atipia distintiva, con husos anárquicos y múltiples, con formas tri o cuadripolares, con fracciones mitóticas anormalmente grandes y otras extremadamente pequeñas. Las células suelen ser muy grandes, el citoplasma suele presentar filamentos abundantes de actina y miosina, así como microtúbulos de tubulina (Fig.11-4-b). Esto hace que las células anaplásicas desarrollen la propiedad de movilidad que contribuye a su capacidad de invasión a otros tejidos. (Allen y col, 2004; Stanley y col, 2004)

La anaplasia resulta crítica en la caracterización de una neoplasia, el grado de malignidad y la agresividad que tiene una neoplasia es directamente proporcional al grado anaplásico que presentan las células tumorales. La determinación del origen del tumor muchas veces dicta si éste tiene la potencialidad para que los tratamientos tengan o no éxito y cual es la mejor forma de atacarlos. Así que los tumores con elevada anaplasia casi siempre darán los peores pronósticos en cuanto a su comportamiento, a diferencia de las neoplasias bien diferenciadas, que nos presentan todas las características celulares de las cuales se originaron. (Stanley y col, 2004; Underwood, 2004)

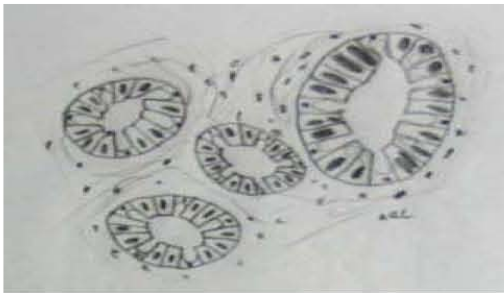


Fig. 11-4-a. Tejido bien diferenciado.

Carcinoma bien diferenciado del colon. Se observan tres glándulas normales del lado izquierdo. En la parte superior derecha se encuentra una glándula cancerosa, agrandada. Está conformada por células más grandes que sus contrapartes normales, pero que sin embargo las semejan e incluso cumplen con las mismas funciones metabólicas.

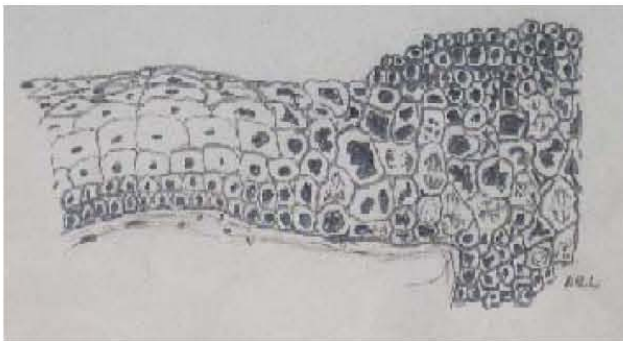


Fig. 11-4-b. Tejido anaplásico.

Carcinoma invasor de la mucosa del cuello uterino con elevada anaplasia (indiferenciado). En el extremo izquierdo el epitelio es escamoso plano estratificado, características normales propias del tejido. Compárese con el lado derecho en el cuál se presentan células neoplásicas aberrantes con pleomorfismo elevado y abundantes mitosis. Nótese la pérdida de maduración ordenada en la parte superior derecha, así como la invasión a tejidos adyacentes en la parte inferior del mismo lado. Las células neoplásicas no guardan relación alguna con sus contrapartes normales.

Fig. 11-4. Comparación entre diferenciación y anaplasia.

5.10.3.2.2 RITMO DE CRECIMIENTO Y PROGRESIÓN TUMORAL.

Dadas las características generales de las neoplasias benignas y malignas, las primeras se sabe que tienen un crecimiento lento, mientras que las últimas tienen un desarrollo rápido, pero esto resulta ser tan sólo una generalización, ya que hay excepciones. Las neoplasias benignas del tejido muscular liso, conocidos como leiomiomas, presentes en el miometrio (en el útero), son un buen ejemplo de tumores benignos que crecen con bastante rapidez, ya que responden a las concentraciones hormonales, cuando hay embarazo, la concentración hormonal aumenta y promueve la acción de factores de crecimiento que inducen a la hiperplasia e hipertrofia del miometrio, y por lo tanto también actuará sobre los leiomiomas presentes, a pesar de que son tumoraciones benignas, y aumentarán tanto en masa como en número celular en un tiempo muy corto. Cuando la concentración hormonal decae, como en el caso de la menopausia, los tumores pueden sufrir atrofia y terminan por sufrir calcificación o tal vez hasta desaparezcan. El uso de antiesteroides, la extirpación quirúrgica de las gónadas o de suprarrenales ayudan a lentificar el crecimiento tumoral de neoplasias que dependen del aporte hormonal esteroide. Por otro lado, algunas neoplasias malignas suelen crecer de forma lenta, aunque son casos muy raros. (Stanley y col, 2004; Kurman y col, 1989)

El aporte sanguíneo y la presión son otros factores importantes que afectan la cinética de crecimiento del tumor. Se sabe que muchos tumores desencadenan factores angiogénicos que ayudan a la formación de neovascularización, y con esto se aumenta el aporte sanguíneo y por lo tanto el aporte de nutrientes al tumor. Desgraciadamente algunos macrófagos, así como las células cebadas, se van acumulando cerca de las neoplasias y fomentan también la producción de agentes angiogénicos. Por otro lado, se ha comprobado que algunas sustancias químicas como la heparina, en combinación con cortisona, tienen efecto antiangiogénico. De esto se ha aprovechado para el desarrollo de nuevos tratamientos de algunas neoplasias, la quimioterapia que consiste en usar corticosteroides, los cuales inhiben el crecimiento de neovascularización y son considerados como agentes antiangiogénicos, dando el efecto resultante de atrofia del tejido tumoral e incluso necrosis, ya que inhiben por completo la formación de capilares sanguíneos alrededor del tumor y por lo tanto disminución de aporte nutricional y oxígeno. (Stanley y col, 2004; DeVita, 2003)

Se sabe, de acuerdo a varias observaciones realizadas en el comportamiento tumoral, que las neoplasias son, en su mayoría, de origen monoclonal, esto quiere decir que provienen de una sola célula. Existen pocos casos en los cuales los tumores son de origen policlonal. Al ser la mayoría de origen monoclonal, quiere decir que solo una porción cromosómica, digamos, en el caso de una mujer (que sabemos que su formación cromosómica es XX, una por aporte materno [X_{madre}] y la otra por aporte paterno [X_{padre}]), solo la fracción X_{madre} o la fracción X_{padre} será la que dé origen a la alteración cromosómica para el

desarrollo de una neoplasia. Para el caso especial de una neoplasia de origen policlonal, ambos cromosomas X_{madre} y X_{padre} podrían desencadenar la alteración cromosómica. Considerando entonces, que la mayoría de las neoplasias son de origen monoclonal, se tiene que tomar en cuenta el tiempo de duplicación de la célula y su progenie, la fracción de células acumulativas que permanece viable y en vías de replicación, y el ritmo al que las células mueren y son reemplazadas en la lesión de crecimiento. Hay que agregar que el tiempo de duplicación de células es muy variable, pero generalmente es más rápida en células tumorales que en las células normales. Con esto se cae en la cuenta de que realmente el crecimiento de una neoplasia debe llevar mucho tiempo. Así, un cáncer manifiesto en etapas tempranas (aún cuando este no muestre datos clínicos evidentes) es, de hecho, la manifestación de un crecimiento que ya lleva mucho tiempo (incluso años o tal vez decenios de crecimiento y evolución). (Stanley y col, 2004; Osteen y col, 1990)

También el grado de diferenciación celular, como ya se había mencionado, es otro factor que afecta el ritmo de crecimiento tumoral. Los tumores bien diferenciados generalmente tienen un desarrollo relativamente lento, en comparación con aquellos que presentan elevada anaplasia, mismos que además son potencialmente invasores y que favorecen la metástasis y la heterogeneidad celular. (Stanley y col, 2004; Osteen y col, 1990)

La heterogeneidad celular de una neoplasia entonces, también es influyente en el ritmo de crecimiento tumoral y de su progresión. Aunque la mayoría de los cánceres son de origen monoclonal, muchas veces se forman diferentes subgrupos tumorales en un mismo crecimiento neoplásico, sobre todo si éste ya está bien desarrollado, creando la heterogeneidad celular que se menciona, donde cada subgrupo del clon tumoral tiene diferentes capacidades y funciones. Así puede haber subgrupos celulares que tengan la capacidad de invasión, células con capacidad de dar metástasis, otras que sean resistentes a fármacos antineoplásicos, unas con variadas respuestas a factores de crecimiento o con variedad de receptores desarrollados para ellos y otras con ritmos de crecimiento diferentes, ya sea con ciclos celulares más cortos o con lapsos de vida más largos. En fin, conforme las células tumorales van ganando ventaja selectiva y haciéndose cada vez más vigorosas, las características tumorales varían y van adquiriendo atributos y comportamientos independientes, esto es, adquieren su propia autonomía con comportamientos “anárquicos”, aunque más bien es simplemente la ventaja selectiva que adquieren. (Stanley y col, 2004; Osteen y col, 1990)

El incremento mutacional en los subgrupos celulares malignos favorecen las diferencias que se van presentando en los cariotipos de cada subgrupo celular. Así se explica la variabilidad y la heterogeneidad que se presentan en dichas células, sin importar que sean de origen monoclonal, y a esto es a lo que se le conoce como *progresión tumoral*, que afecta también el ritmo de crecimiento tumoral. (Stanley y col, 2004; Osteen y col, 1990)

5.10.3.2.3 ENCAPSULACIÓN E INVASIÓN.

Todas las neoplasias benignas permanecen localizadas en su sitio de origen, no tienen la capacidad de invadir tejidos adyacentes ni mucho menos de diseminarse a sitios distantes, además la mayoría de estas neoplasias se encuentran rodeadas por una envoltura fibrosa y compacta de tejido conectivo, a la cuál se le conoce como cápsula, quizá derivada principalmente del estroma. Esto hace que el tumor se encuentre confinado, evitando así la expansión del parénquima tumoral. Existen ciertas tumoraciones benignas como los leiomiomas, que se encuentran en el músculo liso del útero, que apenas y desarrollan una túnica ligera de tejido conectivo o incluso, hay casos en que no cuentan con ésta y no desarrollan cápsula, pero aún así, su capacidad de invasión a tejidos adyacentes es nula. Sucede también con los lipomas, que son tumores provenientes del tejido adiposo, que pueden desarrollar cápsula, pero hay ocasiones en que ésta se “rompe” y el tumor puede desarrollar algunos pseudópodos, que de todas formas, no invade tejido adyacente. De esta forma se afirma que las tumoraciones benignas no tienen capacidad invasiva, sin importar si desarrollan cápsula o no. (Stanley y col, 2004; Enzinger y col, 1983)

Si bien no debe pensarse que un tumor con falta de cápsula resulte ser maligno, es característico que las neoplasias malignas sean encapsuladas sólo parcialmente o simplemente no desarrollen cápsula, con lo que se favorece la capacidad de invasión hacia tejidos adyacentes. Aún así, las células malignas tienen capacidad invasiva, proceso que se realiza activamente por las características que han desarrollado las neoplasias malignas. (Stanley y col, 2004)

Al parecer existen tres pasos que participan en la invasión de tejidos por parte de las células tumorales malignas: primero es la fijación de las células malignas en el tejido, debido probablemente a que existen receptores de laminina en las células neoplásicas y que les permite fijarse. Posteriormente se sigue una proteólisis local, en la cual las células malignas comienzan a sintetizar proteasas, principalmente colagenasas que deshacen el estroma intersticial. Por último, la locomoción que poseen muchas células malignas les permite migrar hacia los tejidos circundantes. (Stanley y col, 2004; Osteen y col, 1990)

Afortunadamente existen ciertos tejidos de difícil acceso para las células malignas, como lo son el cartílago y las paredes arteriales, ya que al parecer poseen antiproteasas, además de que son tejidos altamente resistentes y compactos. (Stanley y col, 2004)

Durante la invasión de un tumor maligno a tejido adyacente, se puede observar que el mismo tumor hace muchas veces tracción con el tejido circundante, del cual se “agarra” infiltrando así el tejido normal, a diferencia de la formación de pseudópodos que se presenta en algunos tumores benignos y que finalmente no infiltra al tejido normal. (Stanley y col, 2004; Enzinger y col, 1983)

5.10.3.2.4 METÁSTASIS.

La metástasis, literalmente significa “cambio de lugar”, y es un término que proviene de la unión de las raíces griegas **meta-*.(mas allá) y **stasis-*.(estático), que determina la transposición o movimiento celular más allá de su sitio de origen. Una característica de las células malignas es la migración e implantación a tejidos distantes de donde se originaron para después sembrarse y diseminarse en su nuevo sitio. Esto es, las metástasis son implantes tumorales secundarios en tejidos remotos, que no guardan continuidad con el tejido tumoral de origen o primario. (Stanley y col, 2004; Osteen y col, 1990; Mateos, 1984)

No todas las células malignas tienen la capacidad de dar metástasis, sin embargo, ninguna neoplasia benigna tiene ésta propiedad. La metástasis comprende tres posibles vías: la siembra dentro de cavidades corporales, la diseminación linfática y la diseminación hematógena. Para todos estos casos, la metástasis va precedida por varias etapas, como: crecimiento progresivo y aumento de volumen tumoral, formación de neovascularización por promotores angiogénicos alrededor de la neoplasia, invasión de las células neoplásicas a tejidos adyacentes utilizando alguna o las tres vías de diseminación (cavidades corporales, vías linfáticas y vasos sanguíneos), desprendimiento y migración celular debido a las características de las células malignas (como se mencionará posteriormente, las células tumorales malignas tienden a perder la cohesividad entre ellas y tienen un aumento locomotor), embolización de la luz de la cavidad o conducto invadidos, supervivencia a través de la circulación, extravasación a vasos sanguíneos o linfáticos, evasión de las defensas del huésped y crecimiento progresivo. (Stanley y col, 2004; Osteen y col, 1990; DeVita, 2003)

Tal es la razón por la que órganos como el hígado o el pulmón puedan presentar varios focos tumorales diseminados por todo el órgano, debido a salida de células tumorales malignas a través de la cavidad peritoneal en caso de cáncer de hígado, y la pleura para el caso de cáncer de pulmón. Existen varios casos de formación tumoral en ganglios linfáticos adyacentes al tumor maligno primario, como en el caso de tumoración maligna en mama y que suelen formarse metástasis a ganglios axilares adyacentes. Los casos más extremos incluyen la aparición de otro tumor maligno en otro órgano muy distante al órgano donde se originó el tumor primario, debido a diseminación hematógena, sobre todo por venas (ya que las arterias resultan más resistentes a la posible extravasación celular). La probabilidad de invasión hematógena está en relación directa con el grado anaplásico del tumor primario. (Stanley y col, 2004; Osteen y col, 1990; Franks, 1998; Kurman y col, 1989)

Son muchas las causas que participan para que se dé lugar la metástasis, y es exclusiva de las tumoraciones malignas. Es por esto que la metástasis resulta ser la parte más temida de un cáncer, más aún que la misma invasión. Es importante mencionar que existe cierta correlación directa en el grado de anaplasia, el volumen de la tumoración y la alta vascularización con el desarrollo de invasión y metástasis tumoral. Ciertas características de las células cancerosas

explican el comportamiento que exhiben los tumores malignos. (Stanley y col, 2004; DeVita, 2003; Osteen y col, 1990; Franks, 1998)

Actualmente se pretende caracterizar a las células tumorales que se han diseminado para diferentes tipos de cáncer. Por ejemplo, se ha caracterizado a células tumorales en médula ósea y que son provenientes de cáncer de mama. Caracterizar distintas células tumorales diseminadas en diferentes tejidos puede ayudar a mejorar los tratamientos terapéuticos en casos de cáncer con peligro o tendencia a la diseminación, así como se podrá proveer un mejor entendimiento en la biología de la metástasis. (Schindlbeck y col, 2005)

5.10.4 CÁNCER.

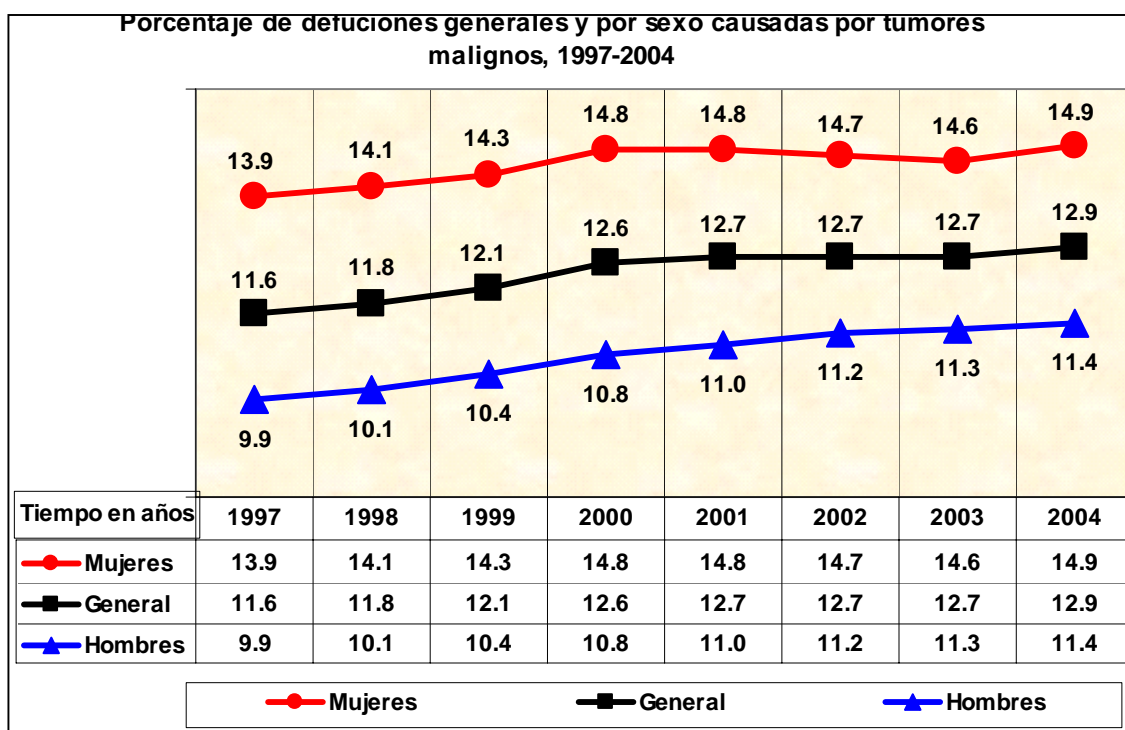
El cáncer representa una de las causas más importantes de muerte por enfermedad en todo el mundo (el primer lugar lo ocupan las enfermedades cardiovasculares), se mantiene como una de las enfermedades más temidas, a pesar de que se ha mejorado la esperanza de vida en pacientes con cáncer cuando se logra detectar a tiempo y se brinda la terapia adecuada. Aunque actualmente se tiene un mayor número de casos de cáncer, estos van en proporción al aumento en la longevidad del ser humano y al aumento de población. Es claro que no es una enfermedad propia del ser humano y otros mamíferos, si no que se presenta también en otros seres pluricelulares, incluso en las plantas. (Stanley y col, 2004)

En México, el cáncer cobra aún muchas vidas^{††}, y al igual que en muchos otros países, el cáncer de pulmón es el que se manifiesta en mayor proporción, seguida de cánceres ginecológicos como: cuello uterino, endometrio, ovario y de mama en la mujer, y cáncer de próstata en el hombre. Por desgracia, muchas veces la ignorancia, los tabúes, insistencia en terapias alternativas “naturistas” y/o poco confiables, ha influenciado a un sector muy amplio en la población de mujeres que cursan con la enfermedad. Son estos factores, desafortunadamente, la causa principal de muerte por cáncer cuello uterino y mama. Los tumores malignos se mantienen como causa de muerte importante en México y la cifra sigue incrementando por falta de una debida cultura de la prevención. Esto no debería de ser así, ya que muchos tipos de cáncer son tratables si se detectan a tiempo y con un muy buen pronóstico. Actualmente se han lanzado campañas publicitarias que recomiendan a la mujer visitas regulares al ginecólogo, pruebas del antígeno prostático y placa torácica tanto por asociaciones gubernamentales como por el sector privado. (Stanley y col, 2004; Kurman y col, 1989; Gloaguen, 2006)

^{††} Tristemente en México la muerte por diabetes es muchas veces más cruel y devastadora que el mismo cáncer, esto debido a que la mayoría de los pacientes no cumplen con las disciplinas en hábitos alimenticios, actividad física y la higiene personal impuestos por sus médicos, lo que ha ocasionado casos en los cuales los pacientes, ya en etapas terminales, presentar cuadros morbosos más violentos que muchos pacientes con cáncer.

De acuerdo a estadísticas del 4 de Febrero de 2006 del INEGI, la última información fue tomada en el año 2004 con los siguientes datos ^(INEGI, 2006):

- Los tumores malignos fueron la tercer causa de muerte en México, ocupando un volumen del 12.9% del total de las defunciones registradas.
- Por defunciones debidas a tumores malignos en México, 11.4% representa el total de fallecimientos en varones y 14.9% en las mujeres.



Nota: el porcentaje está en relación con el total de defunciones registradas en cada año, en general y por sexo.
 Fuente: INEGI. Estadísticas Vitales, 1990-2004. Base de datos.

Fig. 11-5. Porcentaje de defunciones por sexo por tumores malignos, 1997-2004.*

*Tomado de INEGI, 2006, www.inegi.gov.mx y modificado para esta tesis.

Como se observa en la Fig. 11-5, las mujeres siempre han padecido más en cuanto a defunciones por tumores malignos. Sin embargo se ha aumentado la incidencia en cuanto a defunciones en el hombre, mientras que las defunciones en mujeres han sido más o menos constantes desde el año 2000.

Sería muy importante ver la distribución de tumores malignos en cada sexo que ocasionan defunciones en cada uno de ellos. Las siguientes figuras (Fig.11-6a y la Fig.11-6b) nos muestran dicha distribución:

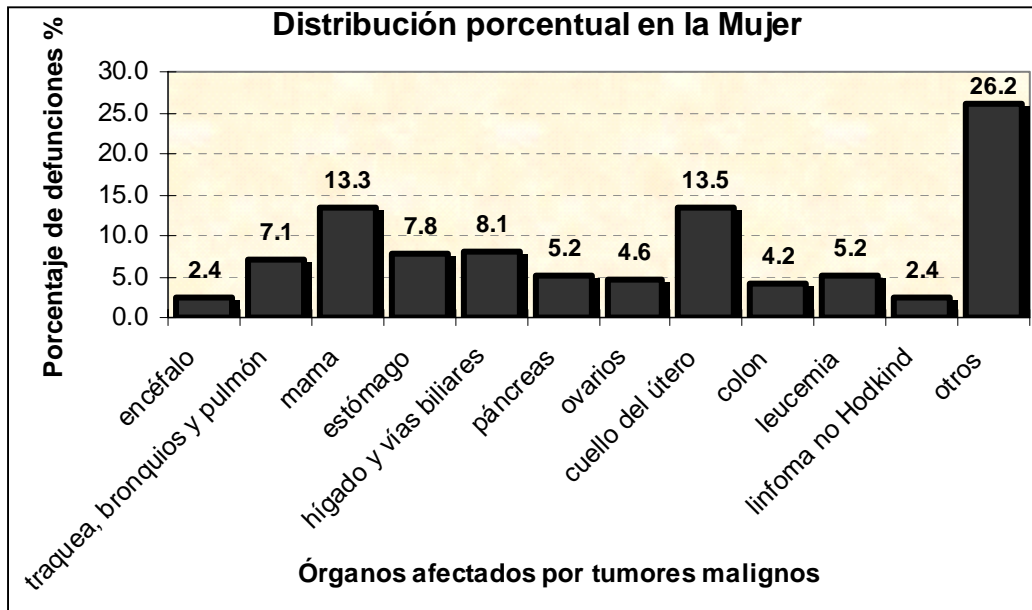


Fig. 11-6a. Distribución porcentual en la Mujer.

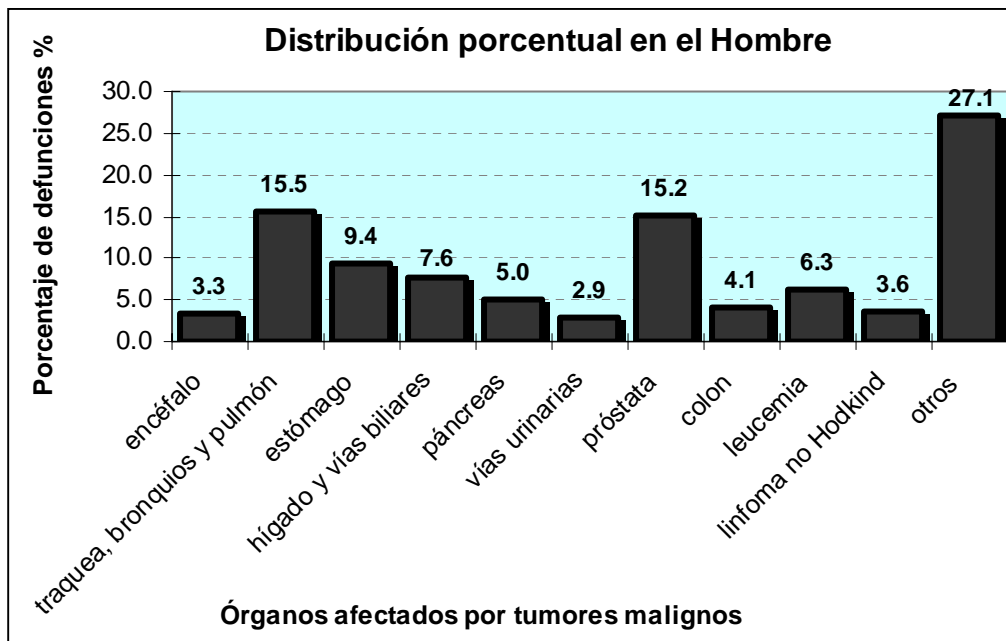


Fig. 11-6b. Distribución porcentual en el Hombre.

Fig. 11-6. Distribución porcentual de las principales causas de defunción por tumores malignos según sexo, 2004.*

*Tomado de INEGI, 2006, www.inegi.gov.mx y modificado para esta tesis

Nota: La distribución es para cada sexo.
Fuente: INEGI. Estadísticas Vitales. Base de datos 2004

De acuerdo a la Fig. 11-6, y específicamente, para el caso de la mujer (Fig. 11-6a), los casos de tumores malignos ginecológicos siguen siendo los de mayor importancia en México. Por otro lado, en el hombre (Fig. 11-6b) los tumores malignos en próstata llaman mucho la atención, así como los que se presentan en pulmón, traquea y bronquios.

No obstante, en general, las muertes por enfermedad siguen siendo, en primer lugar las enfermedades cardiacas, con un crecimiento exponencial en afecciones cardiometabólicas derivadas principalmente por trastornos nutricionales, estrés y muchas veces el tabaquismo y abuso de algunas otras sustancias que alteran sobremanera la presión arterial (cafeína, nicotina, anfetaminas, cocaína, etc.). Sin embargo, el cáncer representa la segunda causa de muerte también en México y a nivel mundial. “El cáncer mata a 7 millones de personas en el mundo y representa el 12.5% de la mortalidad total”, según lo comenta el Dr. Lee Jongwook, Director General de la Organización Mundial de Salud (OMS), y que además asegura que sólo aplicando medidas apropiadas de prevención activa y detección precoz de la enfermedad, se podrían salvar muchas vidas. (Gloaguen, 2006)

El cáncer representa una de las enfermedades más antiguas, fue descubierta desde sus inicios por los egipcios quienes lo trataban por escisión y por el uso de ungüentos arsenicales. Hipócrates recopiló un sinnúmero de descripciones referentes al cáncer de piel, mama, útero y órganos internos, y fue el primero en emplear los términos *καρχινοσ* (*carcinosis*), para las úlceras indolentes y *καρχινομα* (*carcinoma*) para los tumores malignos progresivos. Los términos hacen alusión al *cáncer*, que se deriva de la palabra latina denominada para *el cangrejo de mar*, que se adhiere a cualquier parte a la que se prende de una manera obstinada. Así, la denominación de *cáncer* se aplica a las *neoplasias malignas*, que invaden y destruyen estructuras adyacentes en forma maligna, pueden diseminarse a sitios distantes y ocasionar la muerte. Se dice que también el término fue empleado por los bultos o rebordes que presentan las tumoraciones, semejantes a los del cangrejo y por las venas hinchadas. (Ewing, 1948; Mateos, 1984; Stanley y col, 2004)

El cáncer resulta de la transformación completa de las células que forman el tumor o neoplasia maligna, y que llevan un crecimiento totalmente desordenado, anárquico y con características autónomas que les confiere supervivencia, resistencia y diversificación entre las células que constituyen el tumor. El grado de malignidad de los tumores está en función del comportamiento que exhiben al momento de su detección, para lo cual se tienen que considerar: el tamaño (un tamaño pequeño como lesión primaria), invasividad como siguiente paso, su grado de diseminación a ganglios linfáticos regionales y la presencia o ausencia de metástasis. (Stanley y col, 2004; Underwood, 2004)

Es importante poder diferenciar a los tumores entre los que son malignos y los que no lo son. Las características de los tumores nos darán la pauta para diferenciarlos entre los cancerosos y en los benignos.

El siguiente recuadro (Fig. 11-7) nos muestra la comparación entre los tumores malignos, los benignos y sus características principales, y como veremos, los tumores cancerosos suelen tener propiedades de supervivencia y adaptación mucho mayores que los tumores benignos:

Características	Tumores Benignos	Tumores Malignos
Diferenciación y anaplasia	Bien diferenciados, la estructura puede ser típica del tejido de origen.	Puede haber falta de diferenciación o marcada anaplasia con estructuras atípicas.
Ritmo de crecimiento	Por lo general progresivo y lento, pueden llegar a detención y a regresión. Las figuras mitóticas son escasas y normales.	Errático y pueden ser de lento o rápido crecimiento, abundantes figuras mitóticas y anormales.
Encapsulación e invasión	Por lo general encapsulados, son cohesivos y expansivos.	Invasivos sin encapsulación, suelen ser infiltrativos con pérdida de cohesión, pero pueden ser cohesivos y expansivos.
Metástasis	Ausente.	Se presenta con frecuencia, el tamaño y el grado de anaplasia lleva una relación directa con la probabilidad de metástasis.

Fig. 11-7. Comparaciones entre tumores benignos y malignos.*

* Tomado de Stanley, L.; Robbins, S.L.; Kumar, V.: Patología Humana. 4ª. Ed. Interamericana, 1989.

Las células cancerosas suelen tener propiedades especiales, y aunque muchas veces tienen cierta heterogenicidad entre ellas, existen características comunes que comparten y que logran expresarse en unas más que en otras. Las posibles causas que provocan que una célula se transforme resultan numerosas, de hecho, ahora se cree que es la convergencia de diversos factores de riesgo, con lo que pueden desencadenar la transformación de la célula a formas malignas o cancerosas. (Stanley y col, 2004; Franks, 1998)

Determinar la etiología del cáncer ha resultado una labor extremadamente difícil que se ha logrado con el tiempo. Actualmente se tiene una teoría de la carcinogénesis, que nació de diferentes hipótesis que se han convertido poco a poco en paradigmas que han ido cambiando la teoría carcinogénica con el tiempo, según los avances y descubrimientos que se han tenido en el área. (Dosne, 2003)

Hay que dejar atrás las rezagadas teorías humorales, que aparecieron desde los tiempos de Hipócrates hasta los de Paracelso, las cuales mencionaban que diferentes humores como la “bilis negra” podía causar tumores cuando se acumulaban en ciertas partes del cuerpo. La primera hipótesis sobresaliente sobre la teoría de la carcinogénesis comienza cuando se postula la **Teoría Viral del Cáncer**, cuando en 1911 Payton Rous descubrió que se podía transplantar un sarcoma de un ave a otra con extracciones acelulares del tumor, atribuyendo la “infección” por el virus que lleva su nombre, virus del sarcoma de Rous. La idea de un virus transmisor del cáncer orilló a muchos científicos a buscar más virus exógenos capaces de originar un cáncer en diferentes animales de experimentación. El resultado fue que se descubrieron gran variedad de virus oncógenos, denominados **v-onc**, que son los virus exógenos responsables de la etiología infecciosa del cáncer. La teoría viral del cáncer se vino abajo cuando en 1959 se descubrió que los rayos-X son también capaces de inducir leucemia, según pruebas realizadas en ratones. Es entonces que nace la **Teoría del Oncogén** en 1969, donde se postula que el genoma celular contiene oncogenes, que se activaban por acción de diversos agentes carcinógenos, incluyendo los rayos-X. Entonces se postula en 1970, que los oncovirus no son exógenos (por ser inducidos por los rayos-X), al demostrar que el virus de Rous, que es un virus ARN (denominados más tarde retrovirus), que se copia a ADN mediante la transcriptasa inversa (lo cual está en contra del dogma ADN, ARN, proteína), permitiendo incorporarse así al genoma celular como provirus. En 1980 se demuestra que el oncogén del virus de Rous (v-src) realmente pertenecía al genoma celular como encogen celular (**c-onc**), que para el caso del encogen celular del sarcoma de Rous se denomina como c-src. Entonces el retrovirus sólo es un vector que transporta el gen de un sitio a otro genoma. Posteriormente se encontraron todas las copias celulares de los c-onc de todos los v-onc. Esto es, el genoma tiene oncogenes que se encuentran “dormidos” (provirus), esto es, que no están activos y se denominaron proto-oncogenes. Los proto-oncogenes pueden ser activados por varios factores, como por ejemplo; la inserción de un fragmento de un v-onc cerca de un proto-oncogén, por el efecto de sustancias químicas que crean mutaciones en alguna porción del DNA o por radiaciones de alta frecuencia como rayos UV, rayos-X y rayos gamma que actúan también sobre el DNA, lesionándolo y creando mutaciones, y por errores genéticos debidos a translocación cromosómica. Estos factores activarán a los oncogenes dormidos, dando origen a la transformación maligna. Los oncogenes tienen la propiedad de amplificarse, esto es, de aumentar en cantidad creando así diferentes efectos anormales en las células, como la proliferación de factores de crecimiento, alteraciones en el ciclo celular que obliga a la célula a reproducirse sin control, aumento de receptores membranales sensibles a diferentes tipos de factores de crecimiento que aumentan la fosforilación celular, escape de diferentes controles de crecimiento e incluso de la apoptosis celular. Se considera así a los c-onc como parte normal del genoma, pero que sin embargo al encontrarse inactivos no se expresan. Los c-onc son dominantes, por lo que la mutación en uno de sus alelos causará la activación de los c-onc. Sin embargo, en 1984 llamó la atención de que unos tumores hereditarios estaban relacionados con la inactivación de los dos alelos de un gen determinado, que por lo tanto debería ser recesivo a diferencia

de los c-onc que son dominantes. Se determinó que los genes afectados, al no expresarse permiten que los c-onc se expresen, esto es, los genes afectados son los que deberían regular la no expresión de los c-onc, y al estar alterados en ambos alelos no lo hacen, permitiendo así la expresión de los c-onc. Nace la **Teoría del Anti-oncogén**, o genes supresores de tumor, también conocidos como emerogenes (del gr. *emer*: domesticar). Los emerogenes son genes recesivos, así que se requiere que sus dos alelos se encuentren alterados para que se inactiven. Los emerogenes permiten realizar arreglos en el DNA dañado, que puede causar activación de los c-onc, e incluso puede crear programas que lleven a la célula a la apoptosis en caso de que la reparación al DNA no haya tenido éxito. Por eso se consideran a los emerogenes como los guardianes del genoma. Entre los más importantes se encuentran el gen p53 que codifica para la proteína p53 (fosfoproteína con PM 53,000), que se enlaza a secuencias específicas del ADN y a varias proteínas virales para formar complejos inactivos oligoméricos. La p53 actúa además como regulador transcritivo de genes que participan en la regulación de la duplicación celular. Actualmente la lista de emerogenes es muchísimo mayor a la de los c-onc, y es lógico pensar que se encuentren en mayor cantidad, simulando así un sistema génico homeostático. (Dosne, 2003; Stanley y col, 2004; Franks, 1998; DeVita, 2003; Márquez, 1994; Murray, 1997; Osteen y col, 1990)

La **Teoría Génica del Cáncer** nace después de que se descubrió una gran cantidad de oncogenes diferentes asociados a tumores y del enorme número de genes supresores de tumor. Esta teoría considera que la carcinogénesis está mediada tanto por la activación de c-onc con su consecuente expresión excesiva inadecuada, así como de la supresión de emerogenes que da lugar a la alteración y escape de los controles de crecimiento. Dichos cambios de la expresión del genoma son desencadenados por diversas influencias carcinogénicas como: virus, sustancias químicas, radiaciones de alta frecuencia o por mutaciones espontáneas. La teoría génica considera que el cáncer surge como consecuencia de la manifestación de varios eventos concurrentes que dañan al ADN genómico. Esto hace pensar que los factores que desencadenan la malignidad, para que se manifiesten se requieren de evadir varias etapas que provocarán la transformación celular, por lo que la malignidad de una célula resulta realmente “difícil” que se llegue a dar. (Dosne, 2003; Stanley y col, 2004; Franks, 1998; DeVita, 2003; Márquez, 1994; Osteen y col, 1990)

Por otro lado, la **Teoría de la Diferenciación Epigenética Aberrante** sostiene que ya desde entonces se tiene información celular errónea en algunas células, pero que sin embargo no se han expresado. Los mecanismos epigenéticos regulan la expresión de la actividad de los genes, pero sin crear alteraciones de la estructura génica. Dentro de los mecanismos de control epigenético se encuentra la metilación del DNA. La metilación permite estabilizar al DNA y no permite que se exprese, sin embargo la alteración aberrante de dichos mecanismos de control permitirá que el gen se exprese dando lugar a diferenciación y crecimiento acelerado en la célula. Diversas proteínas y metabolitos tienen grupos funcionales metiladores que se adhieren al DNA sin alterar su secuencia. Los metilos epigenéticos tienen gran afinidad por citocinas, así la hebra de DNA metilada tiene baja probabilidad de transcribirse a RNA.

Probablemente es la falta de metilación de algunas secuencias de DNA lo que permite expresión del mismo, aumentando la cantidad de transposones (genes saltarines, capaces de autoclonarse y superactivar o desactivar genes) que permitirán diversas mutaciones, o tal vez la metilación excesiva de secuencias de DNA que codifican para genes supresoras de tumor no permitirá que sean operantes. Se sabe de algunos químicos que anteriormente no se consideraban carcinógenos, pero que sin embargo, de alguna manera pueden dar origen a una neoplasia sin que creen daño al DNA, como el caso de los asbestos, sílice y cuerpos extraños diversos. Así, en un tiempo se propuso que el cáncer no es una enfermedad celular, sino que está mediada por factores ambientales. El hecho de que la teoría genética difiere de la epigenética radica entonces en que en la segunda no existe alteración mutacional directa al DNA, sin embargo, los fenómenos epigenéticos son también regulados genéticamente, por lo que tal vez utilizar la diferencia entre los dos mecanismos sea tan solo cuestión de semántica. (Dosne, 2003; Stanley y col, 2004; Franks, 1998)

Es importante mencionar el hecho de que si una célula llega a la transformación neoplásica, esto no significará forzosamente que se desarrollará entonces un tumor. Para esto es necesario que la célula neoplásica logre evadir no sólo los mecanismos de corrección en errores de ADN y los mecanismos de apoptosis, si no que además debe lograr la evasión del sistema inmunológico. Es posible encontrar “tumores dormidos” que se mantienen durante mucho tiempo sin que el sistema inmunológico los detecte, por ejemplo en tumores de próstata, que al análisis de varias autopsias realizadas aparecen aparentemente normales. Así, se postuló también la **Teoría de la Inflamación**, dónde la falta de estimulación inflamatoria del microambiente no logra crear las respuestas inmunitarias correspondientes, entonces una célula que haya tenido transformación maligna y la capacidad de evadir toda acción de corrección, entonces podrá proliferar. Sin embargo, la acción inflamatoria logra también despertar la acción de diversas células que forman el estroma, como los linfocitos y/o los macrófagos, con la consecuente neovascularización, situación que aprovechan diversas células tumorales como una fuente de aporte energético. Por otro lado, la vigilancia inmunológica creará diversas respuestas hacia un balance homeostático entre aceptación y rechazo, con los consecuentes factores a favor o en contra de la proliferación celular, respectivamente. Así, el SIDA, causado por el HIV (que es un virus no oncogénico), resulta ser una inmunodeficiencia que reafirma la falta de vigilancia inmunológica con la consecuente aparición de algunos cánceres al paciente que padece la enfermedad, por ejemplo, el sarcoma de Kaposi. (Dosne, 2003; Stanley y col, 2004; Franks, 1998)

Actualmente se comienza a englobar y unificar las recientes teorías del cáncer, tanto la teoría génica, como la epigenética y la teoría de la inflamación podrían estar ligadas y de esta forma ser todas ellas las responsables de la proliferación celular neoplásica. La unificación de las teorías sugiere que los secretos del cáncer están dentro de las mismas células normales en la forma de proto-oncogenes. Dichos genes se lograrán transformar, si las condiciones así lo permiten, en oncogenes, capaces de crear las transformaciones fenotípicas del

cáncer, y si la reacción inflamatoria lo permite, entonces la proliferación se verá potenciada, sobre todo si el sistema inmune no es capaz de detectar a tiempo a las células transformadas. Existen también predisposiciones a las neoplasias, como la edad, influencias ambientales y herencia. (Dosne, 2003; Stanley y col, 2004; Franks, 1998; DeVita, 2003; Márquez, 1994; Murray, 1997; Osteen y col, 1990)

Es claro que el cáncer, así como los tumores benignos, pueden causar mortalidad, entre el más extremo de los efectos sobre el huésped, a pesar de que el mismo organismo reaccionará en contra los tumores formados. Los trastornos clínicos suelen afectar al paciente, tanto física como emocionalmente y algunas veces los tratamientos tan solo son simples medidas paliativas para alargar un poco la esperanza de vida. Con el tiempo, sin embargo, las investigaciones han hecho posible que el diagnóstico del cáncer, por métodos histológicos, citológicos y bioquímicos se pueda detectar etapas “tempranas” y con esto se pueda dar un tratamiento adecuado, no obstante que muchas veces el diagnóstico “temprano” del cáncer no es más que la punta del iceberg de la enfermedad manifestada. Por otro lado, los tratamientos han mejorado notablemente, tanto los tratamientos locales como la cirugía y radiación, así como la quimioterapia como tratamiento sistémico. Ahora existe una alta variedad de medicamentos, desde los antineoplásicos, hasta hormonas y anti-hormonas, con resultados alentadores y que incluso, sí han logrado curar o mejorar con mucho la esperanza de vida de los pacientes afectados. (Dosne, 2003; Stanley y col, 2004; Franks, 1998)

Es para muchos concebible pensar que el cáncer no es más que un parásito que se infiltra en un organismo, sólo para causar estragos en quien lo padece y que termina por sucumbir su vida. Sin embargo, tal vez el cáncer no es otra cosa más que la expresión de genes mutados que siempre ha existido y que forma parte de la evolución de los seres vivos. (Stanley y col, 2004; Fentanes y col 1990, Franks, 1998; DeVita, 2003; Graham y col, 1950; Márquez, 1994; Murray, 1997; Osteen y col, 1990)

5.10.4.1 CARACTERÍSTICAS DE LAS CÉLULAS TRANSFORMADAS.

Entre los cambios más importantes que se presentan en las células transformadas se encuentran: diferencias en las propiedades de crecimiento, cambios morfológicos, cambios cariotípicos, cambios antigénicos, cambios metabólicos y cambios en la superficie de la membrana celular. (Stanley y col, 2004; Franks, 1998; DeVita, 2003; Murray, 1997; Osteen y col, 1990)

Dentro de los **cambios en las propiedades de crecimiento** se encuentran: el escape de los controles reguladores. Los experimentos realizados *in vitro* demuestran que cuando se siembran células transformadas, éstas siguen proliferando sin importar que se aglomeren y aumenten desmedidamente en volumen, tamaño y cantidad, a diferencia de las células normales que dejan de proliferar debido a la inhibición por contacto o dependiente de la densidad, deteniendo así su crecimiento. Las células cancerosas presentan falla en la

maduración, esto es, no sufren diferenciación terminal, presentando diferentes grados de anaplasia. Así mismo, los programas de apoptosis o muerte celular programada pueden bloquearse, por lo que retienen por más tiempo su viabilidad y su capacidad para replicarse y acumularse. Por esa razón se dice que las células cancerosas son "inmortales". En el laboratorio se han obtenido diferentes líneas celulares, esto es, siembras específicas de algún tipo de cáncer y se mantienen *in vitro*. Existe una gran diversificación de líneas celulares, siendo una de las más famosas la línea celular conocida como HeLa, que llevan decenios cultivándose. Dicha línea celular se obtuvo de una paciente llamada Henrietta Lacks en el año de 1951. La paciente padecía cáncer de cuello uterino, del cual se tomó una muestra celular y se cultivó. Esta línea celular se ha purificado y se mantiene creciendo hasta la fecha. Las líneas celulares se manejan al igual que las diferentes cepas bacterianas utilizadas como patrón para investigaciones microbiológicas, pero en el caso de las líneas celulares, éstas se ocupan, sobre todo para investigaciones sobre ciclos celulares, oncología, etc. Cabe mencionar que cuando las células cancerosas logran cultivarse *in vitro*, éstas pueden desarrollarse y proliferar con gran facilidad con una menor demanda de suero y nutrientes, a diferencia de sus contrapartes normales cuando se siembran en medios artificiales. Las células transformadas, al introducirse en huéspedes, pueden desarrollarles un cáncer sin dificultad. (Stanley y col, 2004; Franks, 1998; DeVita, 2003; Osteen y col, 1990)

Las células cancerosas, de alguna manera, acceden a la estimulación química de ciertos factores de crecimiento que provocan angiogénesis alrededor del tumor, asegurando así el aporte sanguíneo y los nutrientes requeridos. (Stanley y col, 2004; Franks, 1998; DeVita, 2003; Osteen y col, 1990)

Se sabe que enzimas como la telomerasa reversa transcriptasa (hTERT), que es la que regula la replicación de telómeros (que son las terminaciones lineares de los cromosomas de las células eucarióticas), provocando una "inmortalización" celular con incremento en su tiempo de vida y replicación celular. Actualmente se sabe que la hTERT está asociada a tumores. Se puede detectar por un antígeno asociado a tumor por inmunoterapia. Así mismo, la detección de expresión de hTERT es un marcador útil para diagnóstico y pronóstico del cáncer. Se ha propuesto también la regulación de la transcripción de hTERT como posible método terapéutico para el tratamiento del cáncer. (Hiyama y col, 2004; Patel y col, 2004; Horikawa y col, 2004)

Los **cambios morfológicos** son evidentes, ya esto se comentó al mencionar la marcada anaplasia que pudieran desarrollar estas células, además de los cambios en sus organelos. Entre los cambios encontrados en las células tumorales podemos encontrar células con formas aberrantes, núcleos anormalmente grandes, varias mitosis, bi, tri y hasta cuadripolares, etc. (Stanley y col, 2004; Franks, 1998; Osteen y col, 1990)

Los **cambios cariotípicos** se hacen presentes por las alteraciones cromosómicas que se presentan con inserción de genes en sitios que no les

corresponden o la translocación de ellos. Al parecer estos cambios se dan en genes particulares, los llamados oncogenes o en los emerogenes. (Stanley y col, 2004; Franks, 1998; DeVita, 2003; Osteen y col, 1990)

Los **cambios antigénicos** pueden darse en células cancerosas, sin embargo se sabe que sí provocan respuesta inmunitaria, aunque al parecer, no es específica. Sin embargo existen datos que definen la existencia de antígenos tumorales específicos en las células transformadas, dando lugar a la respuesta específica por acción directa de macrófagos y células naturales asesinas. (Stanley y col, 2004; Franks, 1998; DeVita, 2003; Osteen y col, 1990)

Los **cambios metabólicos** en las células cancerosas suelen presentarse según los niveles de diferenciación. Por ejemplo, en células transformadas bien diferenciadas pueden producir las enzimas requeridas en mayor o en menor proporción que sus condescendientes normales, responden a estímulos hormonales al igual que las células normales. Por otro lado, las células poco diferenciadas o con marcada anaplasia, parecen converger en un estado común de producción enzimática totalmente diferente al de las células de origen, pero común dentro de las células cancerosas. Se sabe que las células transformadas, al igual que las células que tienen una alta capacidad para reproducirse presentan un ritmo metabólico anaerobio inusualmente alto, aún en presencia de oxígeno (glucólisis aeróbica), aunado a esto, se mencionó que muchas células tumorales pueden desarrollarse muy bien aún con un bajo aporte de nutrientes. Se puede presentar elaboración y liberación de enzimas como proteasas y fibrolisinas que participan en la capacidad de invasión y metástasis. (Stanley y col, 2004; Franks, 1998; DeVita, 2003; Osteen y col, 1990; Murray, 1997)

Sin embargo, parece ser que los **cambios en la superficie y membrana celular** resultan ser los más importantes y característicos de las células transformadas. De hecho puede atribuirse toda la conducta anárquica de las células transformadas, los cambios en los controles de crecimiento, la capacidad de invasión y de dar metástasis a los cambios de superficie. Se ha señalado que el cáncer, podría ser en sí, "una enfermedad de membrana". Entre las alteraciones en la membrana presentes en las células transformadas, además de la formación de pseudópodos y microvellos, existe todo un cambio en el conjunto bioquímico de la célula. Las glucoproteínas de membrana, sobre todo la glucoproteína P aumentada, afecta la permeabilidad disminuyéndola y provocando ineficacia en al tratamiento de medicamentos antineoplásicos. Existe derramamiento de fibronectina y aglutinación aumentada de lectinas, creando así las aglomeraciones celulares que forman el tumor. También puede existir disminución de lectinas y fibronectinas que provocan la pérdida de cohesión y pérdida de la adhesión en algunas estructuras adyacentes, aumentando así el desprendimiento de las células cancerosas y esto se correlaciona con el potencial metastásico. Además de que se desarrolla un deterioro en la comunicación de una célula a otra. (Stanley y col, 2004; 1990; Franks, 1998; DeVita, 2003; Osteen y col, 1990)

Se sabe que la cadherina es una de las moléculas que participan en la adhesión celular y es determinante en la organización tisular, tanto en salud y enfermedad. Recientes avances en el entendimiento molecular y participación en función celular, la cadherina ha revelado ser partícipe también en acoplamientos moleculares, unión en adhesiones superficiales celulares y reconocimiento entre el citoesqueleto y las diferentes señales recibidas para diferentes pasos en el ciclo celular. (Goodwin y col, 2004)

Las células cancerosas son, por lo tanto, una de las aberraciones más marcadas en cuanto a la lesión celular, con cambios morfológicos y funcionales que alteran totalmente el volumen de un tejido u órgano, así como su función. Son altamente resistentes, tienen la capacidad de reproducirse sin control y presentar cierta autonomía, expresando así su carácter anárquico frente a ciertos controles, como por ejemplo escapando de los programas de apoptosis y ser "inmortales", invadir tejidos adyacentes y migrar hacia tejidos distantes, implantarse y desarrollarse fácilmente, capacidad de crear su propio aporte de nutrientes por acción angiogénica, etc. A pesar de que presumiblemente las células cancerosas son de origen monoclonal, las clonas van resultando altamente heterogéneas, haciendo, muchas veces, difícil la aplicación de un tratamiento específico, debido a las gran progresión y diversificación que tienen éstas. (Stanley y col, 2004; Franks, 1998; DeVita, 2003; Osteen y col, 1990)

La terapia contra el cáncer resulta eficaz, en la mayoría de las veces, cuando se detecta a tiempo. Debe de recordarse que muchas veces el cáncer manifiesto en sus etapas "tempranas" suele tener ya cierto tiempo desarrollándose, por lo tanto un cáncer detectado en etapa tardía casi siempre tendrá un mal pronóstico para el paciente. La terapia depende con mucho del tipo de neoplasia, su localización y el tiempo que lleva desarrollándose. Así, un tratamiento local como la cirugía o radiación tendrán éxito con tumores que puedan ser extraídos (en caso de cirugía) o atacados con radiación, siempre y cuando no se ponga en riesgo algún órgano o estructura vital adyacente al tumor. Cuando la terapia local no es posible por lo antes mencionado, la alternativa que se tiene es el ataque sistémico, esto es, con fármacos, que es a lo que se le conoce comúnmente como quimioterapia. Los fármacos antineoplásicos se diseminan por todo el organismo, y al localizar el tumor, las células que componen a éste son atacadas bajo diferentes mecanismos, dependiendo del tipo de agente utilizado. También se han dado buenos resultados cuando, por ejemplo, se extirpa un tumor o se ataca por radiación, posteriormente, para asegurar la destrucción celular completa, la vía sistémica de los medicamentos antineoplásicos es especial para destruir, sobre todo, las posibles micrometástasis que no puedan observarse. Por desgracia, los medicamentos antineoplásicos son altamente tóxicos, y atacan, sobre todo, a las células que tienen un alto índice de replicación, característica de las células tumorales malignas, pero también característica de las células lábiles. Tal es el motivo por el cual, muchas veces, células de la piel y de los conductos pilosos se destruyen, causa principal de la alopecia. En la misma piel se pueden desarrollar infecciones bacterianas y por hongos oportunistas. Muchas células epiteliales del tracto gastrointestinal son igualmente destruidas,

causando malabsorción de nutrientes, vómitos, y como consecuencia pérdida de peso. Además del desarrollo de otras infecciones causadas por oportunistas, debido a que las células sanguíneas (que también son células lábiles) disminuyen en número, por lo que las defensas se encuentran disminuidas, y pueden aparecer estados de anemia severos. A veces, cuando el tratamiento se prolonga, muchas veces resulta ser tan solo un medio paliativo para controlar la enfermedad, y en ocasiones, provocando después una segunda forma de cáncer, generalmente leucemias. (Stanley y col, 2004; Franks, 1998; DeVita, 2003; Osteen y col, 1990)

Muchas veces, como consecuencia de la gran diversificación de clonas de las células transformadas, esto es, la elevada heterogenicidad de alguna de ellas, la quimioterapia resulta ineficiente, ya que muchas veces la divergencia fenotípica y genotípica entre las células que componen a una neoplasia hace que algunas sean resistentes a ciertos fármacos y otras no. La quimioterapia se realiza entonces incluyendo dos o más agentes antineoplásicos en combinación, y las dosis deben ser relativamente altas para asegurar el éxito del tratamiento. Esto hace que la quimioterapia sea un tratamiento, muchas veces muy agresivo. Tal es el caso por el cual muchos pacientes mantengan, no sólo un aspecto realmente deplorable, trágico y deprimente, sino que también moralmente se pueden encontrar derrumbados. El apoyo psicológico, la convivencia familiar y de amistades e incluso a veces la ayuda espiritual puede cambiar con mucho el estado del paciente, haciéndolo más optimista y lo que es más importante, mejorando su calidad de vida. (Stanley y col, 2004; Franks, 1998; DeVita, 2003; Osteen y col, 1990)

PRÁCTICA 15 ANATOMÍA GENERAL

OBJETIVO

Realizar una disección sistemática de un mamífero, que ha sido previamente perfundido con líquido fijador, con el fin de hacer un estudio macroscópico y relacionarlo con la estructura microscópica de cada órgano y tejido.

INFORMACIÓN BÁSICA

La apariencia, la forma, la consistencia, así como otras propiedades de los órganos y tejidos a la vista macroscópica presentan una íntima relación con la estructura y el arreglo celular que tienen a nivel microscópico. Al estudiar los órganos y tejidos de un espécimen, podremos apreciar sus características macroscópicas de forma y textura, teniendo una mejor correlación con la estructura microscópica y a la vez podremos comprender aún más la función que realizan. Para realizar el estudio macroscópico, nos podemos apoyar en un mamífero de mayor tamaño. Un buen modelo biológico puede ser un perro, por su semejanza estructural con el cuerpo humano, tanto en el arreglo y distribución de los órganos, y la forma en que éstos están organizados formando los diferentes aparatos y sistemas.

MATERIAL:

- 1 equipo de disección
- Cubrebocas
- Guantes de cirujano

REACTIVOS:

- Detergente
- Hipoclorito de sodio comercial

ECOLOGÍA, HIGIENE Y SEGURIDAD

Es importante lavar el área de trabajo después de realizar la disección para evitar que los fluidos corporales se sequen y queden pegados al lugar de trabajo. Desinfectar el área también es importante, así como los instrumentos de disección.

INSTRUCCIONES

1. Observar la explicación del instructor quien realizará una disección previa y explicará detalladamente los planos de corte y la secuencia que se deberá seguir para la optimización del espécimen y de la práctica.
2. Tomar el espécimen y prepararlo en la plancha en posición decúbito dorsal para ser seccionado desde la sínfisis mandibular hasta la sínfisis púbica con el bisturí.
3. Una vez abierto el animal, iniciar la observación *in situ* de los órganos expuestos, extraerlos y proceder al mismo tratamiento que realizó previamente el instructor, al mismo tiempo que se hará la descripción macroscópica de cada órgano, tomando en cuenta su forma, color, aspecto y consistencia.
4. Terminada la observación y la descripción macroscópica, y después de correlacionar y comprender la anatomía del espécimen, introducir los órganos extraídos dentro del cuerpo del animal.
5. Colocar el cadáver en el lugar indicado por el profesor, limpiar y desinfectar el área de trabajo.

6. DISCUSIÓN

Definitivamente la Histología es una rama de las ciencias biológicas que resulta ser un gran apoyo para los profesionales de la salud, y esto a conducido a la emisión de un sinnúmero de textos que actualmente se pueden encontrar en diferentes variedades, ya sea impresas en forma de libros y revistas de actualización, información electrónica y además de que se imparta como asignatura obligatoria en muchas carreras del área de la salud.

Encontrar un texto que se adecue a las necesidades del alumno resulta, no obstante, un poco más complicado, y muchas veces se requiere hacer uso de una diversidad de bibliografía, que muchas veces puede resultar molesto y engorroso para el estudiante.

Este manual resulta ser una dirección adecuada para el alumno que cursa la asignatura, y en especial, a los estudiantes que pertenecen a este plantel, debido a que de alguna forma esta es una guía de acuerdo a lo que propone el plan de estudios de la asignatura. Ha sido evaluado por algunos profesores del área encontrando, en general, la cobertura de lo que la asignatura requiere como apoyo. El trabajo muestra además una guía divergente de bibliografía que el alumno desee consultar y así ampliar y/o complementar los conocimientos requeridos.

De acuerdo a la bibliografía utilizada para la elaboración de este manual se puede concluir que la Histología depende de muchas otras disciplinas para una mejor comprensión. Así que de alguna forma, los conocimientos que aportan otras asignaturas sirven también de base a la Histología, y ésta a su vez, apoya a otras disciplinas.

La Histología estudia los detalles de forma en los tejidos y busca darle una explicación a la función que realizan, tanto de aparatos, sistemas, órganos, tejidos y células. Corresponde a los alumnos y a los profesores de asignatura complementar esta disciplina con todos aquellos procesos y técnicas empleadas para el desarrollo de su conocimiento.

7. CONCLUSIONES

Se realizó este Manual para el Laboratorio de Histología como apoyo para la asignatura de Anatomía e Histología que llevará la nueva carrera de Licenciado en Química Bioanalítica de la FES-Cuautitlán con la aceptación como propuesta por parte de algunos de los profesores del área.

Este manual contiene partes básicas en sus instrucciones que permiten al alumno desarrollar la destreza en las técnicas histológicas como la correcta utilización de reactivos, toma y procesamiento de muestras, y llevar un buen desempeño durante el desarrollo de cada práctica de laboratorio.

Las prácticas presentadas se diseñaron de tal forma que contienen, previamente, todo un marco teórico que apoya a la teoría de la asignatura, y que ayudan a guiar al alumno al reconocimiento de estructuras celulares y tisulares, así como de las características que estos últimos adquieren después del tratamiento histológico.

El último capítulo de este manual está dedicado a principios básicos de Patología Celular, donde se complementa y se enfatiza la importancia de la Histología al dar una guía de los principales cambios que exhiben las células y tejidos durante el estado normal y patológico.

Algunos temas se complementaron con referencias bibliográficas de diferentes áreas. Temas como la isotonicidad, los colorantes y en general los diferentes reactivos, así como la patología celular, requirieron algún apoyo bibliográfico adicional como textos de Física, Fisicoquímica, Química, Bioquímica, Patología, Oncología, así como textos de actualización como Journal's y diferentes revistas, que demuestran así que la Histología requiere bases interdisciplinarias para su conocimiento, y esto hace de se convierta, así mismo, en una disciplina que puede ser ampliamente explotada y utilizada en diferentes áreas profesionales de la salud, como: Investigación, aplicación médica y diagnóstica, docencia, desarrollo de medicamentos, investigación clínica, área de ventas de medicamentos especializados, etc.

8. GLOSARIO

Ácido.- Sustancia deficiente de electrones, y que por lo tanto es aceptor de ellos. Sustancia que dona un protón H^+ .

Acidófilo.-Que tiene preferencia por sustancias ácidas por ser rico en electrones.

Actina.- Proteína citoesquelética de algunas células. En el músculo está involucrada en la función de contracción del tejido.

Aducto.- Compuesto formado por la combinación de dos compuestos sin la pérdida de ninguno de los átomos.

Agente quelante.- Parte voluminosa de un compuesto químico que rodea a un ión, generalmente a un metal.

Anaplasia.- Pérdida de los caracteres de diferenciación celular normal que se manifiesta en células malignas, proceso conocido como desdiferenciación. El proceso real es cuando las células de reserva no semejan a sus contrapartes normales, adquieren mayor simplicidad funcional y metabólica y no maduran, esto es, son indiferenciadas.

Anatomía.- Ana (parte) tomei (tomar), tratado que estudia las partes del cuerpo, estudiando cada órgano, sistema o aparato, para integrarlo después al cuerpo completo.

Angiogénesis.- Capacidad que tiene un tejido de formar vascularización en rededor suyo para poder recibir aporte sanguíneo, esto mediado por ciertos factores que pueden crear la proliferación de vasos sanguíneos.

Anión.- Ión que tiene carga negativa.

Anisocariosis.- Degeneración en el tamaño normal del núcleo en las células, generalmente se encuentra anormalmente agrandado como sucede en algunas proliferaciones no neoplásicas o neoplásicas.

Antigenicidad.- Capacidad que tiene una sustancia de producir anticuerpos.

Antiséptico.- Todo aquello que es capaz de impedir el desarrollo (o incluso matar) a todo microorganismo, especialmente patógeno.

Apoptosis.- Muerte celular programada. Mantiene el número fisiológicamente normal de células. Algunos procesos patológicos pueden inducir apoptosis, o errores congénitos que pudieran llevar el riesgo de desarrollar una célula anormal.

Argénticas.- (*Argentum, argenti.*-plata) Sustancias que contienen átomos de plata, generalmente colorantes que tienden a impregnarse en diferentes tejidos.

Aspecto.- Apariencia que trata de describir a algún objeto. En histología se utiliza mucho para hacer una descripción comparándola con la forma o textura de algo ya conocido. Por ejemplo, el núcleo con aspecto arriñonado de una célula hace mención que el núcleo tiene la forma de un riñón.

Atrofia.- Disminución del tamaño celular.

Autócrino.- Estimulación que se da una célula a ella misma por mediadores químicos propios.

Auxócromo.- Es la parte de un colorante que se fija al sustrato y que es la responsable de cambiar la longitud de onda de la parte cromófora.

Axón.- Prolongación de una célula nerviosa que tiene la función de llevar el impulso de una célula nerviosa a otra con la cual hace contacto para llevar a cabo una función específica.

Base.- Sustancia que tiene exceso de electrones y es capaz de donarlos. Es aceptor de portones H^+ .

Basofilia.- Que tiene afinidad por sustancias básicas, los sustratos o tejidos deficientes en electrones son basofílicos.

Biopsia.- Fragmento de tejido de dimensiones pequeñas que se extrae de un órgano o tejido vivo con el fin de estudiarlo. La biopsia de toma por escisión, por raspado, por aspiración o por punción con aguja fina.

Carcinógeno.- Sustancia química, agente físico o biológico que es capaz de producir cáncer.

Cariorexix.- Degeneración nuclear, en la cual el núcleo se fragmenta.

Catión.- Ión con carga positiva.

Citología.- Parte de la biología que se encarga del estudio de los métodos y técnicas para el estudio celular.

Consistencia.- Característica que determina la estabilidad de un tejido en función a su cohesión celular y componentes extracelulares, y que podrían presentar al aplicárseles una presión.

Contorno.- Líneas o trazas que delimitan la superficie de un cuerpo y que presentan forma característica.

Cromóforo.- Es un arreglo de átomos de un colorante que contiene la parte cromógena. Los cromóforos absorben cierta longitud de onda del espectro de luz visible.

Cromógeno.- Es la parte de un colorante responsable de dar el color del mismo.

Decúbito.- Del latín *decúbitus-decumbere*: acostarse. Las variedades de decúbito según la región de contacto con el plano horizontal pueden ser: decúbito dorsal (espalda), decúbito lateral (uno de los costados) y decúbito ventral (vientre).

Diapédesis.- Salida de macrófagos de la circulación sanguínea a través de las paredes de los capilares hacia los tejidos.

Diferenciación.- Proceso en el cual se desarrollan las características especiales de las células, morfológicas y fisiológicas, de los tipos específicos de tejidos. Cuando las células de reserva, al madurar, semejan a sus ascendientes normales, lo cual no ocurre en la anaplasia.

Difracción.- Dispersión de la luz al pasar por diferentes cuerpos y que provocan la formación de diferentes haces de luz con diferente longitud de onda, o colores.

Discariosis.- En algunos estados patológicos celulares, los núcleos pueden ser atípicamente anormales en forma y aspecto, pero guardan la proporción núcleo-citoplasma.

Disecar.- Acción de extraer un tejido cuidadosamente, apartando de sí todo tejido que no pertenece a él. Por ejemplo, separar perfectamente el tejido conectivo de un fragmento de tejido de interés, como lo podría ser un ganglio o una glándula.

Displasia.- Proliferación celular no neoplásica, pero con un grado de aberración elevada y en cierta forma descontrolada, pero que puede ser reversible. Puede ser un peligroso precursor neoplásico.

Edema.- Acumulación de líquido por la salida de líquido seroso de los vasos sanguíneos hacia los tejidos después de sufrir un trauma local, causando la tumefacción o hinchazón del tejido afectado.

Electrolito.- Sustancia química que en estado ionizado o en disolución se separa en sus componentes con carga (iones) y que son capaces de conducir corriente eléctrica.

Endocrino.- Estimulación que se da por mediadores químicos de células de una especie a otras de diferente especie y que además pueden estar lejos.

Epigenético.- Relativo a la epigénesis, que es la teoría según la cual el embrión es producto de la fecundación y origina, por diferenciación gradual órganos nuevos. Se opone a la teoría de la preformación, que sostiene que el individuo existe en miniatura en el óvulo y su crecimiento es activado por la fecundación.

Eosinofilia.- Afinidad por los colorantes ácidos (acidófilos). Llamados así haciendo referencia al colorante ácido de mayor uso, la eosina. Los cuerpos eosinófilos presentan coloraciones que van de un rosa pálido al anaranjado.

Estroma.- Tejido conectivo que rodea a un órgano parenquimatoso, y que le brinda soporte y protección.

Exfoliación.- Descamación celular, característica de epitelios que sufren un recambio celular constante por estar expuestos a un desgaste continuo.

Extendido.- Frotis.

Fibrosis.- Formación de cicatriz en un tejido lesionado.

Fisiología.- Rama de la biología que estudia la función de tejidos, órganos y aparatos.

Frecuencia de onda.- Veces que se repite un ciclo de onda. En las ondas electromagnéticas, la energía de onda es directamente proporcional a la frecuencia.

Frotis.- Extendido que se hace sobre una lámina portaobjetos de un exudado, u otro fluido corporal, el cual contiene cuerpos celulares dispersos y que se estudiarán en el microscopio.

Grupo funcional.- Grupo de átomos de un compuesto que le dan la característica al mismo.

H-E.- Tinción con Hematoxilina y Eosina.

HeLa.- Línea celular llamada así en honor a Henrietta Lacks, paciente que murió de cáncer de cuello uterino en 1951. Las células del cáncer que ella padecía fueron cultivadas desde entonces y aún se mantienen vigentes, siendo una de las líneas celulares más importantes.

Hematopoyesis.- (gr. Hemo.-sangre y poiéin.-formación). Formación de células sanguíneas.

Hipercromasia.- Aumento en la captación de color durante la tinción. Fenómeno presente, sobre todo, en el núcleo de células que sufren de alguna alteración, sobre todo proliferativa.

Hiperplasia.- Proliferación celular que implica un aumento en el número de células en un órgano o tejido en respuesta a un estímulo. El proceso puede ser reversible y en algunos casos puede estar vinculado con proliferaciones neoplásicas o únicamente en procesos compensatorios normales.

Hipertofia.- Aumento en el tamaño celular.

Hipoxia.- Déficit de aporte de oxígeno a un órgano o tejido, generalmente por deficiencia en el riego sanguíneo.

Histología.- Estudio de los tejidos, se basa en las técnicas empleadas para procesar tejidos y estudiarlos microscópicamente y se pretende identificar cada tejido en función a su morfología.

Histoquímica.- Parte de la histología que estudia técnicas de coloración para identidad de estructuras específicas celulares basándose en reacciones químicas específicas entre las sustancias químicas utilizadas y los componentes químicos celulares.

Índice de refracción.- indicador que nos dice cuanto se desvía la luz en el vacío con respecto al medio (transparente generalmente) al que incide y se refracta.

Inervación.- Distribución de tejido nervioso sobre otros tejidos u órganos.

Infarto.- Es una zona de necrosis isquémica dentro de un tejido u órgano producido por oclusión de la circulación arterial o venosa.

Íon.- Son partículas con carga eléctrica neta que participan en un buen número de fenómenos químicos. Un ion positivo es un catión y un ion negativo es un anión.

Isquemia.- Cuando se presenta un desequilibrio entre el suministro de sangre y la demanda de energía por parte de los tejidos.

Leucopoyesis.- Formación de leucocitos.

Lisosoma.- Organelo celular que degrada moléculas que han ingresado al citoplasma celular por endocitosis.

Longitud de onda.- Se define la longitud de onda como la distancia que recorre el pulso mientras una partícula del medio que recorre la onda realiza una oscilación completa. Es inversamente proporcional a la frecuencia de onda, por lo que lo es también a la energía que posee.

Macroscopía.- Es la apreciación a simple vista de los órganos y tejidos, tomando en cuenta sus dimensiones de volumen y masa.

Metaplasia.- Alteración anormal en la estructura celular, causada por diversos factores. Puede ser precursor neoplásico, pero cuando cesa el estímulo que provoca la alteración, puede ser reversible.

Metástasis.- Tumor secundario formado a partir de un tumor primario, el cual, algunas de sus células fueron acarreadas a un lugar distante, donde se formará dicho tumor secundario.

Microscopía.- Es la apreciación al microscopio de los órganos y tejidos.

Miscible.- Es un líquido que se puede mezclar perfectamente en otro(s) líquido(s) dando como resultado una sola fase. Se puede decir que es la disolución de un líquido en otro, de acuerdo a las proporciones en que se mezclan.

Mordente.- Partícula presente en algunas sustancias, generalmente metálica, que ayuda a que una colorante se fije con mayor facilidad al sustrato.

Mucosa.- Superficie interna de un órgano. Por ejemplo, la mucosa del intestino.

Mucosubstancias.- Son las sustancias químicas que se encuentran en algunas células especializadas en la secreción de las mismas, y que generalmente se encuentran en la superficie celular.

Necropsia.- Estudio de un cadáver con fines académicos o para conocer las causas de muerte.

Necrosis.- Muerte del tejido.

Neoplasia.- Cualquier crecimiento anormal de tejido nuevo; una proliferación de células que no están bajo el control fisiológico normal. Éstas pueden ser benignas (no-cancerosas) o malignas (cancerosas).

Oncología.- Rama de la medicina que estudia los tumores. (oncos-tumor).

Onda electromagnética.- Onda que posee ondas eléctricas y magnéticas. La luz y otras ondas electromagnéticas, no poseen carga ni masa y todas viajan a la misma velocidad ($c = 300,000 \text{ Km/s}$).

Parácrino.- Estimulación de células de la misma especie, provocada por mediadores químicos de una célula y que actúan sobre las células vecinas de la misma especie.

Parénquima.- El parénquima está constituido por células del mismo tipo, y que guardan la misma relación en función y estructura, así como en tamaño.

P.A.S.- (Peryodic Acid-Schiff). Tinción de Ácido Peryódico de Schiff, se utiliza para la detección de mucosubstancias.

Patología.- Estudio de las enfermedades.

Perfusión.- Cuando se hace pasar una solución al sistema vascular para que se distribuya y logre alcanzar todos los tejidos.

Picnosis.- Disminución de tamaño o condensación del núcleo celular.

Pleomorfismo.- Variación de forma y tamaño normal. En células que padecen ciertas patologías, como el cáncer, presentan pleomorfismo a varios niveles.

Polímero.- Compuesto químico formado por monómeros de la misma especie o en combinación con otros, manteniendo el mismo arreglo en toda la cadena que forman. Las proteínas y los carbohidratos son ejemplos de polímeros.

Proteasas.- Grupo de enzimas capaces de digerir proteínas. Existen varios tipos de proteasas. Por ejemplo, la colagenasa es capaz de digerir colágena.

Quelato.- Es la parte iónica (generalmente metálico) de un compuesto de coordinación que se encuentra rodeado por una estructura voluminosa.

Quimiotaxis.- Respuestas de las células ante un estímulo químico. Se dice que el estímulo es positivo cuando hay atracción (por un agente quimioatrayente), y el estímulo negativo cuando hay repulsión quimiotáctica).

Reactivos.- Los reactivos, en histología, constituyen a todas las sustancias que se usan para su estudio, esto es: fijadores, deshidratantes, aclarantes, colorantes, inofensivos, conservadores. Todos modifican las propiedades de los tejidos.

Sección.- Corte ultrafino que se realiza con el microtomo, obteniendo secciones casi planas para el estudio microscópico.

Serosa.- Parte superficial de un órgano, y el cuál es el exterior del mismo (ver mucosa).

Sincitio.- Masa citoplásmica que contiene muchos núcleos y además no contiene límites celulares internos. Las fibras musculares largas del tejido muscular esquelético se forman por fusión de múltiples miocitos. Así, la fibra muscular resulta ser todo el citoplasma multinucleado conocido como sincitio.

Sínfisis.- Línea de unión de dos huesos que estaban separados anteriormente.

Vasculopatía.- Afección del sistema vascular.

9. BIBLIOGRAFÍA

1. Allen, D. (2004) Histopathology Specimens Ed. Springer. London.
2. Arey, L.B. (1974) Human Histology A Textbook in Outline Form 4thed. Ed. W.B. Saunders Co. Philadelphia.
3. Bairati, A; Biffo, S; Corbetta, S; Sala, L.A. Inmunocytochemical localization of protein p27BBP in human skin and invertebrate (*Sepia officinalis*) integument. Cell and Tissue Research. Vol. 321, No. 1: 115-121 (2005)
4. Bergman, R. A. (1989) Atlas of Microscopic Anatomy Ed. W.B.Saunders Co. Toronto.
5. Bloom, W. (1988) A Textbook of Histology 12thed. Ed. W.B.Saunders Co. Toronto.
6. Burns, E.R. (1978) Histology and Human Microanatomy 4thed. Ed.Piccini Editore. Padova.
7. Cajal, S. (1972) Elementos de técnica micrográfica del sistema nervioso 2^aed. Ed Salvat editores Barcelona
8. Cataldi, A; Rapino, C; Bianchi, G; Centurione, L; Zingariello, M; DiGiulio, C; Antonucci, A. Balance between hypertrophic and hypoxic stimulus in caspase-3 activation during rat heart development. Journal of Molecular Histology. Vol. 36, No. 3: 217-224 (2005)
9. Chapman & Hall EPD (1996) The MERCK INDEX on CD ROM, version 12:1 Merck & Co., Inc., Whitehouse Station. N.J.
10. Cormack, D.H. (1988) Histología de Ham 9^aed. Ed. Harla. D.F.
11. DeVita, V.T. Jr. (2003) Cáncer, Principios y práctica de Oncología, Tomo1 2^aed. Ed. Salvat. Barcelona
12. Dosne, C. La etiología del cáncer, vigencia de cinco paradigmas sucesivos. Medicina (Buenos aires) 2003; 63:757-760
13. Enzinger, F.M. (1983) Soft Tissue Tumors Ed. Mosby Company. St.Louis.
14. Equipo para coloración de Wright Agente de Diagnóstico Para Tinción de Frotis Sanguíneo 200 Pruebas (1994) Gerencia General de Biológicos y Reactivos de la Secretaría de Salud. D.F.
15. Ewing, J. (1948) Oncología Ed. Salvat Editores. Barcelona.
16. Fentanes, E. (1990) Citología Clínica 2^aed. Ed. La Prensa Médica Mexicana. D.F.

17. Franks, L.M. (1998) Introduction of the Cellular and Molecular Biology of Cancer 3thed. Ed. Oxford University Press. Oxford.
18. Gartner, L.P. (2003) Atrás Color de Histología 3^aed. Ed. Panamericana. D.F.
19. Geneser, F.(2000) Histología sobre bases moleculares 3^aed. Ed. Panamericana. Madrid.
20. Gennaro, A. (2003) Remington Farmacia 20^aed. Tomo 1. Ed. Panamericana. Buenos Aires.
21. Gloaguen, D. Cáncer: una lucha en todos los frentes. Tonic (revista interna de Sanofi-Aventis). No. 6: 22-31 (2006).
22. Goodwin, M; Yap, A.S. Classical cadherin adhesion molecules: coordinating cell adhesion, signalin and the cytoskeleton. Vol. 35, No. 8-9: 839-844 (2004)
23. Graham, R.M. (1950) The Cytologic Diagnosis of Cancer Ed. W.B. Saunders Co. Philadelphia.
24. Gulubova, M.V; Vlaykova, T.I. Mast cells in human bile duct obstruction. Journal of Molecular Histology. Vol. 35, No. 8-9: 791-801 (2004)
25. Horikawa, I; Michishita, E; Barrett, J.C. Regulation of hTERT transcription: a target of cellular and viral mechanisms for immortalization and carcinogenesis. Cytotechnology, Vol. 45, No. 1-2: 23-32 (2004)
26. Hiyama, E; Hiyama, K. Telomerase detection in the diagnosis and prognosis of cancer. Cytotechnology, Vol. 45, No. 1-2: 61-74 (2004)
27. Hosoya, A; Hoshi, K; Sahara, N; Ninomiya, T; Akahane, S; Kawamoto, T; Ozawa, H. Effects of fixation and decalcification on the immunohistochemical localization of bone matrix proteins in fresh-frozen bone sections. Histochemistry and Cell Biology. Vol. 123, No. 6: 639-646. (2005)
28. INEGI, México en Corto: 4 de Febrero, día mundial contra el cáncer. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. Información sobre Tumores Malignos. México, D.F. a 4 de Febrero de 2006. 2 pp. www.inegi.gob.mx
29. Jung, M; Gotterbarm, T; Gruettgen, A; Vieli, S.B; Breusch, S; Richter, W. Molecular characterization of spontaneous and growth-factor-augmented chondrogenesis in periosteum-bone tissue transferred into a joint. Histochemistry and Cell Biology. Vol. 123, No. 4-5: 447-456 (2005)
30. Kassem, M; Abdallah, B.M; Yy, Z; Ditzel, N; Burns, J.S. The use of hTERT-immortalized cells in tissue engineering. Cytotechnology. Vol. 45, No. 1-2: 39-46 (2004)
31. Kiernan, J.A. (1990) Histological & Histochemical Methods, Theory and Practice 2thed. Ed. Pergamon Press. Oxford.

32. Kierszenbacaum, A. (2002) Histology and Cell Biology, an introduction to Pathology. Ed. Mosby. Missouri.
33. Klatt, E.C. (1994) WebPath
<http://www-medlib.med.utah.edu/WebPath/webpath.html>
34. Kubin, T; Tomars, M; Fach, C; Hein, S; Bramlage, P; Shim, G; Scholz, D; Kostin, S; Zimmermann, R; Elsässer, A; Schaper, W; Schaper, J. Transforming growth factor-beta 1 downregulates beating frequency and remodeling of cultured rat adult cardiomyocytes. Cell and Tissue Research. Vol. 321, No. 1: 57-66 (2005)
35. Kurman, R.J. (1989) Blaustein's Pathology of the Female Genial Tract 3thed. Ed. Springer-Verlag. N.Y.
36. Leeson, R; Leeson, T.(1998)Texto/atlas de Histología Ed.Interamericana. D.F
37. Linman, J.W. (1975) Hematology, Physiologic, Pathophysiologic and Clinical Principles Ed. Macmillan Publishing Co., Inc. N.Y.
38. Mahajan, A; Naylor, S; Mills, A.D; Low, J.C; Mackellar, A; Hoey, D.E.E; Currie, C.G; Gally, D.L; Huntley, J; Smith, D.G.E. Phenotypic and functional characterisation of follicle-associated epithelium of rectal lymphoid tissue. Cell and Tissue research. Vol. 321, No. 3: 365-374 (2005)
39. Marcuse, P.M. (1966) Diagnostic Pathology in Gynecology and Obstetrics Ed. Harper & Row Publishers, Inc. N.Y.
40. Márquez, H. Cáncer: Patogenia, invasión y metástasis, tratamiento con nucleótidos antisentido en un modelo in vivo. Patología 32:143-153 (1994).
41. Martin, A. (1969) Physical Pharmacy 2^aed. Ed.Lea & Febiger. USA
42. Martoja, R. (1970) Técnicas de histología Animal Ed. Tora-Masson. Barcelona.
43. Mateos, A. (1984) Etimologías Grecolatinas del Español 21^aed. Ed. Esfinge. D.F.
44. Montoreano, R. (2002) Manual de Fisiología y Biofísica para estudiantes de medicina. Tomo 1. Edición electrónica 2002.
http://www.fundabiomed.fcs.uc.edu.ve/general_index.pdf
45. Murray, R.K. (1997) Bioquímica de Harper 14^aed. Ed. Manual Moderno. D.F.
46. Osteen, R.T. (1990) Cancer Manual 8thed. Ed. American Cancer Society Boston.
47. Patel, K.P; Vonderheide, R.H. Telomerase as a tumor-associated antigen for cancer immunotherapy. Cytotechnology. Vol. 45. No. 1-2: 91-99 (2004)

48. Privat, N., Sazdovitch, V., Seilhean, D., Laplanche, J.L., Hauw, J.J. PrP Immunohistochemistry: Different Protocols, Including a Procedure for Long Formalin Fixation, and a Proposed Schematic Classification for Deposits in Sporadic Creutzfeldt-Jakob Disease. *Microscopy Research and Technique* 50:26-31 (2000).
49. Rendal, M.E; Rodríguez, M; Díaz, T; Juffé, A; Doménech, N; Adrio, B; Sánchez, M.J; Andi6n, C; Blanco, F.J. Cellular cardiomyoplasty: development of a technique to culture human myoblasts for clinical transplantation. *Cell and Tissue Banking*. Vol. 6, No. 2: 117-124 (2005)
50. Resnick, R. (1992) *Física parte 2*, Ed. CECSA. D.F.
51. Ross, M.H. (1997) *Histología Texto y Atlas Color 3ªed.* Ed. Médica Panamericana. D.F.
52. Sanpritter, W. (1981) *Macropatología Manual y atlas para médicos y estudiantes* Ed. Reverté. Madrid.
53. Schindlbeck, C; Jeschke, U; Schulze, S; Karsten, U; Janni, W; Rack, B; Sommer, H; Friese, K. Characterisation of disseminated tumor cells in the bone marrow of breast cancer patients by the Thomsen-Friedenreich tumor antigen. *Histochemistry and Cell Biology*. Vol. 123, No. 6: 631-637 (2005)
54. Stanley, L.R. (2004) *Patología Humana 7ªed.* Ed. Saunders Elsevier. Madrid.
55. Takahashi, S; Nakamura, S; Domon, T; Yamamoto, T; Wakita, M. Active participation of apoptosis and mitosis in sublingual gland regeneration of the rat following release from duct ligation. *Journal of Molecular Histology*. Vol. 36, No.3:199-205 (2005)
56. Torres, J.; Aguilar, M.L.; Arias, J.M.; Cornejo, M.A.; García, C.G.; Luna, L.; Ocampo, J.; Zúñiga, N.D.(1995) *Manual de Laboratorio de Histología Veterinaria UNAM, FES-Cuautitlan, Sección de Ciencias Morfológicas.*
57. Underwood, J. (2004) *General and Systematic Pathology 4thed.* Ed. Churchill Livingstone. Toronto.
58. Weiss, L. (1982) *Histología 4ªed.* Ed. El Ateneo. Buenos Aires.
59. Whitten, K.W. (1998) *Química General 5ªed.* Ed. MacGraw Hill. Madrid
60. Wingrove, A.S. (1992) *Química Orgánica*, Ed. Harla. D.F.
61. Wolf, M; Scarbrough, M. (1996) *The JayDoc HistoWeb*
<http://www.kumc.edu/instruction/medicine/anatomy/histoweb/histoweb.htm>
62. Young, B. (2003) *Wheater's Histología Funcional 4ªed.* Ed. Elsevier Science. Madrid

DIRECCIONES ELECTRÓNICAS:

1. www.A\biol_305.html
2. www.A\histnotes.html
3. www.biology.clc.uc.edu/fankhauser/Labs/Anatomy_&_Physiology/A&P202/CNS_Histology/Brain_Histology.htm
4. www.bris.ac.uk/Depts/PathAndMicro/tutorials/proc/process.htm
5. www.courses.washington.edu/pharm309/calculations/lesson3/lesson3.htm
6. www.escuela.md.puc.cl/paginas/cursos/segundo/histologia/Histologiaweb/pagina.html
7. www.fundabiomed.fcs.uc.edu.ve/general_index.pdf
8. www.geocities.com/Athens/Academy/1575/
9. www.home.primus.com.au/royellis/tp.htm
10. www.inegi.gob.mx
11. www.kumc.edu/instruction/medicine/anatomy/histoweb/histoweb.htm
12. www.medic.med.uth.tmc.edu/edprog/histolog/nerve/hist-04.htm
13. www.methodisthealth.com/spanish/pathology/index.htm
14. www.mic.ki.se/Anatomy.html
15. www.ndif.org/Terms/anaplasia.html
16. www.newscenter.cancer.gov/sciencebehind/cancersp/cancerp00.htm
17. www.newslab.com.br/colora_hemato.htm
18. www.nottingham.ac.uk/pathology/default.html
19. www.phenix5.org/glossary/anaplasia.html
20. www.swehsc.pharmacy.arizona.edu/exppath/micro/histology.html
21. www.udel.edu/Biology/Wags/histopage/histopage.htm
22. www.users.ren.com/jkimball.ma.ultranet/Biology_Pages/C/Cancer.html
23. www.wv-hsta.org/Nanatomy/default.htm
24. www-medlib.med.utah.edu/WebPath/webpath.html