



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**TÉCNICAS DE TINCIÓN MACROSCÓPICA PARA
EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL EN PERROS**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MEDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

PRESENTA:

LORENA TOSCANO MÁRQUEZ

ASESORES:

MVZ SANTIAGO AJA GUARDIOLA

MVZ SAMUEL U. VILLAGÓMEZ DURÁN

MEXICO D.F

2011





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.

AGRADECIMIENTOS

Un especial agradecimiento a mis padres Yolanda y Rubén, por su cariño y apoyo que siempre me han brindado, así como por inculcarnos el deseo de superación y la pasión por la ciencia. A mis hermanas les agradezco el apoyo y comprensión en todas mis ideas unas más locas que otras.

Le agradezco a mis amigos Daniel y Ulises por su paciencia y comprensión en mis arranques de estrés. Y muy especialmente a Paulina por estar en los momentos más importante apoyándome y aconsejándome en todos estos años.

A mis amigos de la facultad; pero muy especialmente a Diana, Ariani, Andrea, Aura y Mariana con las cuales pasé momentos inolvidables a lo largo de toda la carrera.

Al Dr. Aja por su paciencia y enseñanzas, durante la realización de este trabajo

Al Dr. Villagómez y su familia por su apoyo, cariño y comprensión.

A los encargados de necropsias Virgilio y Alfredo por su ayuda para la obtención de material.

A la Escuela Nacional Preparatoria plantel #8 “Miguel E. Schulz” por la ayuda para la elaboración de este trabajo.

CONTENIDO

| | Página |
|---------------------------|--------|
| RESUMEN..... | 1 |
| INTRODUCCIÓN..... | 2 |
| MATERIALES Y MÉTODOS..... | 4 |
| RESULTADOS..... | 11 |
| DISCUSIÓN..... | 47 |
| REFERENCIA..... | 51 |
| ANEXOS..... | 54 |

RESUMEN

TOSCANO MÁRQUEZ LORENA. Técnicas de Tinción Macroscópica en Sistema Nervioso Central en Perros (bajo la dirección de: MVZ Santiago Aja Guardiola y MVZ Samuel U. Villagómez Durán).

En el presente trabajo se hace una revisión sobre algunas de las principales técnicas utilizadas para diferenciar la sustancia gris de la sustancia blanca en cortes del sistema nervioso central, que son de gran utilidad en la enseñanza de la anatomía, la patología, la investigación y la museografía. Las coloraciones que proveen estas técnicas se basan en las diferencias físicas y químicas de la sustancia gris y la sustancia blanca y su comportamiento ante la acción de diversos procesos químicos y físicos. Estas diferencias son básicamente la cantidad de lípidos y proteínas en cada una de las sustancias y sus propiedades hidrofóbicas e hidrofílicas. Las técnicas que muestran los mejores resultados por tener un mejor contraste y diferenciación son la técnica de Roberts, y la reacción de Prusian, Millon y Mulligan. Las tinciones más baratas fueron: tinción Gregg, reacción de Prusian, tinción de Roberts, tinción de Meneses y yoduro de plomo. Las tinciones que llevan en un menor tiempo en su realización son: la tinción de Green, tinción de Meneses, sulfuro de cobalto y sulfuro de plomo.

INTRODUCCIÓN

A lo largo del tiempo se han descrito diversas técnicas de tinción que facilitan el estudio macroscópico del cerebro.¹ Estas técnicas se pueden dividir en dos tipos, aquellas que **tiñen la sustancia gris**, como son las técnicas descritas por Landau 1919; Sinke 1926; Mainland 1928; Mulligan 1931; Blair, Davies y McClelland 1932; Le Mauseurier 1935; Kramer 1936; Brown 1939; Barnard, Roberts y Brown 1949; Roberts y Hanaway 1962; Solanki 1966; Gregg 1975; Braak 1978. Y las que **tiñen la sustancia blanca**, entre ellas las descritas por Waldam y Michaels 1954, Brody y Wirth 1957 y Hewitt 1959.²⁻⁶

El objetivo principal de las técnicas es facilitar la enseñanza, el aprendizaje, la homogenización y la homologación del estudio de la neuroanatomía y la neuropatología.⁵ Las principales causas que dificultan este estudio son: la recolección del material biológico, el manejo del tejido que es fácilmente destruido al ser manipulado, así como, la observación de los núcleos subcorticales en muestras que no se encuentran teñidas.⁷ En la enseñanza de la anatomía comparada, la tinción permite ver con mayor claridad cada surco, giro, eminencia, comisura o núcleo que son importantes en términos de función y filogenética, permitiendo así, la diferenciación de especies.⁸

Estas técnicas se han utilizado en el análisis por computadora en el Quantimet 720, para permitir la diferenciación de la sustancia gris, la blanca y el fondo y así, poder realizar las mediciones de la sustancia gris, que son de gran utilidad en el estudio cuantitativo de enfermedades desmielinizantes, como por ejemplo, la esclerosis múltiple.⁹

Los métodos de tinción descritos por diversos autores se basan en el grado de penetración y absorción de los reactivos por parte de la sustancia gris y blanca. Cuando el tejido nervioso es sometido a los reactivos, las características físicas y químicas que diferencian a la sustancia gris de la blanca (hidrofílica e hidrófoba), es lo que determina la coloración de ambas sustancias, así como la afinidad tintorial de los reactivos.^{2,10.}

Hipótesis:

La sustancia gris y la sustancia blanca del sistema nervioso central tienen propiedades bioquímicas diferentes que permiten su tinción con diversos colorantes.

Objetivos:

General

Aplicar las principales técnicas de tinción macroscópica para el sistema Nervioso Central.

Específicos

Determinar cuál de las diferentes técnicas de tinción macroscópica tiene una mejor diferenciación de la sustancia gris y blanca.

Determinar cuál técnica presenta una mejor coloración del tejido nervioso.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se obtuvieron 30 encéfalos y 2 médulas espinales de perro, de fuentes éticamente responsable, como son: El Hospital Veterinario de Especialidades y la Sala de Necropsias de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Los encéfalos y las médulas espinales se fijaron en solución de McCormick, por un periodo de 2 a 4 semanas. Se procedió a realizar los cortes transversales y sagitales del encéfalo (4 mm y 6 mm de grosor, respectivamente), mediante el uso de cuchillo para cerebros (cuchillo de hoja delgada de 35 cm de largo y grosor de 1 mm). Para realizar los cortes se colocó el encéfalo en una tabla de corte adicionada con dos barras laterales de madera de ancho de 4mm o 6mm. Para realizar el corte se sostuvo firmemente el encéfalo entre las dos barras y se procedió a realizar el corte con el cuchillo pasando por arriba de la barras de madera. Una vez cortados, se volvieron a colocar en solución de McCormick por 8 horas, antes de proceder a teñir los cortes.

En el caso de las médulas espinales se cortaron transversalmente con un grosor de 6 mm.

Técnica de tinción de Mulligan, descrita por Mulligan ¹¹.

Colocar las secciones de encéfalo en una solución de Mulligan (Fenol cristalino 4 g, 0.125ml de ácido clorhídrico, 0.5 g de sulfato de cobre y 100 ml de agua destilada) a 60°C por 2 min. Colocar en agua fría por 1 min. Colocar en una solución de ácido tánico al 2% en agua destilada por 1 min. Enjuagar en agua corriente por 5 min. Colocar

en una solución de sulfato de amonio férrico al 2% hasta lograr el teñido. Lavar en agua.

Técnica de tinción de Mulligan, descrita por Meneses^{12.}

Sumergir los cortes de encéfalo por 2 min en solución Mulligan a 60 - 65°C. Enjuagar en agua por 15 seg. Sumergir en una solución de ácido tánico al 2% por 1 min. Lavar en agua. Colocar los cortes en una solución de sulfato de amonio férrico al 0.5% por 1 min. Se vuelven a lavar en agua.

Técnica de tinción de Mulligan, descrita por Gregg^{4,13.}

Colocar las secciones de encéfalo en solución de Mulligan por 4 min a temperatura de 60 - 65°C. Colocar en agua helada por 10 seg. Colocar en una solución de ácido tánico al 0.4% a temperatura ambiente por 1 min. Lavar en agua por 1 min. Colocar en una solución de sulfato de amonio férrico al 0.08% por 10 - 15 seg. Lavar con agua.

Técnica de tinción de Green^{12.}

Se procede a preparar 3 soluciones de la siguiente manera: A) solución: sol Mulligan, B) solución: ácido tánico al 2%, C) solución: sulfato de amonio férrico al 2%.

Lavar los cortes de encéfalo en agua. Sumergirlos en la cubeta A por 1 min. Seguido de la cubeta B. Lavar los cortes en agua por 15 seg. Sumergirlos en la cubeta C por 15 seg. Lavarlos en agua.

Técnica de tinción de Barnard, Robert y Brown^{12.}

Sumergir los cortes de encéfalo en sol. de Mulligan a 60 - 65°C, por 2 min. Lavar en agua 1 min. Se colocan los cortes en solución de cloruro férrico al 1 % por 3 min. Lavar

en agua por 1 min. Colocar en solución de ferrocianuro de potasio al 1% por 1 min.
Lavar con agua.

Técnica de tinción de Roberts^{1, 13.}

Colocar las secciones de encéfalo en solución de Mulligan por 6 min a 60 - 65°C.
Lavar en agua por 5 min. Colocar en solución de ferrocianuro de potasio al 2% por 1 min. Lavar en agua.

Técnica de tinción de Le Masurier o Reacción de Prusian^{13.}

Colocar los cortes de encéfalo en solución de Mulligan por 2 min. a 60 - 65°C. Colocar en agua helada. Colocar en solución de cloruro férrico al 1% por 2 min. Lavar con agua 5 min. Colocar en una solución de ferrocianuro de potasio al 1% por 3 min. Lavar con agua.

Técnica de tinción Braak o Astra Blue^{5,7,13.}

Colocar las secciones de encéfalo en una solución de ácido perbórmico (10 ml peróxido de hidrógeno al 30% y 90ml ácido fórmico al 100%) a temperatura ambiente y agitar por 1h. Lavar en agua 1 h. Colocar en una solución de *astra blue* (0.1 g de *astra blue* y 1 ml de HCl 37% en 1 L de agua) a temperatura ambiente y agitar por 1 días. Lavar con agua por 8 h.

Tinción con oftalocianina de cobre o “CPTS”^{14,17.}

Sumergir los cortes de encéfalo en sol. de Mulligan por 5 min a 60°C. Trasladarlas a una temperatura de 10°C y lavar con agua por 1 minuto. Colocar las secciones de cerebro en una solución saturada de sal de sodio del ácido tetrasulfo de la tealocinina de

cobre (Solución al 1% de CPTS, se dejan en un agitador magnético por lo menos 60 min) se deja a temperatura ambiente por 10 - 15 min. Lavar los cortes de encéfalo en agua corriente por 15 min. Transferir a la solución de ácido acético al 0.5% para su almacenamiento.

Técnica de tinción de Millon ⁶.

Los cortes de encéfalo se lavan perfectamente y son colocados en una solución nítrica de mercurio (5ml de mercurio con la cantidad suficiente de ácido nítrico para formar cristales blanquecinos. Disolver los cristales en 1 L de agua acidificada al 1% con ácido nítrico) calentada a 80°C; la coloración es controlada al trasladar los cortes de cerebro a una solución de ácido nítrico al 1%.

Reacción de precipitación de sulfuro de cobalto. ¹⁰.

Colocar las secciones de encéfalo en solución de sulfuro de sodio al 5% por 3 minutos. Lavar en agua. Colocar en sol de nitrato de cobalto al 1% hasta una buena diferenciación. Lavar en agua corriente.

Reacción de precipitación de sulfuro de plomo ¹⁰.

Colocar los cortes de encéfalo en solución de sulfuro de sodio al 5% por 3 min. Lavar en agua. Colocar en solución de nitrato de plomo al 1% hasta una buena diferenciación. Lavar en agua corriente.

Reacción de precipitación de yoduro de plomo¹⁰.

Colocar las secciones de encéfalo en solución de nitrato de plomo al 1% por 6 min. Lavar en agua corriente por 1 min. Colocar en solución de yoduro de potasio al 5% hasta una buena diferenciación. Lavar en agua.

Técnica de Sudán².

Realizar una solución 50:50 de alcohol al 70% y acetona. Mezclar con 0.5 g de Sudán III y 0.5 g de Sudán IV por cada 100 ml de la solución. Sumergir los encéfalos y la médula espinal (sin seccionar los encéfalos ni la médula hasta después del desteñido) en la solución en una proporción de 10 partes de solución por 1 de encéfalo. El teñido esta completo cuando este coloreado de un rojo uniforme (aproximadamente un mes). Una vez teñido se sumerge en alcohol al 70% para desteñir.

Técnica Sudán Negro B³.

Lavar los cortes de encéfalo en agua corriente. Remover el agua superficial con toallas sanitas. Preparar una solución de Sudán negro B al 1% (La tinción es disuelta en alcohol absoluto o alcohol al 96%), que después, es diluido al 70% con alcohol. Filtrar antes de usar. Colocar los cortes de encéfalo en la solución anterior por una hora. Para desteñir se colocan las secciones en alcohol al 70%. Sumergir las secciones en alcohol al 50% por una hora y lavar.

Una vez teñidos los cortes de encéfalo y médula espinal se compararán las diferentes tinciones con base en los siguientes puntos:

- Diferenciación de estructuras en las diversas secciones del encéfalo y médula espinal. Se compararán los cortes, con base en el método utilizado por Meneses (2004), el cual, consta de tres criterios: ¹².

- ✓ Diferenciación más nítida entre la sustancia gris y blanca. Se estipulará una puntuación del 0 al 3 para cada corte. ¹²

- Puntuación 0: Cortes que presentan una mejor diferenciación en el 25% de la superficie total del corte.

- Puntuación 1: Cortes que presentan una mejor diferenciación en el 25- 50 % de la superficie total del corte.

- Puntuación 2: Cortes que presentan una mejor diferenciación en un 50 -75% de la superficie total del corte.

- Puntuación 3: Cortes que presentan una mejor diferenciación en el 75% o más de la superficie total del corte

- ✓ Línea única y continua que separa la sustancia gris de la blanca naturalmente. En este se analizará cual técnica se mantiene con una mejor fidelidad de la línea que separa naturalmente la sustancia gris de la blanca. Se dará una puntuación del 0 al 3. ¹².

- Puntuación 0: Cortes que presentan una línea única y continua en el 25% de la línea de división natural.

- Puntuación 1: Cortes que presentan una línea única y continua en un 25 - 50% de la línea de división natural.

- Puntuación 2: Cortes que presentan una línea única y continua en un 50 - 75% de la línea de división natural.

- Puntuación 3: Cortes que presentan una línea única y continua mayor al 75% de la línea de división natural.
- ✓ Coloración. Se estipulará la puntuación del 0 al 3.¹²
 - Puntuación 0: Cortes que presentan una coloración en la substancia que no se desea teñir en una superficie mayor al 75% del corte.
 - Puntuación 1: Cortes que presentan una coloración en la substancia que no se desea teñir en un 50 -75% de la superficie total del corte.
 - Puntuación 2: Cortes que presentan una coloración en la substancia que no se desea teñir en un 25-50% de la superficie total del corte.
 - Puntuación 3: Cortes que presentan una coloración en la substancia que no se desea teñir menor al 25% de la superficie total del corte.

Con estos tres parámetros se le puede dar una calificación de entre 0 y 9 para cada tinción. Se utilizaron 35 cortes para cada técnica, incluyendo cortes transversales y sagitales de encéfalo y, cortes transversales de médula espinal; obteniéndose un promedio para cada punto a considerar y sumándolos para obtener la puntuación total.

- Costos de los reactivos
- Tiempo de realización.

RESULTADOS

Tinción de Mulligan, descrita por Mulligan



Figura 1. Corte transversal de cerebro de perro a nivel del tálamo.



Figura 2. Corte transversal de cerebro de perro a nivel de hipocampo.

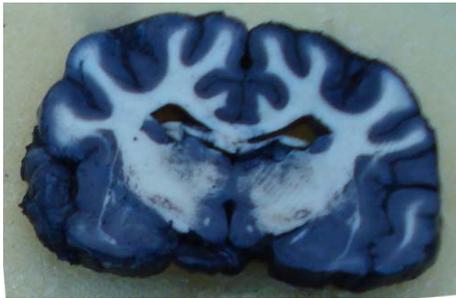


Figura 3. Corte transversal de cerebro de perro a nivel de tálamo.



Figura 4. Corte transversal de cerebro de perro a nivel del pedúnculo olfatorio.



Figura 5. Corte sagital de encéfalo de perro a nivel de la adherencia intertalámica.



Figura 6. Corte sagital de encéfalo de perro a nivel del hemisferio cerebelar izquierdo.



Figura 7. Corte transversal de la médula espinal de perro a nivel de cervical.



Figura 8. Corte transversal de la médula espinal de perro a nivel cervical.

La tinción de Mulligan, descrita por Mulligan dió una coloración negra en la substancia gris dejando la substancia blanca de un color blanco. La línea que divide a la substancia gris de la blanca se presentó muy nítida en la mayoría de los cortes. La desventaja de esta tinción es que al sumergirse en solución de Mc Cormick empieza a liberar la sal, ocasionando que se destiñan los cortes de encéfalo con el paso del tiempo.

En los cortes de médula espinal se observó que no se tiñen adecuadamente, observándose de forma moteada la substancia gris y la línea no se encuentra bien definida.

Esta tinción presenta una buena diferenciación de los núcleos subcorticales, observándose claramente cada uno de ellos.

Tinción de Mulligan descrita por Meneses

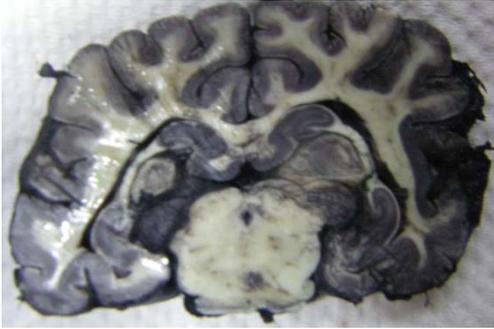


Figura 9. Corte Transversal de cerebro de perro a nivel del puente



Figura 10. Corte Transversal de cerebro de perro a nivel del puente.

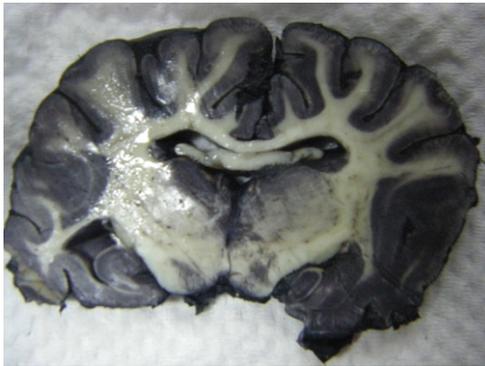


Figura 11. Corte Transversal en la unión del mesencéfalo y el diencéfalo.



Figura 12. Corte Transversal del cerebelo de perro a nivel del núcleo facial.



Figura 13. Corte Sagital de encéfalo de perro a nivel núcleo caudado.



Figura 14. Corte Sagital de encéfalo de perro a nivel de la epíffisis.



Figura 15. Corte Transversal de la médula espinal de perro a nivel lumbar y torácico.



Figura16. Corte Transversal de la médula espinal de perro a nivel torácico.

La tinción de Mulligan descrita por Meneses presenta una coloración gris negruzca en la sustancia gris, dejando la sustancia blanca sin teñir. La diferenciación se observó claramente gracias a que la línea de separación entre ambas sustancias se observa con una buena definición.

La desventaja de esta técnica, al igual que todas las demás variantes de la tinción de Mulligan, es que se destiñen por la exposición a la luz y al ser introducidos en solución de Mc Cormick. Esta última situación puede ser interrumpida si se les coloca una capa de una solución coloidal (gernetina) en la superficie del corte.

En el caso de la médula espinal presentó una buena coloración de la materia gris, aunque sigue observándose un puntillado y de un color más tenue que el de los encéfalos.

Los núcleos subcorticales se observaron bien definidos, aunque con un poco menos de definición que los de la técnica de Mulligan descrita por Mulligan.

Tinción de Mulligan, descrita por Gregg



Figura 17. Corte transversal de cerebro de perro a nivel de la adherencia intertalámica.



Figura 18. Corte transversal de cerebro de perro a nivel de la línula.

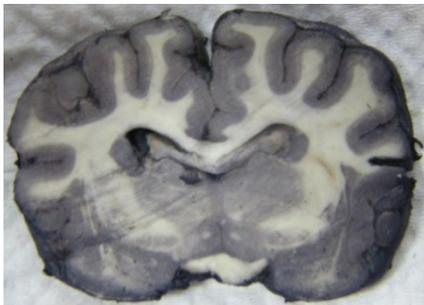


Figura 19. Corte transversal de cerebro de perro a nivel de la adherencia intertalámica.



Figura 20. Corte transversal de cerebelo de perro a nivel de la línula.



Figura 21. Corte sagital de encéfalo de perro a nivel del núcleo caudado.



Figura 22. Corte sagital de encéfalo de perro a nivel de primer ventrículo lateral izquierdo.



Figura 23. Corte transversal de médula espinal de perro a nivel torácico y lumbar.



Figura 24. Corte transversal de médula espinal de perro a nivel torácico y lumbar.

La sustancia gris adquirió una tonalidad grisácea, mientras que la sustancia blanca permanece de color blanco. Se vio un buen contraste entre la sustancia gris y la blanca a pesar de que la sustancia gris no se tiñó de un color negro como en las otras variantes de la tinción de Mulligan. La línea en el margen de separación entre ambas sustancias se aprecia de forma continua, favoreciendo un mejor contraste en el corte.

En los cortes de la médula espinal se observó la sustancia gris con un puntillado y sin lograr formar una línea continua a lo largo del margen de separación entre la sustancia gris y la blanca.

La observación de los núcleos subcorticales es de forma clara, aunque de un gris ligeramente más tenue que el de la sustancia gris.

Tinción de Mulligan, descrita por Green



Figura 25. Corte transversal de cerebro de perro a nivel de los cuerpos mamilares.



Figura 26. Corte transversal de cerebro de perro a nivel del quiasma óptico.



Figura 27. Corte transversal de cerebro de perro a nivel del puente.



Figura 28. Corte transversal de cerebro y cerebelo de perro a nivel de la línula.



Figura 29. Corte sagital de encéfalo de perro a nivel de la adherencia intertalámica.



Figura 30. Corte sagital de encéfalo de perro a nivel del ventrículo lateral.



Figura 31. Corte transversal de médula espinal de perro a nivel torácico.

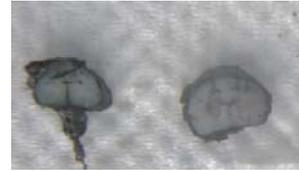


Figura 32. Corte transversal de médula espinal de perro a nivel torácico.

Se observa una coloración negra en la sustancia gris mientras que la sustancia blanca se tiñe de una coloración ligeramente grisácea; pero a pesar de eso, se generó un buen contraste entre ambas sustancias, gracias a que la línea es continua. Al igual que las técnicas anteriores, se va perdiendo la coloración por la exposición a la luz, así como, por la inclusión en solución de Mc Cormick, tendiendo a perder mayor cantidad de colorante comparado con las otras técnicas.

La sustancia gris de los cortes de médula espinal se ve con un puntillado difuso e incluso en algunas zonas no se llega a teñir.

Los núcleos subcorticales se observaron con cierta claridad, aunque no llegan a tener un buen contraste como en las otras tinciones de Mulligan, debido que la materia blanca se tiñó ligeramente de gris.

Tinción de Barnard, Robert y Brown



Figura 33. Corte transversal de cerebro de perro a nivel de la adherencia intertalámica.

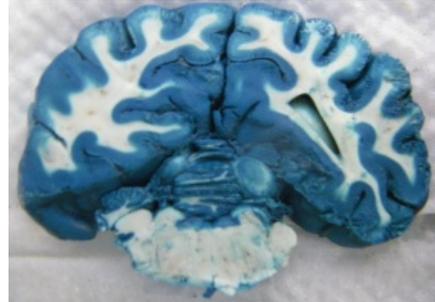


Figura 34. Corte transversal de cerebro de perro teñido entre el mesencéfalo y el metencéfalo.



Figura 35. Corte transversal de cerebro y cerebelo a nivel de línula.

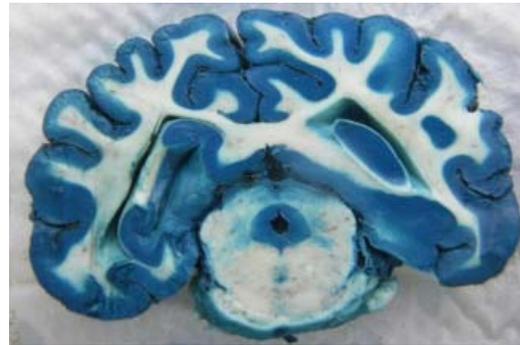


Figura 36. Corte transversal de cerebro de perro a nivel del puente.



Figura 37. Corte sagital de encéfalo de perro a nivel del ventrículo lateral.



Figura 38. Corte sagital de encéfalo de perro a nivel del ventrículo lateral.

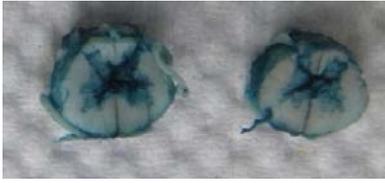


Figura 39. Corte transversal de médula espinal de perro a nivel cervical.

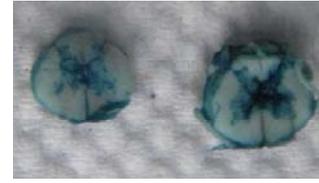


Figura 40. Corte transversal de médula espinal de perro a nivel cervical.

La tinción de Barnard, Robert y Brown, da una coloración azul a la sustancia gris, con la cual, se obtiene un buen contraste entre ambas sustancias, ya que la sustancia blanca permanece sin teñir. La línea de separación de ambas sustancias se observó de forma muy clara incluso en los cortes de médula espinal. Aunque la médula espinal se sigue observando moteada como en la tinción de Mulligan, tiene un mejor contraste. Los núcleos subcorticales se distinguen claramente.

Esta técnica se ha reportado que tiende a desteñir a la exposición de rayos ultravioleta, pero que puede ser controlado con la adición de ácido clorhídrico en un 2% al medio donde se van a conservar. Sin observarse que desteñan al conservarse en la solución de Mc Cormick.

Tinción de Roberts



Figura 41. Corte transversal de cerebro de perro a nivel del puente.



Figura 42. Corte transversal de cerebro de perro a nivel de la adherencia intertalámica.

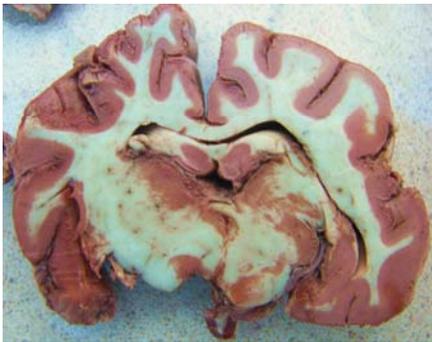


Figura 43. Corte transversal de cerebro de perro a nivel de la adherencia intertalámica.



Figura 44. Corte transversal de cerebelo a nivel de la fisura prima.



Figura 45. Corte sagital de encéfalo de perro a nivel del núcleo caudado.

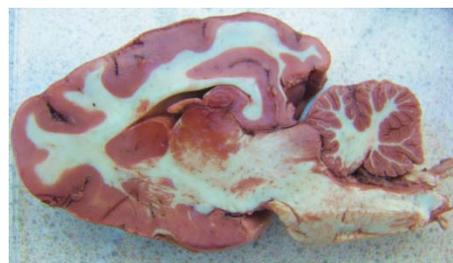


Figura 46. Corte sagital de encéfalo a nivel del núcleo caudado.



Figura 47. Corte transversal de médula espinal de perro a nivel torácico.



Figura 48. Corte transversal de médula espinal de perro a nivel torácico.

La tinción de Roberts es de las mejores técnicas que se realizaron, debido a que tiene un buen contraste entre la sustancia gris (café) y la sustancia blanca (blanca), además que la línea de separación es de gran calidad, ya que se presenta de forma continua en casi en el 100% de la superficie de corte.

En el caso de los cortes de médula espinal se observa una coloración homogénea de la sustancia gris a diferencia de las otras técnicas.

Los núcleos subcorticales se observan de forma clara y con una muy buena definición.

Otra de las razones es que no se observa que destiña a lo largo del tiempo sin la necesidad de adicionar ácido al medio de conservación, aunque se deberían de realizar pruebas por tiempos más prolongados.

Tinción de Le Masurier o Reacción Prusian:

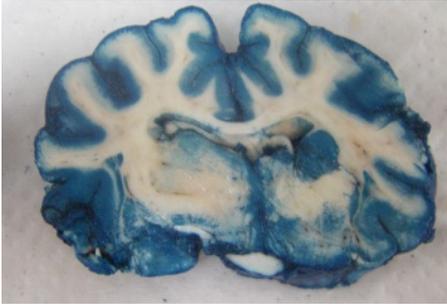


Figura 49. Corte transversal de cerebro de perro a nivel de la adherencia intertalámica.



Figura 50. Corte transversal de cerebro de perro a nivel de puente.

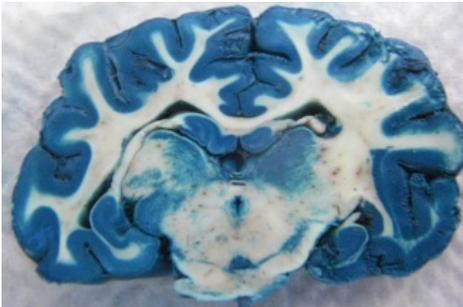


Figura 51. Corte transversal de cerebro de perro a nivel del puente.



Figura 52. Corte transversal de cerebelo de perro a nivel de la fisura prima.



Figura 53. Corte sagital de encéfalo de perro a nivel del ventrículo lateral izquierdo.



Figura 54. Corte sagital de encéfalo de perro a nivel de la adherencia intertalámica.

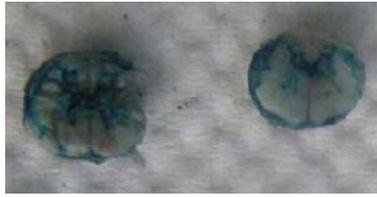


Figura 55. Corte transversal de médula espinal de perro a nivel torácico.

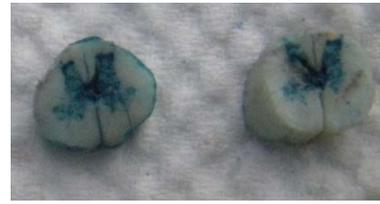


Figura 56. Corte transversal de médula espinal de perro a nivel torácico

La tinción de Le Masurier tuvo resultados muy similares a los de la técnica de Barnard, Robert y Brown, con lo que se puede decir que la diferencia de tiempo no es tan importante como la concentración a la que se encuentran las soluciones, tal como se observó en las variantes de la técnica de Mulligan. Se puede observar la substancia gris teñida de un color azul, mientras que la substancia blanca permanece de color blanco; la línea es de forma continua en la mayor parte de la superficie del corte. Al igual que la técnica de Barnard, Robert y Brown, se puede evitar la decoloración de los corte mediante la acidificación de la solución conservadora.

En los cortes de médula espinal se observan claramente la coloración azul de la substancia gris aunque de forma moteada y la línea se observa casi completa.

Los núcleos subcorticales se observan claramente.

Tinción de Braak o Astra Blue



Figura 57. Corte transversal de cerebro de perro a nivel del telencéfalo.



Figura 58. Corte transversal de cerebro de perro a nivel de la adherencia intertalámica.



Figura 59. Corte transversal de cerebro de perro a nivel del puente.



Figura 60. Corte transversal de cerebro y cerebelo a nivel del puente..



Figura 61. Corte sagital de encéfalo de perro a nivel de la adherencia intertalámica.



Figura 62. Corte sagital de encéfalo de perro a nivel del puente intertalámico.



Figura 63. Corte transversal de médula espinal de perro a nivel lumbar.



Figura 64. Corte transversal de médula espinal de perro a nivel lumbar.

La tinción de Astra Blue o de Braak no presentó los resultados obtenidos por Braak, Ulfing y Suriyaprapadilok, los cuales reportan que, ofrecen una buena diferenciación entre la sustancia gris(azul) y la blanca (blanca) . En este caso realmente no se observó un buen contraste entre ambas sustancias, donde la sustancia blanca se tiño casi del mismo color y sin observarse una línea de separación adecuada.

En el caso de la médula espinal se observó claramente la sustancia gris de una coloración azul más clara con respecto a la sustancia blanca, observándose una línea divisoria de gran nitidez.

Debido a la poca diferenciación que hay entre la sustancia gris y la blanca los cuerpos subcorticales no se observan.

Tinción de oftalocianina de cobre o “CPTS”



Figura 65. Corte transversal de cerebro de perro a nivel de le puente.



Figura 66. Corte transversal de cerebro de perro a nivel de los ventrículos laterales.

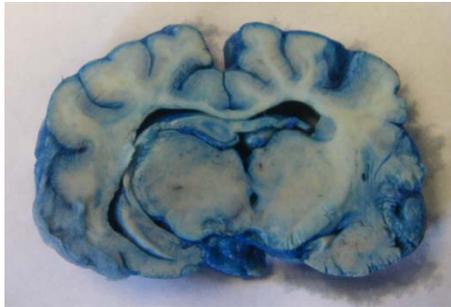


Figura 67. Corte transversal de cerebro de perro a nivel de la adherencia intertalámica.



Figura 68. Corte transversal de cerebro y cerebelo a nivel de la porción rostral de la médula oblonga.



Figura 69. Corte sagital de encéfalo de perro a nivel de la adherencia intertalámica.

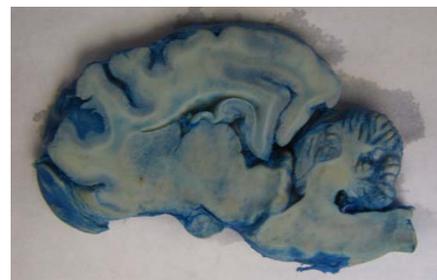


Figura 70. Corte sagital de encéfalo de perro a nivel del ventrículo lateral izquierdo.



Figura 71. Corte transversal de médula espinal de perro a nivel torácico.



Figura 72. Corte transversal de médula espinal de perro a nivel torácico.

La Tinción de CPTS tiñe la sustancia gris de un azul claro, mientras que la sustancia blanca permanece de color blanco, aunque con ligeras tonalidades de azul. El contraste entre ambas sustancias no está bien definido, debido a que la sustancia gris no se tiñe de forma homogénea y no se forma una línea de forma continua.

En los cortes de médula espinal no se observa la diferenciación de la sustancia gris y blanca, ya que toda la superficie del corte se tiñe de un color azul claro, sin mostrar alguna diferenciación.

Los núcleos subcorticales se llegan a distinguir, aunque no todos los núcleos se observan y se tiene que tener experiencia para reconocerlos, debido a la falta de definición y contraste.

En esta técnica se puede conservar en agua ligeramente acidificada para evitar la pérdida de coloración; al ser una oftalocianina de cobre se decolora por la exposición a los rayos UV.

Tinción de Millon



Figura 73. Corte transversal de cerebro de perro a nivel del puente.



Figura 74. Corte transversal de cerebro de perro a nivel de la adherencia intertalámica.

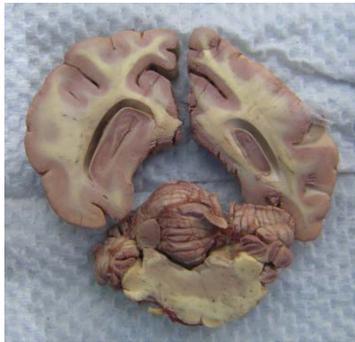


Figura 75. Corte transversal de cerebro y cerebelo de perro a nivel del puente.



Figura 76. Corte transversal de cerebro y cerebelo de perro a nivel del puente.



Figura 77. Corte sagital de encéfalo de perro a nivel del ventrículo lateral derecho.



Figura 78. Corte sagital de encéfalo de perro a nivel de la adherencia intertalámica.



Figura 79. Corte transversal de médula espinal de perro a nivel torácico.



Figura 80. Corte transversal de médula espinal de perro a nivel torácico.

La tinción de Millon presenta una muy buena coloración roja de la sustancia gris, mientras que la sustancia blanca se tiñe un color amarillento, generando un buen contraste entre ambas sustancias. En los cortes de médula espinal se observó claramente la sustancia gris de un color rosado, mientras que la sustancia blanca se tiñe de color amarillento. La línea de separación se observó bien definida y de forma continua, aumentando así el contraste entre ambas sustancias.

Los núcleos subcorticales se observaron, aunque no muy bien definidos como en otras técnicas.

Los cortes se conservaron en una solución nítrica al 1% aunque pierde poco su coloración que de un rojo pasa un rosado. Una de las desventajas de esta técnica es que se tiene que eliminar completamente el formol de los encéfalos y médula, porque el formol interviene en la reacción y no genera una adecuada coloración.

Tinción de sulfuro de cobalto



Figura 81. Corte transversal de cerebro de perro a nivel de los cuerpos mamilares.



Figura 82. Corte transversal de cerebro de perro a nivel de la adherencia intertalámica.



Figura 83. Corte transversal de cerebro de perro a nivel de la adherencia intertalámica.



Figura 84. Corte transversal de cerebro y cerebelo de perro a nivel del metencéfalo rostral.



Figura 85. Corte Sagital de encéfalo de perro a nivel del ventrículo lateral derecho.



Figura 86. Corte Sagital de encéfalo de perro a nivel del lóbulo piriforme.



Figura 87. Corte transversal de médula espinal de perro a nivel torácico.



Figura 88. Corte transversal de médula espinal de perro a nivel torácico.

La tinción de sulfuro de cobalto no presentó un buen contraste entre la sustancia gris teñida de negro y la blanca teñida de un gris oscuro; esto se debe a que posiblemente la concentración del nitrato de cobalto es muy alta, ocasionando que la reacción sea muy rápida (figuras 85 y 86) evitando que se lleve a cabo una clara definición de la sustancia gris y la blanca, dando como resultado que se observe un color negro en toda la superficie del corte. Las figuras 81 a 84 donde los cortes solo se sumergieron y se sacaron inmediatamente, presentaron una mejor definición, aunque siguen teniendo una coloración muy intensa. Esta situación se podría evitar al reducir la concentración del nitrato de cobalto o aumentar el tiempo de lavado para reducir la concentración de sulfuro de sodio.

La línea que divide a la sustancia gris de la blanca se observa con claridad en los cortes transversales, aunque hay zonas en donde se pierde la línea, debido a la intensidad con que se tiñó la sustancia blanca.

En el caso de los cortes de médula espinal ocurrió lo mismo que en los cortes sagitales, donde se dejó por un tiempo muy prolongado, por lo que no se observa distinción alguna entre la sustancia gris y blanca.

La observación de los núcleos negros es limitada, debido a la intensa coloración de la sustancia blanca.

Tinción de sulfuro de plomo



Figura 89. Corte transversal de cerebro de perro a nivel de la adherencia intertalámica.



Figura 90. Corte transversal de cerebro de perro a nivel de la adherencia intertalámica.



Figura 91. Corte transversal de cerebro de perro a nivel del telencéfalo rostral.



Figura 92. Corte transversal de cerebro de perro a nivel del metencéfalo rostral.



Figura 93. Corte sagital de encéfalo de perro a nivel del ventrículo lateral derecho.



Figura 94. Corte sagital de encéfalo de perro a nivel de la adherencia intertalámica.



Figura 95. Corte transversal de médula espinal de perro a nivel torácico.



Figura 96. Corte transversal de médula espinal de perro a nivel torácico.

La coloración de la sustancia gris es de un café oscuro, mientras que la de la sustancia blanca es de un blanco amarillento. Se observa un buen contraste entre ambas materias y se puede observar adecuadamente la mayoría de los núcleos subcorticales. Se podría mejorar el contraste de la tinción si se reduce la concentración del nitrato de plomo para obtener una coloración más clara y que el tiempo de exposición en la solución se pudiera alargar un poco más, permitiendo así, un mejor control en la tonalidad de la tinción.

En los cortes de médula espinal a pesar de que sí se llega a observar la sustancia gris, no se observa un buen contraste entre ambas sustancias, ya que a diferencia de los cortes de encéfalo, se forma una gran cantidad de precipitado sobre la materia blanca; aunque se puede llegar a remover un poco del precipitado de la materia blanca con papel absorbente y mejorar el contraste, permitiendo una mejor diferenciación de la sustancia gris.

La desventaja de la tinción es que al conservarse en la solución de Mc Cormick hay una pérdida considerable de color, que se evita al colocar una capa protectora de una solución coloidal (grenetina).

Tinción de yoduro de plomo

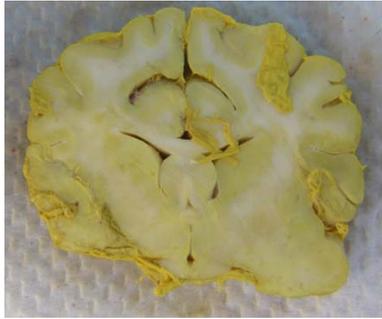


Figura 97. Corte transversal de cerebro de perro a nivel de la adherencia intertalámica.



Figura 98. Corte transversal de cerebro de perro a nivel del puente.

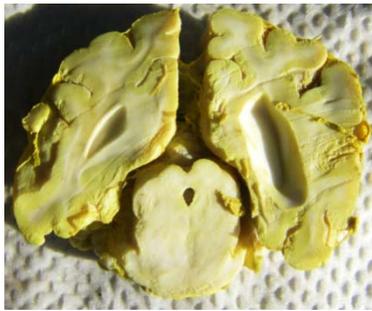


Figura 99. Corte transversal de cerebro de perro a nivel del puente.



Figura 100. Corte transversal de encéfalo de perro entre el mesencéfalo y el metencéfalo.



Figura 101. Corte sagital de encéfalo de perro a nivel de núcleo caudado.



Figura 102. Corte sagital de encéfalo de perro a nivel del lóbulo lateral de cerebelo.

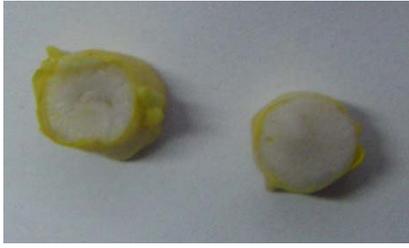


Figura 103. Corte transversal de médula espinal de perro a nivel torácico.



Figura 104. Corte transversal de médula espinal de perro a nivel torácico.

La tinción de yoduro de plomo tiene muy buenos resultados porque se observa claramente el contraste entre la sustancia gris y la blanca, aunque no presenta una coloración tan intensa como en las otras técnicas, pero permite la observación de los núcleos subcorticales de forma clara. La línea que separa la sustancia gris de la blanca tiene buena definición y continuidad.

En los cortes de médula espinal no se observa ninguna diferenciación entre la materia gris y la blanca, se observa como si no se hubieran teñido.

La desventaja enorme de esta tinción es que no se puede conservar los especímenes una vez teñidos, ya que se destiñen en cuestión de minutos al exponerse a la luz o al ser incluidos en solución de Mc Cormick o glicerina.

Tinción de Sudán



Figura 105. Corte transversal de cerebro de perro a nivel del núcleo caudado



Figura 106. Corte transversal de cerebro de perro a nivel del puente intertalámico



Figura 107. Corte transversal de cerebro de perro a nivel del puente



Figura 108. Corte transversal de cerebelo de perro a nivel de la fisura prima



Figura 109. Corte sagital de encéfalo de perro a nivel del ventrículo lateral derecho.



Figura 110. Corte sagital de encéfalo de perro a nivel del lóbulo lateral izquierdo.



Figura 111. Corte transversal de médula espinal de perro a nivel torácico



Figura 112. Corte transversal de médula espinal de perro a nivel torácico.

En la tinción de Sudán no se observa un buen contraste entre la sustancia gris y blanca, ya que tienen casi la misma tonalidad de rojo; aunque se aprecia claramente y de forma continua la línea divisoria.

Los núcleos corticales no se observan debido a la falta de contraste entre una sustancia y la otra.

En los cortes de médula espinal, la sustancia gris se observa claramente de un color blanco rosado; la línea de separación no es de forma nítida y continua. La diferencia de los resultados entre la médula espinal y el encéfalo, es que el tramo de médula espinal al teñirse se metió sin seccionarse y la mayor cantidad de colorante es absorbido por la sustancia blanca, evitando el paso de una gran cantidad de colorante a la sustancia gris; aunque a pesar de esto no se observa claramente una línea divisoria

La desventaja de la técnica es que toma mucho tiempo en desteñirse y se requieren de varios litros de alcohol para poder obtener un buen contraste entre ambas materias. Y aún así, tiende a teñir el alcohol donde se conservan los cortes.

Tinción de Sudán Negro



Figura 113. Corte transversal de cerebro de perro a nivel del telencéfalo rostral.



Figura 114. Corte transversal de cerebro de perro a nivel de la adherencia intertalámica.



Figura 115. Corte transversal de cerebro de perro a nivel del puente.



Figura 116. Corte transversal de encéfalo de perro a nivel del puente.



Figura 117. Corte Sagital de encéfalo de perro a nivel lóbulo piriforme.



Figura 118. Corte Sagital de encéfalo de perro a nivel de la adherencia intertalámica.



Figura 119. Corte transversal de médula espinal de perro a nivel torácico.

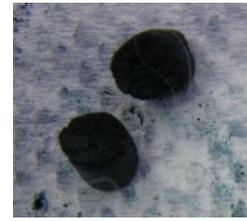


Figura 120. Corte transversal de médula espinal de perro a nivel torácico.

En la tinción de Sudán negro B, al igual que la tinción de Sudán, no se observa una buena diferenciación entre la sustancia gris y la blanca, ya que las dos sustancias se tiñen de un color negro. La línea, -a diferencia de la otra tinción de Sudán-, no se observa, por lo que no contribuye a una buena diferenciación. Tampoco se observan los núcleos subcorticales, debido a la falta de contraste entre la sustancia gris y la blanca.

En los cortes de médula espinal, a diferencia de la técnica de Sudán, no se observa la diferenciación entre la sustancia gris y la blanca, debido a que en este caso, las secciones de médula se cortaron y luego se sumergieron en la solución.

La desventaja es que a pesar de varios cambios de alcohol no se mejora el contraste entre ambas sustancias, a diferencia de lo que sucede con la tinción de Sudán.

Puntuación obtenida en cada técnica

Cuadro 1. Puntuación total de cada técnica

| Técnica | Diferenciación | Línea | Coloración | Puntuación |
|-------------------------|----------------|-------|------------|-------------|
| Mulligan por Mulligan | 2.48 | 2.48 | 2.48 | 7.45 |
| Mulligan por Meneses | 2.19 | 1.97 | 2.69 | 6.86 |
| Mulligan por Gregg | 2.61 | 2.09 | 2.39 | 7.09 |
| Mulligan por Green | 2.7 | 2.39 | 2.27 | 7.36 |
| Barnard, Robert y Brown | 2.74 | 2.43 | 2.51 | 7.69 |
| Roberts | 2.91 | 2.77 | 2.56 | 8.23 |
| Le Masurier | 2.79 | 2.52 | 2.45 | 7.76 |
| Astra blue | 2.03 | 1.57 | 0.33 | 3.93 |
| “CPTS” | 2.12 | 1.64 | 2.09 | 5.85 |
| Millon | 2.7 | 2.57 | 2.5 | 7.77 |
| Sulfuro de cobalto | 0.25 | 0.50 | 0.23 | 0.98 |
| Sulfuro de plomo | 2 | 1.59 | 1.25 | 4.84 |
| Yoduro de plomo | 2.68 | 2.29 | 2.68 | 7.65 |
| Sudán | 0.65 | 2.18 | 0.24 | 3.06 |
| Sudán Negro B | 0.55 | 0.81 | 0 | 1.35 |

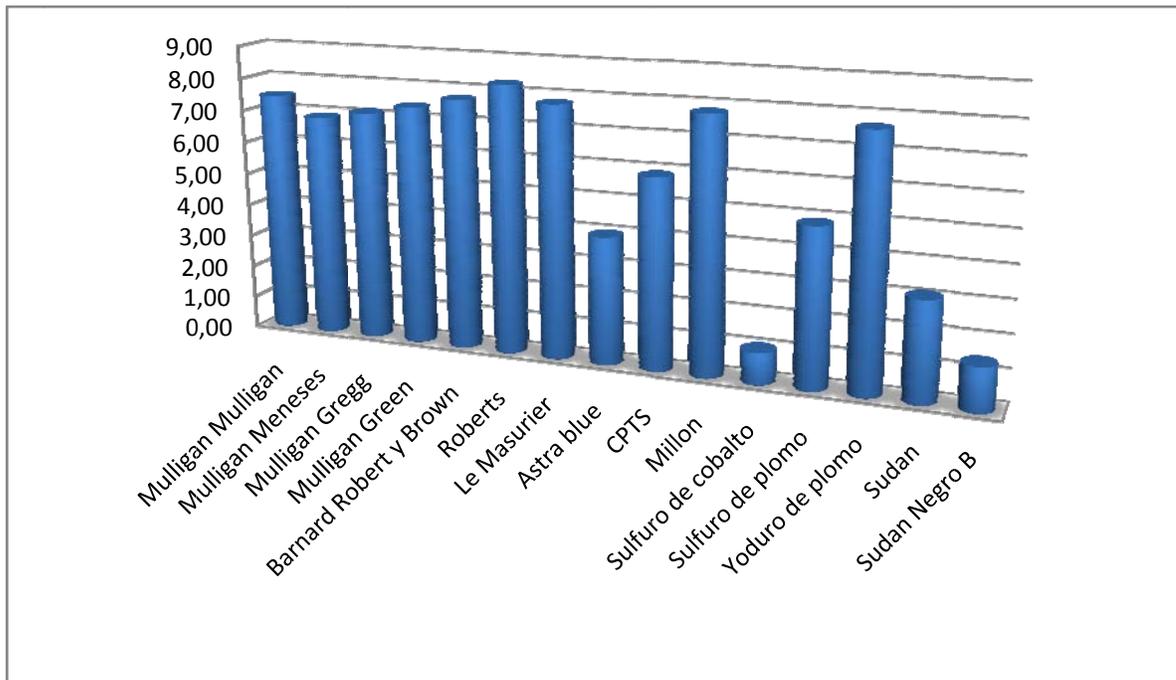


Figura 121. Gráfica de puntuación total de cada técnica

Como se puede observar en el cuadro 1 y la gráfica, la tinción que obtuvo la puntuación más alta es la de Roberts, seguida de la reacción de Prusian (en sus dos versiones, Barnard, Robert y Brown y la de Le Mausier), Millon, Yoduro de plomo, Mulligan.

La técnica de Roberts obtuvo la puntuación más alta debido a que se observaron muy buenos resultados tanto en el encéfalo como en la médula espinal, donde se observa con gran nitidez y continuidad la línea divisoria entre ambas sustancias; tuvo además, un buen contraste entre la sustancia gris y la blanca (café y blanco respectivamente), además, de presentar estos resultados en la mayoría de los cortes.

La reacción de Prusian también tuvo buenos resultados teniendo buena definición de la línea divisoria, así como, la observación de los núcleos subcorticales. Solo que en esta tinción en algunos cortes hay zonas donde no se observa claramente la continuidad de la línea. En el caso de los cortes de médula espinal no se observa con una coloración pareja como en la técnica de Roberts.

En el caso de la técnica de Millon, Yoduro de Plomo y las variantes de la técnica de Mulligan, los resultados son buenos, principalmente en los cortes del encéfalo, donde se observa un buen contraste entre la sustancia gris y la blanca; la línea se encuentra bien marcada, pero no muestran buenos resultados en la tinción de la médula espinal, además de que destiñen con el paso del tiempo.

Costos

Cuadro 2. Costo por técnica para teñir 2 encéfalos y un segmento de médula.

| Técnica | Materiales | Cantidad | Costo | Total |
|--------------------------------|---------------------------|-----------------|--------------|-----------------|
| Mulligan por Mulligan | Fenol | 16 gr | \$ 6.50 | \$ 56.36 |
| | Ácido clorhídrico | 0.5 ml | \$ 0.24 | |
| | Sulfato de cobre | 2 gr | \$ 2.34 | |
| | Ácido tánico | 8 gr | \$ 32.56 | |
| | Sulfato de amonio férrico | 8 gr | \$ 14.72 | |
| Mulligan por Meneses | Fenol | 16 gr | \$ 6.50 | \$ 45.32 |
| | HCl | 0.5 ml | \$ 0.24 | |
| | Sulfato de cobre | 2 gr | \$ 2.34 | |
| | Ácido tánico | 8 gr | \$ 32.56 | |
| | Sulfato de amonio férrico | 2 gr | \$ 3.68 | |
| Mulligan por Gregg | Fenol | 16 gr | \$ 6.50 | \$ 16.18 |
| | HCl | 0.5 ml | \$ 0.24 | |
| | Sulfato de cobre | 2 gr | \$ 2.34 | |
| | Ácido tánico | 1.6 gr | \$ 6.51 | |
| | Sulfato de amonio férrico | 0.32 gr | \$ 0.59 | |
| Mulligan por Green | Fenol | 16 gr | \$ 6.50 | \$ 56.36 |
| | HCl | 0.5 ml | \$ 0.24 | |
| | Sulfato de cobre | 2 gr | \$ 2.34 | |
| | Ác. tánico | 8 gr | \$ 32.56 | |
| | Sulfato de amonio férrico | 8 gr | \$ 14.72 | |
| Barnard, Robert y Brown | Fenol | 16 gr | \$ 6.50 | \$ 24.88 |
| | HCl | 0,5 ml | \$ 0.24 | |
| | Sulfato de cobre | 2 gr | \$ 2.34 | |
| | Cloruro férrico | 4 gr | \$ 4.80 | |
| | Ferrocianuro de potasio | 4 gr | \$ 11.00 | |
| Roberts | Fenol | 16 gr | \$ 6.50 | \$ 31.08 |
| | HCl | 0.5 ml | \$ 0.24 | |
| | Sulfato de cobre | 2 gr | \$ 2.34 | |
| | Ferrocianuro de potasio | 8 gr | \$ 22.00 | |

| | | | | |
|--|-------------------------|--------|-----------|-----------------|
| Le Masurier | Fenol | 16 gr | \$ 6.50 | \$ 24.88 |
| | HCl | 0.5 ml | \$ 0.24 | |
| | Sulfato de cobre | 2 gr | \$ 2.34 | |
| | Cloruro férrico | 4 gr | \$ 4.80 | |
| | Ferrocianuro de potasio | 4 gr | \$ 11.00 | |
| Astra Blue | Ác. fórmico | 360 ml | \$ 543.60 | \$589.72 |
| | Peróxido de hidrogeno | 40ml | \$ 9.32 | |
| | Ác. clorhídrico | 1ml | \$ 0.48 | |
| | Astra blue | 0.1 g | \$ 36.32 | |
| Oftalocianina de cobre o "CPTS" | Fenol | 16 gr | \$ 6.50 | \$261.48 |
| | HCl | 0.5ml | \$ 0.24 | |
| | Sulfato de cobre | 2 gr | \$ 2.34 | |
| | CPTS | 4 gr | \$ 248.40 | |
| | Ác. acético | 5 ml | \$ 4.00 | |
| Millon | Ác. nítrico | 60ml | \$ 81.00 | \$177.00 |
| | Mercurio | 5ml | \$ 96.00 | |
| Sulfuro de cobalto | Sulfuro de sodio | 20 gr | \$ 76.40 | \$106.20 |
| | Nitrato de cobalto | 4 gr | \$ 29.80 | |
| Sulfuro de plomo | Sulfuro de sodio | 20 gr | \$ 76.40 | \$ 79.88 |
| | Nitrato de plomo | 4 gr | \$ 3.48 | |
| Yoduro de plomo | Nitrato de plomo | 4 gr | \$ 3.48 | \$ 47.88 |
| | Yoduro de potasio | 20 gr | \$ 44.40 | |
| Sudán | Alcohol | 3 L | \$ 40.00 | \$543.00 |
| | Acetona | 500 ml | \$ 41.00 | |
| | Sudan III | 5 gr | \$ 145.00 | |
| | Sudan IV | 5 gr | \$ 117.00 | |
| Sudán Negro | Alcohol | 3 L | \$ 240.00 | \$261.80 |
| | Sudan negro B | 1 gr | \$21.80 | |

Como se observa en el Cuadro 2, las tinciones más baratas son: tinción de Gregg, la reacción de Prusian, Roberts, Meneses y Yoduro de plomo, además de que los reactivos son de fácil adquisición, dado que se encuentran fácilmente en las distribuidoras, a diferencia de la técnica de Astra Blue que es mucho más cara, ya que se discontinuó el colorante y son pocas las distribuidoras que lo manejan y venden.

Tiempo

Cuadro 3. Tiempo por técnica de tinción

| Tinción | Tiempo |
|---|---------------------|
| Tinción de Mulligan por Mulligan | 9 min |
| Tinción de Mulligan por Meneses | 4 min 30 seg |
| Tinción de Mulligan por Gregg | 6min 20 seg |
| Tinción de Green | 2 min 30seg |
| Tinción de Barnard, Robert e Brown | 8 min |
| Tinción de Roberts | 12 min |
| Tinción de LeMasurier | 12 min |
| Tinción de Braak | 1 d 10 h |
| Tinción de oftalocianina de cobre o “CPTS” | 26 min |
| Tinción de Millon | 30 min |
| Tinción de precipitación de sulfuro de cobalto | 5 min |
| Tinción de sulfuro de plomo | 5 min |
| Tinción yoduro de plomo | 8 min |
| Tinción Sudán | 4 semanas |
| Tinción Sudán Negro B | 3h |

Con relación al tiempo necesario para desarrollar cada técnica de tinción, la técnica que tarda el **menor tiempo** es la de Green, Meneses, Sulfuro de Cobalto y Sulfuro de plomo. Aunque únicamente hay una mayor diferencia de tiempo en las técnicas de Astra

blue o Sudán (rojo y negro), donde la tinción tomó días o semanas respectivamente, a diferencia de las demás técnicas, donde no sobrepasan los 30 minutos.

DISCUSIÓN

La sustancia gris está compuesta principalmente por los cuerpos celulares de las neuronas, fibras sin mielina y algunas cuantas fibras con mielina y células de neuroglia (como son los astrocitos, oligodendrocitos y microglíocitos); mientras que la sustancia blanca está formada en su mayor parte por axones mielinizados y algunos sin mielinizar, elementos neurogliales y pocos vasos sanguíneos.²⁷ La sustancia gris al estar compuesta principalmente por cuerpos celulares tiene cualidades hidrofílicas y una mayor cantidad de proteínas y mucopolisacáridos, a diferencia de la sustancia blanca, que contiene axones mielinizados, dando como resultado, un alto contenido de lípidos, por lo que se comporta de manera hidrofóbica.^{10, 13, 18, 19.}

Las diferencias histológicas que existen en la sustancia gris y blanca son la principal razón por la cual se puede diferenciar la sustancia gris de la blanca; estas diferencias ocasionan que la sustancia gris y la blanca se comporten de forma física y química diferente, permitiendo así, el teñido de una u otra sustancia, según la técnica utilizada. Con base en esto, las técnicas se pueden dividir en 2, de acuerdo con dos propiedades:^{10, 13, 19.}

- Propiedades hidrofóbicas e hidrofílicas de los tejidos.
- Contenido de proteínas o lípidos en el tejido.

Las propiedades hidrofóbicas de la mielina funcionan como una capa protectora que impide la penetración y absorción de las sales, mientras que las propiedades hidrofílicas

de la materia gris permiten la penetración y absorción de las sales.⁹⁻¹¹ Las propiedades hidrofóbicas de la materia blanca evitan la absorción de las sales hidrofílicas utilizadas. Para promover un buen contraste y evitar que la sustancia blanca quede manchada se prefiere formar una capa protectora a partir de la mielina.^{1, 9, 10, 13.}

La película protectora se forma gracias al efecto del fenol contenido en la solución de Mulligan sobre la mielina.¹¹ El calentar y acidificar la solución de Mulligan únicamente promueve el efecto del fenol sobre la mielina.¹¹

La cantidad de proteínas y lípidos difiere entre la sustancia gris y la blanca, lo que permite que ciertas reactivos reacciones con estas moléculas del tejido como son:

6,13,18, 19

- La reacción de Millon es una reacción donde se desnaturaliza la tirosina formando un quelato (nitrosfenol mercurio) de color rojos.⁶
- La reacción de “CPTS” se une a las proteínas de la sustancia gris proporcionando la coloración azulada de la materia gris.¹⁴
- La tinción de Astra Blue al desnaturalizar la proteínas con el ácido perfórmico favorece la unión del Astra Blue a proteínas y mucopolisacáridos.¹³
- La tinción de Sudán tanto el III, IV y el negro B. El Sudán tiene una afinidad por los lípidos (mielina).²

Una de las cosas importantes a considerar, es el grado de penetración y absorción de los reactivos, debido a que la mayoría de las técnicas únicamente tiñen de forma

superficial, y, si los tiempos de lavados son muy prolongados, pueden llegar a remover todo el reactivo, evitando así, una buena coloración y diferenciación.^{2,10}

La concentración de los reactivos juega un papel importante en la diferenciación de la substancia gris y la substancia blanca.^{10, 14}

En base a la comparación que se hizo de las diferentes técnicas se puede concluir que:

Las técnicas que obtuvieron el mejor contraste son:

- Tinción de Roberts
- Tinción de Barnard, Robert y Brown
- Tinción Le Mautier
- Tinción Millón
- Tinción de yoduro de plomo
- Tinción Mulligan

Las técnicas que resultaron tener un menor costo:

- Tinción de Gregg
- Tinción de Barnard, Robert y Brown
- Tinción de Roberts
- Tinción de Meneses
- Tinción de yoduro de plomo

Las técnicas que llevan un menor tiempo para realizarse son:

- Tinción de Green

- Tinción de Meneses,
- Tinción de sulfuro de cobalto
- Tinción de sulfuro de plomo

Las técnicas que presentan mejores resultados tanto por diferenciación entre ambas materias, costo y tiempo de tinción son:

- Tinción de Roberts
- Tinción de Barnard, Robert y Brown
- Tinción Le Mausier
- Tinción de Mulligan.

REFERENCIAS

1. Roberts M, Hanaway J. Preparation of brain slices for macroscopic study by the copper sulfate-phenol-ferrocyanide technique. *Stain Technol* 1969; 44(3): 143-146.
2. Hewitt W. A Method for staining whole brains for gross and macroscopic study. *J Anat* 1959; 93(Pt1): 134-136.
3. Brody H, Wirth JE. A staining and plastic embedding technique for macroscopic brain sections. *Anat Rec* 1957; 127(1):65-73.
4. Gregg RV. Tannic acid-iron alum reaction: Stain of choice for macroscopic sections of brain to be embedded in plastic. *Stain Technol* 1975; 50(2):87-91.
5. Braak H. Simple and durable staining of thick sections of the human brain for macroscopic study. *Stain Technol* 1978; 53(2):87-88.
6. Medina HSG, Seullner G, Leprevost T. Empleo del mercurio en solución Mítrica, Millon (1849), para coloración de secciones macroscópicas del encéfalo de perros, *Anat. Histol. Embryol* 1985; 14(3): 262-268.
7. Ulfig N. Staining of human fetal and adult brain slices combined with subsequent plastination. *J Int Soc Plastination*. 1990; 4:33-38.
8. Hildebrand M. *Anatomical preparation*. USA. University Press, 1968. 72-75
9. Alston RL. A batch staining method for brain slices allowing volume measurements of grey and white matter using an image analyzing computer (Quantimet 720). *Stain Technol*. 1981; 56(4):207-13
10. Blair DM, Davies F, McClelland EW. On the nature of certain macroscopic staining reactions of the brain. *J Anat* 1932 (Pt4); 66:478-485.
11. Mulligan JH. A method of staining the brain for macroscopic study. *J Anat* 1931; 65: 84-88.

12. Meneses MS; Montano Pedroso JG, Fuzza RF, Milano JB. Análise comparative de cortes de encéfalo humanos com coloração por três técnicas diferentes. *Arq Neuropsiquiatr* 2004; 62(2A):276-281.
13. Suriyaprapadilok L, Withyachumnarnkul B. Plastination of stained sections of the human brain: Comparison between different staining methods. *J Int Soc Plastination* 1997; 12(1):27-32.
14. Kiernan JA. A new method for surface staining large slices of fixed brain using a copper phthalocyanine dye. *Biothechnic & Histochemistry* 2001; 76(5&6): 253-255.
15. Tompsett DH. Differential staining of thin brain slices. *Annals of the Royal college of Surgeons of England* 1977;59.
16. Baeres F.M.M, Moller M. Plastination of Dissected Brain Specimen and Mulligan Stained Sections of the Human Brain. *European Journal of Morphology* 2001; 39(5): 307-311.
17. Loftspring MC, Samnik J, Pixley SK. Selective gray matter staining of human brain slices: optimized use of cadaver materials. *Biotechnic & Histochemistry* 2008; 83(3-4):173-177
18. Heller ME, Stoddard SL. Procedure for staining fixed human brain slices. *Stain Technology* 1986; 61(2):71-73
19. Riboni L, Luna F, Nuñez-Durán H. A fast staining method for CNS slices. *Journal of Neuroscience Methods* 1991; 38: 239-241
20. Barnett RI, Driscoll JD, Forrest WJ. Improved sectioning and Berlin Staining of whole human Brain. *Stain Technology*. 1980; 55(4):235-239.
21. Makita T, Tominaga M. Regional anatomy of swine V cross section of the brain of the swine (Part I). *Th Yamaguchi J. of Vet. Med.* 1987 62(14): 49-66.

22. International Committee on Veterinary Gross Anatomical Nomenclatures. World Association of Veterinary Anatomists. *Nomina Anatomica Veterinaria*. 5th. Ed. 2005. Knoxville, Tennessee. United States of America.
23. Miller NE, Miller's anatomy of the dog. Philadelphia, United States of America: Saunders, 1979
24. Banks WJ. Histología veterinaria. México, D. F.: Manual Moderno, 1996.
25. König HE, Liebich HG. Anatomía de los animales domésticos. México: Médica Panamericana, 2004.
26. Evans HE. Disección del perro. México: Mc Graw-Hill Interamericana, 2002.
27. Geneser F. Histología. México: Médica Panamerican,2000.

ANEXOS

Cuadro 4. Puntuación de cada corte de encéfalo y médula espinal de perro

| #Corte | Mulligan Mulligan | | | Mulligan Meneses | | | Mulligan Gregg | | |
|-------------------|-------------------|-------------|-------------|------------------|-------------|-------------|----------------|-------------|-------------|
| | Diferenciación | Línea | Coloración | Diferenciación | Línea | Coloración | Diferenciación | Línea | Coloración |
| 1 | 3 | 2 | 3 | 2 | 2 | 3 | 2 | 3 | 3 |
| 2 | 3 | 2 | 3 | 2 | 2 | 3 | 2 | 3 | 2 |
| 3 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| 4 | 3 | 3 | 2 | 2 | 3 | 2 | 3 | 3 | 2 |
| 5 | 2 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 2 | 3 |
| 6 | 3 | 2 | 3 | 1 | 1 | 2 | 3 | 2 | 2 |
| 7 | 2 | 3 | 2 | 2 | 1 | 3 | 3 | 2 | 2 |
| 8 | 3 | 3 | 2 | 2 | 2 | 3 | 3 | 2 | 3 |
| 9 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 3 | 2 | 3 |
| 10 | 2 | 2 | 3 | 2 | 2 | 2 | 3 | 3 | 2 |
| 11 | 2 | 2 | 2 | 2 | 1 | 1 | 3 | 2 | 3 |
| 12 | 3 | 2 | 2 | 2 | 2 | 3 | 3 | 2 | 2 |
| 13 | 2 | 2 | 2 | 2 | 1 | 3 | 3 | 2 | 2 |
| 14 | 2 | 1 | 1 | 2 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| 15 | 2 | 3 | 2 | 2 | 3 | 3 | 3 | 2 | 2 |
| 16 | 3 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 3 | 3 | 2 |
| 17 | 3 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 3 | 2 | 2 |
| 18 | 2 | 2 | 3 | 2 | 2 | 3 | 3 | 2 | 3 |
| 19 | 2 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 2 | 2 |
| 20 | 2 | 1 | 2 | 3 | 3 | 3 | 2 | 2 | 2 |
| 21 | 3 | 2 | 3 | 2 | 2 | 3 | 2 | 2 | 2 |
| 22 | 2 | 3 | 3 | 2 | 2 | 3 | 2 | 2 | 2 |
| 23 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 2 |
| 24 | 3 | 3 | 2 | 3 | 2 | 3 | 3 | 2 | 3 |
| 24 | 3 | 2 | 3 | 2 | 1 | 2 | 3 | 2 | 2 |
| 25 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 2 | 2 | 2 |
| 26 | 3 | 2 | 1 | 3 | 2 | 2 | 3 | 2 | 3 |
| 27 | 2 | 1 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| 28 | 2 | 2 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 | 2 | 2 |
| 29 | 2 | 1 | 2 | 2 | 2 | 3 | 3 | 3 | 2 |
| 30 | 3 | 2 | 2 | 2 | 2 | 3 | 1 | 0 | 3 |
| 31 | | | | 2 | 1 | 3 | 1 | 0 | 3 |
| 32 | | | | 2 | 1 | 3 | 1 | 0 | 3 |
| 33 | | | | 2 | 1 | 3 | | | |
| 34 | | | | 2 | 1 | 3 | | | |
| 35 | | | | 1 | 1 | 3 | | | |
| 36 | | | | | | | | | |
| 37 | | | | | | | | | |
| 38 | | | | | | | | | |
| 39 | | | | | | | | | |
| 40 | | | | | | | | | |
| 41 | | | | | | | | | |
| 42 | | | | | | | | | |
| Promedio | 2.48 | 2.48 | 2.48 | 2.19 | 1.97 | 2.69 | 2.61 | 2.09 | 2.39 |
| Puntuación | 7.45 | | | 6.86 | | | 7.09 | | |

Continuación...

| #Corte | Mulligan Green | | | Barnard, Robert y Brown | | | Roberts | | |
|-------------------|----------------|-------------|-------------|-------------------------|-------------|-------------|----------------|-------------|-------------|
| | Diferenciación | Línea | Coloración | Diferenciación | Línea | Coloración | Diferenciación | Línea | Coloración |
| 1 | 3 | 3 | 1 | 2 | 2 | 3 | 3 | 3 | 2 |
| 2 | 3 | 2 | 1 | 3 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| 3 | 3 | 0 | 2 | 3 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| 4 | 3 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 2 |
| 5 | 3 | 2 | 3 | 3 | 3 | 2 | 2 | 3 | 2 |
| 6 | 3 | 2 | 2 | 3 | 2 | 3 | 3 | 3 | 2 |
| 7 | 2 | 3 | 3 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| 8 | 3 | 2 | 3 | 2 | 2 | 2 | 3 | 3 | 3 |
| 9 | 3 | 2 | 3 | 3 | 2 | 2 | 3 | 2 | 3 |
| 10 | 3 | 2 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| 11 | 3 | 3 | 2 | 3 | 2 | 2 | 3 | 3 | 3 |
| 12 | 3 | 3 | 2 | 3 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| 13 | 3 | 2 | 2 | 3 | 2 | 2 | 3 | 3 | 3 |
| 14 | 2 | 2 | 2 | 3 | 3 | 2 | 3 | 2 | 3 |
| 15 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 3 | 3 | 2 |
| 16 | 3 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| 17 | 2 | 2 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| 18 | 2 | 3 | 3 | 3 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| 19 | 3 | 3 | 2 | 3 | 2 | 3 | 3 | 2 | 2 |
| 20 | 3 | 3 | 2 | 3 | 2 | 3 | 3 | 3 | 2 |
| 21 | 2 | 2 | 2 | 3 | 2 | 2 | 3 | 3 | 3 |
| 22 | 2 | 2 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 2 |
| 23 | 2 | 2 | 2 | 3 | 3 | 2 | 3 | 3 | 3 |
| 24 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 2 | 3 | 3 | 3 |
| 24 | 3 | 3 | 2 | 2 | 2 | 3 | 2 | 2 | 2 |
| 25 | 3 | 2 | 3 | 3 | 2 | 3 | 3 | 2 | 2 |
| 26 | 3 | 2 | 2 | 3 | 2 | 3 | 3 | 3 | 2 |
| 27 | 2 | 3 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 3 |
| 28 | 2 | 3 | 2 | 2 | 2 | 2 | 3 | 3 | 2 |
| 29 | 3 | 3 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 2 |
| 30 | 3 | 3 | 2 | 3 | 3 | 2 | 3 | 3 | 3 |
| 31 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 2 | 3 | 2 | 2 |
| 32 | 3 | 3 | 3 | 3 | 2 | 2 | 3 | 3 | 2 |
| 33 | | | | 2 | 3 | 2 | 3 | 2 | 2 |
| 34 | | | | 2 | 3 | 2 | 3 | 2 | 2 |
| 35 | | | | | | | 3 | 3 | 3 |
| 36 | | | | | | | 3 | 3 | 3 |
| 37 | | | | | | | 3 | 3 | 3 |
| 38 | | | | | | | 2 | 2 | 2 |
| 39 | | | | | | | 3 | 3 | 3 |
| 40 | | | | | | | 3 | 3 | 3 |
| 41 | | | | | | | 3 | 3 | 3 |
| 42 | | | | | | | 3 | 3 | 2 |
| Promedio | 2.7 | 2.39 | 2.27 | 2.74 | 2.43 | 2.51 | 2.91 | 2.77 | 2.56 |
| Puntuación | 7.36 | | | 7.69 | | | 8.23 | | |

Continuación...

| #Corte | Le Masrier | | | Astra blue | | | Oftalocianina de cobre | | |
|-------------------|----------------|-------------|-------------|----------------|-------------|-------------|------------------------|-------------|-------------|
| | Diferenciación | Línea | Coloración | Diferenciación | Línea | Coloración | Diferenciación | Línea | Coloración |
| 1 | 2 | 2 | 3 | 2 | 1 | 0 | 3 | 2 | 3 |
| 2 | 3 | 2 | 2 | 3 | 2 | 1 | 1 | 2 | 3 |
| 3 | 3 | 2 | 2 | 2 | 1 | 0 | 2 | 1 | 3 |
| 4 | 3 | 3 | 2 | 2 | 1 | 0 | 2 | 2 | 3 |
| 5 | 3 | 3 | 2 | 2 | 1 | 1 | 2 | 1 | 3 |
| 6 | 3 | 2 | 3 | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 | 2 |
| 7 | 2 | 3 | 3 | 2 | 1 | 0 | 2 | 1 | 2 |
| 8 | 2 | 2 | 2 | 2 | 0 | 0 | 1 | 1 | 3 |
| 9 | 3 | 2 | 2 | 3 | 3 | 1 | 2 | 2 | 2 |
| 10 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 1 | 2 | 2 | 2 |
| 11 | 3 | 2 | 2 | 3 | 3 | 1 | 2 | 1 | 1 |
| 12 | 3 | 2 | 3 | 2 | 1 | 0 | 3 | 3 | 2 |
| 13 | 3 | 2 | 2 | 2 | 2 | 0 | 1 | 1 | 3 |
| 14 | 3 | 3 | 2 | 2 | 2 | 1 | 2 | 2 | 1 |
| 15 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 1 | 2 | 1 | 2 |
| 16 | 3 | 3 | 3 | 2 | 2 | 0 | 2 | 2 | 2 |
| 17 | 3 | 3 | 3 | 2 | 1 | 0 | 3 | 2 | 2 |
| 18 | 3 | 2 | 3 | 2 | 3 | 0 | 3 | 2 | 2 |
| 19 | 3 | 2 | 3 | 2 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 20 | 3 | 2 | 3 | 2 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 21 | 3 | 2 | 2 | 2 | 2 | 1 | 3 | 2 | 2 |
| 22 | 3 | 3 | 3 | 2 | 3 | 0 | 3 | 1 | 2 |
| 23 | 3 | 3 | 2 | 2 | 1 | 0 | 3 | 2 | 2 |
| 24 | 3 | 3 | 2 | 2 | 1 | 0 | 3 | 2 | 1 |
| 24 | 2 | 3 | 3 | 2 | 2 | 0 | 2 | 2 | 3 |
| 25 | 3 | 3 | 3 | 2 | 2 | 0 | 2 | 2 | 2 |
| 26 | 3 | 3 | 3 | 1 | 0 | 0 | 3 | 2 | 2 |
| 27 | 2 | 3 | 2 | 2 | 1 | 1 | 3 | 3 | 3 |
| 28 | 2 | 2 | 2 | 2 | 1 | 1 | 2 | 2 | 3 |
| 29 | 3 | 3 | 3 | 2 | 1 | 0 | 1 | 1 | 3 |
| 30 | 3 | 3 | 2 | | | | 2 | 2 | 3 |
| 31 | 3 | 3 | 2 | | | | 3 | 2 | 1 |
| 32 | 3 | 2 | 2 | | | | 3 | 2 | 1 |
| 33 | | | | | | | | | |
| 34 | | | | | | | | | |
| 35 | | | | | | | | | |
| 36 | | | | | | | | | |
| 37 | | | | | | | | | |
| 38 | | | | | | | | | |
| 39 | | | | | | | | | |
| 40 | | | | | | | | | |
| 41 | | | | | | | | | |
| 42 | | | | | | | | | |
| Promedio | 2.79 | 2.52 | 2.45 | 2.03 | 1.57 | 0.33 | 2.12 | 1.64 | 2.09 |
| Puntuación | 7.76 | | | 3.93 | | | 5.85 | | |

Continuación...

| #Corte | Millon | | | Sulfuro de cobalto | | | Sulfuro de plomo | | |
|-------------------|----------------|-------------|------------|--------------------|------------|-------------|------------------|-------------|-------------|
| | Diferenciación | Línea | Coloración | Diferenciación | Línea | Coloración | Diferenciación | Línea | Coloración |
| 1 | 3 | 2 | 2 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 2 |
| 2 | 3 | 3 | 2 | 0 | 0 | 0 | 2 | 3 | 2 |
| 3 | 3 | 3 | 2 | 0 | 0 | 0 | 1 | 2 | 1 |
| 4 | 3 | 2 | 3 | 0 | 0 | 0 | 3 | 2 | 2 |
| 5 | 3 | 2 | 3 | 0 | 0 | 0 | 3 | 2 | 1 |
| 6 | 3 | 2 | 3 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 |
| 7 | 3 | 3 | 3 | 0 | 0 | 0 | 3 | 2 | 1 |
| 8 | 3 | 2 | 3 | 0 | 0 | 0 | 3 | 1 | 1 |
| 9 | 3 | 2 | 2 | 0 | 0 | 0 | 3 | 3 | 2 |
| 10 | 3 | 2 | 2 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 1 |
| 11 | 3 | 3 | 2 | 0 | 0 | 0 | 3 | 2 | 1 |
| 12 | 3 | 2 | 2 | 0 | 0 | 0 | 3 | 3 | 2 |
| 13 | 3 | 2 | 2 | 0 | 0 | 0 | 3 | 2 | 2 |
| 14 | 3 | 2 | 3 | 0 | 0 | 0 | 3 | 2 | 2 |
| 15 | 3 | 2 | 3 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 |
| 16 | 3 | 2 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 17 | 3 | 3 | 3 | 0 | 0 | 0 | 3 | 2 | 2 |
| 18 | 3 | 2 | 2 | 0 | 0 | 0 | 3 | 1 | 2 |
| 19 | 3 | 3 | 2 | 0 | 0 | 0 | 3 | 2 | 2 |
| 20 | 3 | 2 | 2 | 0 | 0 | 0 | 3 | 2 | 2 |
| 21 | 3 | 2 | 2 | 0 | 1 | 0 | 3 | 2 | 2 |
| 22 | 3 | 2 | 2 | 0 | 1 | 0 | 3 | 1 | 1 |
| 23 | 3 | 3 | 2 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 |
| 24 | 3 | 3 | 2 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 |
| 24 | 3 | 3 | 3 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| 25 | 3 | 2 | 2 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 |
| 26 | 3 | 2 | 2 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 |
| 27 | 3 | 3 | 2 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 |
| 28 | 3 | 2 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 29 | 3 | 2 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 30 | 3 | 2 | 2 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 1 |
| 31 | 3 | 3 | 3 | 2 | 2 | 1 | 2 | 2 | 1 |
| 32 | 3 | 3 | 3 | 1 | 2 | 1 | | | |
| 33 | 3 | 2 | 3 | 1 | 2 | 1 | | | |
| 34 | 3 | 3 | 3 | 1 | 2 | 1 | | | |
| 35 | | | | 1 | 2 | 1 | | | |
| 36 | | | | 1 | 2 | 1 | | | |
| 37 | | | | 1 | 2 | 1 | | | |
| 38 | | | | 1 | 2 | 1 | | | |
| 39 | | | | 1 | 2 | 1 | | | |
| 40 | | | | | | | | | |
| 41 | | | | | | | | | |
| 42 | | | | | | | | | |
| Promedio | 2.7 | 2.57 | 2.5 | 0.25 | 0.5 | 0.23 | 2 | 1.59 | 1.25 |
| Puntuación | 7.77 | | | 0.98 | | | 4.84 | | |

Continuación...

| #Corte | Yoduro de plomo | | | Sudán | | | Sudán Negro B | | |
|-------------------|-----------------|-------------|-------------|----------------|-------------|-------------|----------------|-------------|------------|
| | Diferenciación | Línea | Coloración | Diferenciación | Línea | Coloración | Diferenciación | Línea | Coloración |
| 1 | 3 | 2 | 3 | 1 | 2 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| 2 | 3 | 2 | 2 | 1 | 2 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| 3 | 3 | 2 | 3 | 1 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 4 | 3 | 1 | 2 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5 | 2 | 3 | 2 | 1 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 6 | 3 | 2 | 2 | 0 | 2 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| 7 | 2 | 1 | 3 | 0 | 1 | 0 | 1 | 3 | 0 |
| 8 | 2 | 3 | 3 | 0 | 2 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| 9 | 3 | 2 | 3 | 0 | 3 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| 10 | 3 | 2 | 3 | 0 | 3 | 0 | 1 | 2 | 0 |
| 11 | 3 | 3 | 3 | 1 | 2 | 0 | 2 | 2 | 0 |
| 12 | 3 | 2 | 3 | 1 | 2 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| 13 | 2 | 2 | 3 | 1 | 2 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 14 | 3 | 3 | 3 | 0 | 3 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 15 | 3 | 2 | 3 | 0 | 2 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 16 | 3 | 2 | 3 | 0 | 3 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| 17 | 2 | 2 | 3 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 18 | 2 | 2 | 3 | 1 | 3 | 0 | 2 | 1 | 0 |
| 19 | 2 | 2 | 3 | 1 | 3 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| 20 | 3 | 3 | 3 | 0 | 2 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| 21 | 2 | 2 | 3 | 0 | 2 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 22 | 3 | 3 | 3 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 23 | 3 | 2 | 3 | 0 | 3 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 24 | 3 | 2 | 2 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 24 | 3 | 2 | 2 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 25 | 3 | 3 | 3 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 26 | 2 | 2 | 1 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 27 | 3 | 2 | 2 | 1 | 2 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| 28 | 2 | 2 | 2 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| 29 | 3 | 3 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 30 | 3 | 3 | 3 | 2 | 2 | 2 | 0 | 0 | 0 |
| 31 | 3 | 3 | 3 | 2 | 2 | 2 | | | |
| 32 | 2 | 3 | 2 | 2 | 2 | 2 | | | |
| 33 | 3 | 3 | 3 | 2 | 2 | 2 | | | |
| 34 | | | | | | | | | |
| 35 | | | | | | | | | |
| 36 | | | | | | | | | |
| 37 | | | | | | | | | |
| 38 | | | | | | | | | |
| 39 | | | | | | | | | |
| 40 | | | | | | | | | |
| 41 | | | | | | | | | |
| 42 | | | | | | | | | |
| Promedio | 2.68 | 2.29 | 2.68 | 0.65 | 2.18 | 0.24 | 0.55 | 0.81 | 0 |
| Puntuación | 7.65 | | | 3.06 | | | 1.35 | | |