



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLÁN

EVALUACIÓN MORFOLÓGICA CELULAR DEL CÁLAMO DE LAS  
PLUMAS REMERAS EN CRECIMIENTO EN PALOMAS

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
MÉDICA VETERINARIA Y ZOOTECNISTA

PRESENTA:

JHOVANA ARELI CALVA RODRÍGUEZ

ASESOR:

M. EN C. MA. DEL ROSARIO MARTÍNEZ CALLES

COASESOR:

DR. CARLOS GERARDO GARCÍA TOVAR

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO, 2018.



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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



**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN**  
**SECRETARÍA GENERAL**  
**DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

ASUNTO: VOTO APROBATORIO



DEPARTAMENTO DE

ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORONADO RODRÍGUEZ  
**Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales  
de la FES Cuautitlán.**

**M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ**  
**DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN**  
**PRESENTE**

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: **Trabajo de Tesis**

**Evaluación morfológica celular del cálamo de las plumas remeras en crecimiento en palomas.**

Que presenta la pasante: JHOVANA ARELI CALVA RODRÍGUEZ

Con número de cuenta: 41102826-2 para obtener el Título de la carrera: Medicina Veterinaria y Zootecnia

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

**ATENTAMENTE**

**“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”**

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 24 de Agosto de 2018.

**PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO**

NOMBRE

FIRMA

**PRESIDENTE**

Dr. Carlos Ignacio Soto Zárate

**VOCAL**

Dr. Juan Carlos Del Río García

**SECRETARIO**

M. en C. Ma. del Rosario Martínez Calles

**1er. SUPLENTE**

M. en D. Olivia Adams Vázquez

**2do. SUPLENTE**

M.V.Z. Esp. Hugo César López Farias

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

El presente trabajo se realizó en:

Laboratorio de Apoyo Técnico a Histología y Biología (FES-Cuautitlán UNAM) y  
Laboratorio 4 “Morfología Veterinaria y Biología Celular”,  
Unidad de Investigación Multidisciplinaria (FES-Cuautitlán UNAM)  
con el apoyo de los proyectos:

Proyecto PAPIME

“Implementación en las asignaturas de Biología Celular, Biología Molecular  
y Genómica Animal de prácticas de laboratorio con técnicas  
de uso común en investigación como inductoras  
hacia una carrera científica en alumnos de MVZ”  
(CLAVE UNAM-DGAPA PE205717)

y

Proyecto PIAPI

“Biología celular y molecular de procesos fisiológicos y de respuesta a infecciones  
de interés veterinario”  
(CLAVE PIAPI 1829)

## RECONOCIMIENTOS

Deseo hacer un reconocimiento especial a:

Dr. Germán Isauro Garrido Fariña

Laboratorio de Apoyo Técnico a Histología y Biología (FES-Cuautitlán UNAM)

Por el apoyo técnico brindado en la capacitación y realización de los cortes histológico, tinciones y elaboración de las laminillas que se presentan en este trabajo.

M. en C. Francisco Rodolfo González Díaz

MVZ José Luis Nieto Bordes

Laboratorio 4 “Morfología Veterinaria y Biología Celular”

Unidad de Investigación Multidisciplinaria (FES-Cuautitlán UNAM)

Por el apoyo técnico para la disección macroscópica de las plumas en crecimiento así como en la capacitación y aplicación de la técnica de inmunofluorescencia indirecta utilizada para la detección de vimentina en los cortes histológicos del cálamo de las plumas de las palomas utilizadas en este trabajo.

**Dedicatorias:**

**A mis padres:**

*Ma. del Carmen Rodríguez y José Carlos Jiménez por su apoyo infinito, su confianza, comprensión y todo su amor por forjarme con sus valores y demostrarme que el esfuerzo y dedicación no tiene límites, los amo.*

**A mi abuelita, hermano y sobrino:**

*María Félix, José y Santiago por los momentos compartidos ser mi motivación y el apoyo moral brindado.*

**A ti:**

*Por tu apoyo incondicional en la realización de este trabajo, por motivarme siempre que lo necesito y ser excelente amigo.*

**A mis amigos:**

*Karla, Erik y Dulce, los cuales me enseñaron que la amistad es una parte de la esencia propia de la vida, dejando en mi muchos buenos recuerdos y conocimientos.*

## **Dedicatorias:**

A la Universidad Nacional Autónoma de México por haberme permitido ser parte de su institución y llegar a ser un buen fruto de la misma.

A la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán por formarme como profesionista con ayuda de sus profesores y el material disponible que me permitió tener un desarrollo como estudiante y poder llegar a cumplir mis propósitos

A mis asesores: M. en C. Ma. del Rosario Martínez Calles y Dr. Gerardo García Tovar, por confiar en mí y darme el privilegio de ser parte en su equipo de trabajo, por asesorarme en cada momento, por su paciencia infinita.

Al M en F. Germán Isauro Garrido Fariña, por su colaboración ayuda asistencia técnica y consejos en el área de histología.

Al MVZ José Luis Nieto Bordes por su paciencia apoyo consejos.

Al MC Francisco Rodolfo González Díaz, por su ayuda, recomendaciones y observaciones durante la elaboración del trabajo así como las amenas conversaciones.

## INDICE.

I.- RESUMEN.....	1
II.- INTRODUCCIÓN.....	2
III.-MARCO TEÓRICO.....	3
III.1 Generalidades.....	3
III.2 Estructura de la pluma.....	3
III.3 Crecimiento de la pluma.....	9
III.4 Regeneración de la puma.....	10
III.5 Citoesqueleto.....	12
IV.- JUSTIFICACIÓN.....	15
V.- OBJETIVOS.....	16
VI.- HIPÓTESIS.....	17
VII.- MATERIAL Y METODOS.....	18
VIII.- RESULTADOS.....	20
IX.- DISCUSIÓN.....	31
X.- CONCLUSIONES.....	35
XI.- BIBLIOGRAFÍA.....	36



## I. RESUMEN

Dentro de la morfogénesis de las plumas se realizan estudios topobiológicos, que sirven para aplicarlos a la ingeniería de tejidos. A nivel histológico, en la región del cálamo, la pluma está revestida por un epitelio; a partir de éste epitelio se originan las crestas epidérmicas o de la barba que son estructuras responsables de la ramificación de la misma. En el interior del cálamo se localiza la papila y la pulpa. Se ha observado que la papila induce la regeneración de la pluma por la secreción de moléculas, pero aún no se sabe por completo si las células de la pulpa migran al epitelio del cálamo. Existen pocos estudios en donde se relacionen los componentes celulares de la papila, pulpa y epitelio. Se ha observado que la vimentina, participa en los cambios morfológicos celulares y en la migración de las células en diferenciación. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue describir los cambios morfológicos celulares del cálamo de las plumas remeras en crecimiento de palomas adultas machos, por medio de tinciones topográficas e inmunofluorescencia, para identificar posibles cambios morfológicos y en la expresión de vimentina en las células de la papila, pulpa y epitelio. Se muestrearon las plumas de 3 machos adultos *Columba livia* (Lineo 1758); las muestras se tomaron en intervalos de 5 días, a partir del brote de la pluma, días: 8, 13, 18, 23, 28 de crecimiento. Las muestras se fijaron en paraformaldehído al 4%. Se realizó la infiltración e inclusión en parafina y se hicieron los cortes a 4 µm de grosor, se realizaron las tinciones (Hematoxilina-Eosina (HE) y Tricrómica de Gomori) y se aplicó la técnica de inmunofluorescencia. Los resultados mostraron en el día 8 al 23, crestas epidérmicas pequeñas, las cuales no presentaron una morfología celular definida; entre cada cresta se observaron células fusiformes, dispuestas de manera vertical en el epitelio (células oscuras). En las crestas medianas, a nivel de su base, se observaron células con morfología escamosa, teniendo una transición a células cuboides, formando una placa denominada placa marginal; las células de morfología cuboides a columnar, localizadas por debajo de la placa marginal, formaron las placas barbulares; en el ápice de estas crestas medianas, las células poliédricas formaron la barba. Las células de la región intermedia de la cresta se observaron de forma irregular, originando la placa axial. En las crestas más grandes las células barbulares presentaron forma celular fusiforme. Se observó la presencia de vimentina en las células de la papila, pulpa y epitelio (estrato basal), el día 8 de crecimiento al igual que las células de la papila y pulpa, mostrando una disminución hacia el día 13 y desapareciendo completamente en el día 23 de crecimiento.

**Palabras clave:** paloma, cálamo, crestas de las barbas, vimentina y regeneración de la pluma.

## II. INTRODUCCIÓN

En la medicina veterinaria se empiezan a realizar estudios en el área de la terapia regenerativa, dichos estudios se basan en encontrar nuevos tratamientos o terapias que ayuden en la práctica clínica. Se fundamentan en la aplicación de conocimientos básicos de procesos biológicos normales en los animales. Por ejemplo conocimientos topobiológicos, los cuales incluyen tamaño, expansión y forma celular, a su vez la arquitectura y disposición de los tejidos, como lo reportado por Martínez (2015) al realizar la caracterización histológica del cálamo de las plumas remeras durante la etapa de crecimiento en palomas adultas, describiendo en la placa marginal en cualquier etapa de crecimiento a las células escamosas y cuboides, mientras que en las placas barbulares presentan un solo estrato de células cuboides cambiando durante su alargamiento a células columnares mientras que la zona de transición entre cálamo y raquis las células presentan una morfología fusiforme. Las aves son una buena herramienta biológica en la investigación y en particular las plumas sirven como modelo de procesos de regeneración de tejidos. En el caso de las palomas sirven como un material biológico muy accesible para realizar trabajos de investigación, en este trabajo se utilizaron palomas mensajeras de un criadero particular. En México existen pocos estudios topobiológicos en las plumas, por tal motivo es importante contribuir en la aportación de conocimientos básicos para la realización de estudios de regeneración de tejidos.

### **III.1 Generalidades de las palomas.**

Las palomas son animales fáciles de manejar y pueden ser utilizadas en estudios de investigación.

La paloma (*Columbia livia*) es un ave perteneciente a la familia *Columbidae*, en la que también se encuentran las tórtolas. Se trata de una ave de pequeño tamaño (de 34 a 37 cm aproximadamente), patas cortas y rojizas, pico corto y delgado, con una cubierta carnosa blanca (cera), así como grandes alas de plumas alargadas. Su peso vivo adulto suele ser de entre los 250 y los 500 gramos (este último en ejemplares excepcionales). (Medellín R.A., *et al.*, 2005). Existen diversas características que permiten a la paloma doméstica crecer de manera sostenida en la población: vive entre 15 y 20 años, posee un ciclo reproductivo corto. Pueden realizar 4 ó 5 puestas al año (desde marzo a agosto, y una más en el otoño, tras la muda) con 1 ó 2 huevos (generalmente un macho y una hembra) es capaz de reproducirse desde los 6 meses de edad y durante todo el año. Produce hasta 12 pichones por año y la incubación dura entre 16 y 19 días. (Toro, 2000; Medellín R.A., *et al.*, 2005).

### **III. 2 Estructura de la pluma.**

#### **Anatomía.**

La piel de las palomas está cubierta y protegida por las plumas las cuales son grandes y fáciles de obtener. La implantación de las plumas en la piel tiene un patrón: existen zonas cutáneas con implantación de plumas (pterilios) con una disposición particular para cada especie y zonas cutáneas que carecen de ellos (apterios). Las plumas son de tres tipos: semipluma, plumón y pluma. Tienen estructuras secundarias dependiendo del tipo de pluma. Las plumas remeras se localizan en el ala insertadas a nivel del borde caudal del antebrazo (remeras secundarias) y de la mano (remeras primarias), son las plumas utilizadas para el vuelo. Las plumas rectrices (timoneras) se insertan en la cola. Las plumas tectrices cubren las superficies dorsal y ventral de las alas y cola. El resto de las plumas del cuerpo de las aves simplemente se denominan plumas del contorno

general y condicionan la forma típica del ave. El plumón y la semipluma se clasifican como plumas bajas, ya que se encuentran en toda la piel cubiertas por las plumas de contorno. Solo tienen nombre los plumones localizados en el ala, ventosa de la cloaca y cola debido a que presentan un alto grado de orden en todos los animales. Los plumones caudales están sobre la superficie dorsal y ventral de la cola, las de la superficie dorsal se ordenan alrededor de la papila uropigial formando el círculo uropigial; alrededor de la ventosa forman el círculo de la ventosa y los plumones de las alas se dividen en antebraquiales y de la mano (incluyendo aquí las alulares) (García, *et al.* 2016).

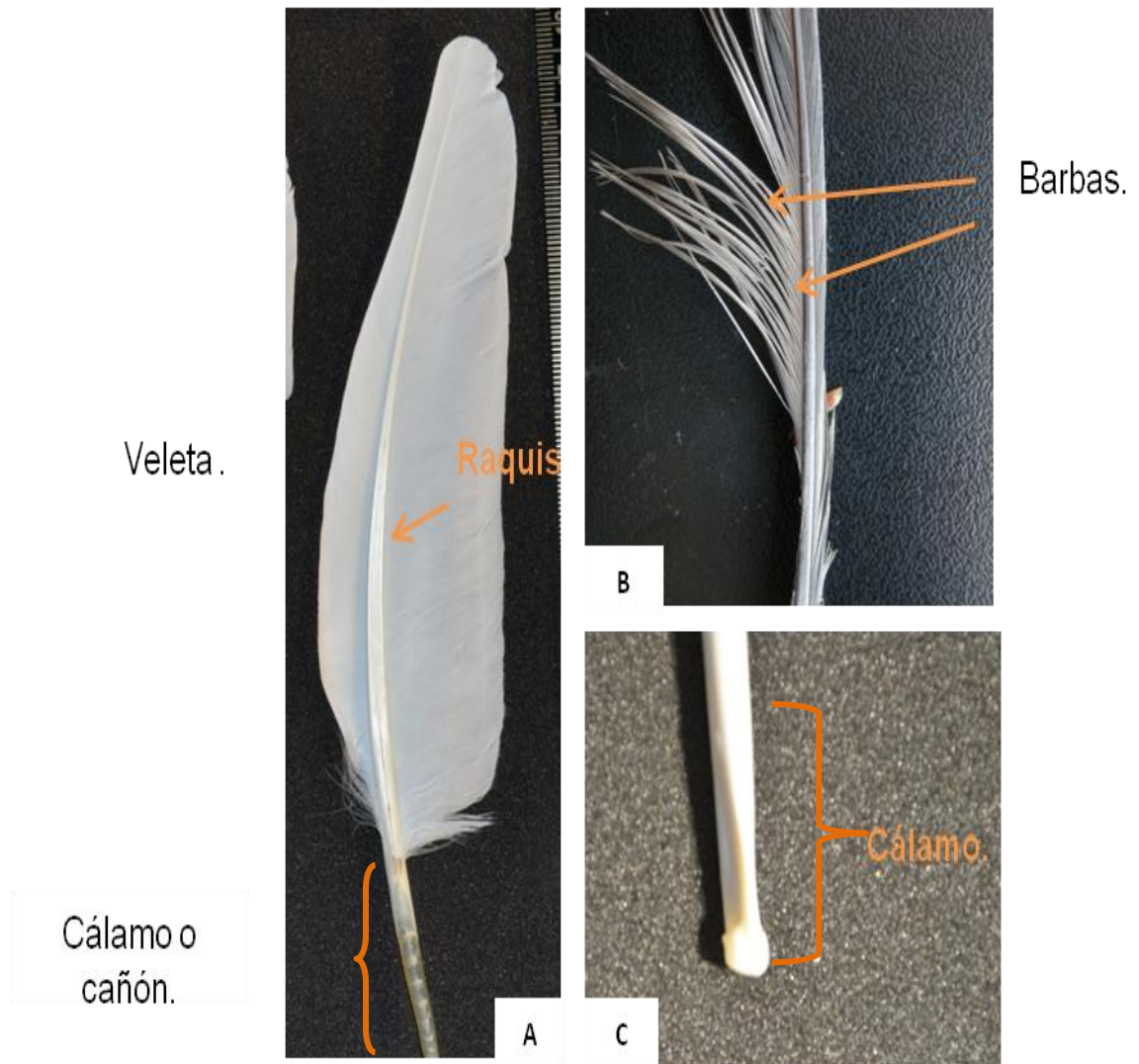
Una pluma presenta una parte central (eje) formado por el raquis y el cálamo (Fig.1A.). El raquis es la parte que sobresale de la piel y el cálamo la que esta insertada en la piel (Masson, 2004). El cálamo es hueco y tiene en la parte inferior un orificio denominado *ombliigo inferior* que es por donde la pluma es alimentada durante su crecimiento. La pluma está formada por células muertas, como las uñas, una vez que ha terminado de crecer, los vasos sanguíneos que la alimentaban se retiran y queda el espacio vacío. En la parte superior del cálamo el raquis empieza a aplanarse y se encuentra, justo en donde termina el cálamo, otro orificio denominado *ombliigo superior* que es por donde el cuerpo laminar de la pluma emergió al comenzar a crecer. El raquis está relleno de detritos celulares, pigmentos y proteínas, que quedaron como resultado de su desarrollo. En los márgenes laterales el raquis se aplanan y aquí crece la veleta o vexilo en forma de lámina dividida en dos partes opuestas, es el cuerpo visible y de mayor área de la pluma, formado por las barbas, que son láminas delgadas y rectas que surgen del raquis y se disponen en forma paralela a lo largo del mismo. (Mc Farland, *et al.*, 1979) (Fig. 1B).

Existen otros dos tipos especiales de plumas, la filopluma y las plumas en forma de cerda. Las filoplumas (semejantes a pelos) son plumas con un raquis delgado y capilar, además de una veleta muy pobremente desarrollada o ausente, están en todos los pterilios del cuerpo. Las plumas en forma de cerda se localizan en la cabeza y son parecidas a la filopluma con la diferencia de tener un raquis grueso

(de ahí su nombre) libre de barbas; son características de este tipo las encontradas en los párpados (cilios palpebrales) (García, *et al.* 2016).

En la pluma las barbas de la veleta se encuentran engarzadas dando la apariencia típica de una pluma. Cada barba presenta en sus bordes una serie de pequeñas ramitas o bárbulas en donde se pueden observar los procesos barbulares (ganchosos) cuya función es la de engarzarse con los de las barbas vecinas para mantenerlas unidas entre sí (Fig.1B). En el plumón y la semipluma las barbas de la veleta están completamente desengarzadas (mullidas), la diferencia entre ambas es que en el plumón el raquis es más corto que las barbas más largas mientras que en la semipluma la longitud del raquis excede al de las barbas más largas. Las bárbulas proximales están orientadas (apuntan) hacia la superficie cutánea (en sentido estricto, están por debajo de la barba). Las bárbulas distales que se localizan igualmente sobre una barba, pero apuntan en sentido opuesto de la superficie cutánea (en sentido estricto están por encima de una barba). Gracias a estos procesos las aves pueden arreglar sus plumas desordenadas cuando las barbas se separan unas de otras.

Las barbas de la parte basal de la veleta tienen muy pocas o carecen de bárbulas, lo que les da un aspecto laxo. En las plumas del cuerpo, la parte superior de la veleta queda hacia afuera, lo que le confiere al contorno del cuerpo sus características aerodinámicas, pues todas las plumas se encuentran dirigidas hacia atrás, propiciando una circulación del aire con menor resistencia. La parte laxa queda hacia el interior, produciendo que el aire quede atrapado, formando una bolsa que tiene una función de aislamiento. Ocasionalmente, sale del ombligo superior una estructura similar a una pluma pequeña que se llama hiporraquis. Esta estructura está presente en algunos grupos como las *ratites* y las *gallináceas*, y se cree que es una reminiscencia derivada de la formación en hoja doble de las escamas de los reptiles.



**FIGURA 1.** Anatomía de la pluma. A. Pluma remera. B. Pluma con las barbas desengarzadas. C. Calamo.

### **Histología.**

A nivel histológico, el cálamo de la pluma está constituido por dos tejidos principalmente. El primer tejido que se localiza externamente y forma la pared del cálamo, está constituido por un epitelio estratificado escamoso queratinizado (epidermis) y el tejido que ocupa el lumen del cálamo está formado por mesénquima. A partir del tejido epitelial se da la formación de las barbas de la

pluma, dividiéndose el epitelio en tres diferentes estratos de donde surgirán las placas de la barba; a partir de estas placas se originan los componentes anatómicos que conforman a las barbas (veleta) y raquis (Pass, 1995; Shere y Chuong, 1996). El mesénquima localizado en la parte central del filamento (pluma) contiene células mesenquimales, fibroblastos y vasos sanguíneos, dando lugar a la papila y a la pulpa; la papila dérmica se localiza en la base del folículo y arriba de ella se encuentra la pulpa (Prum y Dyck, 2003). Se ha observado que la papila dérmica participa en la regeneración de la pluma, liberando moléculas de señalización para la diferenciación del epitelio. No se ha determinado por completo si las células de la papila dérmica migran al epitelio.

Los tres estratos que forman al epitelio, se consideran desde la base del epitelio a la superficie del mismo, iniciando con el estrato basal, estrato intermedio y el más externo se le denomina estrato superficial (Pass, 1995; Shere y Chuong, 1996). Cuando inicia la diferenciación del epitelio del cálamo, se forman las crestas de las barbas, formándose por grupos celulares interconectados de 20 a 30 capas de células, originando pliegues dispuestos de manera longitudinal en todo el eje de la pluma (Prum y Dyck, 2003).

Cada pliegue está constituido por diferentes tipos celulares de acuerdo con Martínez (2015), en la zona periférica interna presenta células escamosas en transición celular a cuboides y en el estrato medio células cuboides con transición a columnares y queratinocitos, los cuales producen queratina en el epitelio y son las células más abundantes de cada cresta de la barba ya que a partir de ellas se forman las placas marginal, barbular y la placa axial (Prum y Dyck, 2003; Bragulla y Hirschberg, 2003).

Una vez que cada cresta se empieza a diferenciar, los queratinocitos reciben el nombre de la placa en que se diferencian, a excepción de las células de la placa axial que reciben el nombre de células de apoyo.

Placas que forman a la cresta de la barba:

1. Placa marginal: las células del estrato basal son las que se diferencian en células de la placa marginal, producen queratina en muy poca cantidad y al final de la maduración de las crestas tienden a desaparecer.
2. Placa de la barba: al momento que se forman las crestas, el estrato intermedio del epitelio se diferencia en las células de la barba y se localizan en la región del ápice de la cresta, en forma de un “cúmulo nodular” adyacente a la placa marginal.
3. Placas barbulares: las células de las placas barbulares tienen su origen a partir del estrato intermedio del epitelio. Se localizan en las caras laterales de las crestas; tanto en la cara proximal como la distal
4. Placa axial: Las células de ésta placa se les conoce como células de apoyo, se caracterizan por producir en poca cantidad  $\beta$ -queratina y poca acumulación de lípidos; al madurar no forman tejidos cohesivos, como consecuencia se separan hasta finalmente desaparecer. Por lo tanto se localizan entre los queratinocitos. Algunas de ellas se disponen en la región media de la cresta (a nivel del eje de la cresta) (Maderson *et al.*, 2009).

Entre estas placas celulares se localizan de manera dispersa otro tipo de células, conocidas como melanocitos, son células pigmentadas con prolongaciones citoplasmáticas que se dirigen a la superficie del epitelio, transfiriendo los melanosomas que contienen la melanina, la cual da la pigmentación en la pluma, se originan de la cresta neural y migran a la porción germinal en el desarrollo de la pluma a nivel de la pulpa (Prum y Dyck, 2003).

En el estrato superficial del epitelio, en la zona periférica externa de las crestas se va acumulando la queratina producida por los queratinocitos, y a partir de ésta capa de la epidermis se forma la vaina. Está vaina está constituida por células planas, protegiendo a la pluma durante el desarrollo, al final del crecimiento de la pluma se pierde esta vaina.



A nivel del cuello del folículo, se localiza un collar, en forma de una protuberancia, aquí residen las células troncales de queratinocitos, en fase de crecimiento. Estas células se caracterizan por ser de ciclo lento y dan lugar al tránsito de la progenie del epitelio, que avanza verticalmente (hacia arriba) y de donde se diferencian las barbas. La división celular en el collar está limitada a tales células contribuyendo a la formación de la zona ramogénica, en donde se empiezan a formar las crestas de la barba, aquí se observan células de forma fusiforme, alargadas y muy finas, denominadas células oscuras (Alibardi, 2010).

En el lumen del cálamo están presentes las células mesénquimales, fibroblastos y vasos sanguíneos, dando lugar a la papila y a la pulpa. Diferenciándose una de otra por la localización, ya que la papila se localiza en la base del folículo y sobre esta se encuentra la pulpa (Prum y Dyck, 2003; Bavdek, *et al.*, 1997).

La epidermis como todo epitelio, carece de vascularización y por lo tanto es completamente dependiente de los vasos sanguíneos de la dermis, ya que ésta última participa con el gradiente de difusión en la diferenciación de las células epidérmicas adyacentes, difundiendo los nutrientes y moléculas de señalización como factores de crecimiento. También funciona como soporte mecánico para la diferenciación de queratinocitos (Bragulla y Hirschberg, 2003; Maderson, *et al.*, 2009).

### **III. 3 Crecimiento de la pluma.**

Las plumas son estructuras exclusivas de las aves y se pueden considerar similares al pelo de los mamíferos; crecen y se desarrollan a partir de los folículos plumosos. El ciclo de crecimiento de la pluma se divide en la fase anágena y telógena. Este crecimiento se da en el folículo de la pluma a partir de la papila dérmica principalmente en la fase anágena, una vez que se empieza a formar el nuevo filamento, se empuja la pluma vieja hacia afuera. La fase telógena representa el sostenimiento de la pluma dentro del folículo ejercida por los músculos (lisos) del folículo y por puentes de queratina que existen entre la porción epidérmica del folículo y la epidermis de la pluma (Masson, 2004).

Los folículos plumosos se forman a partir del epitelio estratificado escamoso queratinizado de la epidermis siendo invaginaciones hacia la dermis en donde se forma una papila dérmica en la base del folículo (Estrada y Uribe, 2002). Por esta razón, cuando se forma la pluma, ésta tiene un estrato epidérmico que se relaciona con el estrato epidérmico del folículo, se produce una especie de evaginación y la epidermis crece hacia la parte externa. En el interior de esa proyección van a residir células de la dermis las cuales forman a la papila dérmica, esta papila dérmica queda por lo tanto delimitada por las dos paredes de la invaginación y la evaginación del epitelio que en la base del folículo se encuentran unidas. A partir de esta pared epidérmica del epitelio se forman las crestas de las barbas, que dan origen a las barbas de la pluma. Una vez que se forma la pluma, ésta queda insertada en el folículo plumoso en la piel. Éste folículo a su vez se inserta en la dermis, aquí se encuentran vasos sanguíneos, nervios y terminaciones nerviosas. La región basal de la papila dérmica contiene células pequeñas, redondeadas que están muy juntas entre sí, mientras que en el resto de la papila son más grandes, achatadas y se disponen más laxamente unas respecto de otras. A partir de la actividad de la papila dérmica y de su interacción con la epidermis del folículo se genera una nueva pluma. Asociados al folículo de la pluma se encuentran los músculos de las plumas, compuestos por fibras musculares lisas que se insertan en la pared del folículo mediante tendones elásticos. Se caracterizan además por interconectar folículos adyacentes de manera tal que forman un "paralelogramo" que en cada uno de sus ángulos presenta un folículo plumoso. La cantidad de músculos es variable, pero la presencia de los músculos elevador y depresor de la pluma es constante (Barbeito y González, 2014).

### **III. 4 Regeneración de la pluma.**

El plumaje de un ave está sometido a un continuo desgaste, que obliga a una regeneración regular del mismo. Este proceso de renovación de las plumas se denomina "muda", y como norma general se realiza una vez por temporada. Una pluma crece a un ritmo diario de 5-10 mm, por lo que una pluma remera puede

tardar varias semanas en regenerarse, si tenemos en cuenta que muchas especies necesitan de su plumaje completo para estar en óptimas condiciones, la muda ha de realizarse de forma progresiva. El crecimiento de la pluma nueva va empujando a la antigua, provocando su desinserción. Durante una muda completa cada sector de plumas se renueva como un bloque, con una velocidad y duración determinada, en la que cada pluma va creciendo en el lugar donde se localizaba su predecesora con cierto desfase con respecto a las contiguas, de forma que podemos decir que una pluma espera a que la contigua haya crecido un poco para caerse y dar paso a una nueva. De esta forma, se produce una especie de onda de renovación del plumaje a lo largo de los diferentes sectores corporales del ave. Esto se desarrolla de forma más ordenada en las plumas del vuelo, en tanto que el plumaje corporal sufre una muda menos organizada. La muda de las plumas remeras primarias es la que nos va a marcar en la mayor parte de las especies el grado en el que se encuentra la muda, ya que suelen ser estas plumas las que antes comienzan a mudar y las últimas en terminar. Es una regla, con sus excepciones, que la muda de las plumas remeras secundarias y rectoras se completa dentro del lapso de tiempo requerido para la muda de las remeras primarias (Jenni L., *et al.*, 1994).

Por lo tanto como se mencionó en un principio en el texto de la muda de la pluma, es muy importante que se realice este evento de regeneración de las plumas para que las aves se encuentren en óptimas condiciones, pero el tiempo en que se realiza este proceso puede ser variado dependiendo la especie. Por esta razón es importante conocer el proceso de regeneración normal de la pluma para poder aplicar los conocimientos básicos en ingeniería de tejidos en donde hay casos que la regeneración de la pluma sea rápida. Se han realizado estudios de trasplante de papila dérmica en donde se regenera la pluma, ya que se consideran células de tipo troncal, pero aún no se sabe completamente si las células de la papila migran al epitelio del cálamo (Lin *et al.*, 2013). Un dato importante es que las células de origen mesenquimatoso presentan filamentos de vimentina en su citoesqueleto y se ha observado que en el crecimiento de la pluma, es posible detectar la presencia de este filamento. Los filamentos de vimentina caracterizan la

morfología celular necesaria para el funcionamiento de las mismas (Bavdek *et al.*, 1997). Es por eso importante estudiar la presencia de este filamento durante el crecimiento de la pluma para poder determinar la relación epitelio-dermis.

### **III. 5 Citoesqueleto.**

Las células poseen un citoesqueleto que es un sistema de filamentos formado por tres familias de proteínas, filamentos de actina o microfilamentos, microtúbulos y filamentos intermedios, cada uno se forma por diferentes proteínas y cuentan con diferentes mecanismos de organización a partir de eventos de polimerización y despolimerización de las unidades que los conforman (Alberts *et al.*, 2015). La interacción que hay entre estos tres tipos de filamentos permite a la célula mantener o modificar su forma, dar soporte y fortaleza, la organización de su estructura interna, movimiento intracelular y de la célula como tal (migración) y realizar rearrreglos internos de acuerdo a los diferentes estímulos que reciba (Prasain y Stevens, 2009; Alberts, *et al.*, 2015). Por otro lado, los tres componentes del citoesqueleto están asociados a una serie de proteínas que regulan y modifican su estructura afectando su comportamiento dinámico, posición, uniones, movimiento y formación de estructuras de orden superior en función de señales extra e intracelulares (Alberts, *et al.*, 2015).

Los filamentos de actina tienen 7 nm de diámetro, aproximadamente (Pacheco, *et al.*, 2008). Tienen el diámetro más pequeño dentro de los filamentos que componen el citoesqueleto, por ello también se denominan microfilamentos. El mecanismo de crecimiento y acortamiento de la longitud de los filamentos de actina es por polimerización y despolimerización. Cada filamento posee un extremo más y otro menos, es decir, son filamentos polarizados. El extremo más se denomina así porque en él predomina la polimerización, adición de nuevas moléculas de actina, mientras que en el extremo menos predomina la despolimerización (Alberts, *et al.*, 2015). La versatilidad con que se crean y se destruyen, así como por su capacidad de asociarse y formar estructuras tridimensionales muy diferentes, es gracias a las denominadas proteínas de unión

a actina (profilina, timosina, fimbrina,  $\alpha$ -actinina, filamina, cofilina, gelsolina, tropomiosina, entre otras) (Pacheco, *et al.*, 2008).

Los microtúbulos son un componente del citoesqueleto que tiene un papel fundamental en la organización interna de la célula. Son tubos largos y relativamente rígidos, con un diámetro de 25 nm. Sus paredes están formadas por dímeros de proteínas globulares denominadas  $\alpha$  y  $\beta$  tubulina. Estas parejas se alinean ordenadamente, mediante enlaces no covalentes, en filas longitudinales que se denominan protofilamentos. Un microtúbulo contiene normalmente trece protofilamentos. Los protofilamentos tienen una polaridad estructural: la  $\alpha$ -tubulina siempre estará orientada hacia un extremo del protofilamento y la  $\beta$  hacia el otro. Todos los protofilamentos de un microtúbulo están orientados de la misma manera y por tanto el microtúbulo también es una estructura polarizada. Se denomina extremo menos al formado por las unidades de  $\alpha$ -tubulinas y extremo más al formado por las  $\beta$ -tubulinas. Al igual que ocurre con los filamentos de actina, el extremo más es el de mayor polimerización y los microtúbulos tienen asociadas otras proteínas que se encargan de controlar la polimerización y despolimerización, así como su organización espacial. A estas proteínas se les denomina generalmente como proteínas asociadas a los microtúbulos o MAPs (Ohi and Zanic, 2016).

Los filamentos intermedios son fibras proteicas gruesas y resistentes, en forma rectilínea o ligeramente curvada, llamados así por su diámetro de 11 nm, que se localizan entre las dimensiones de los filamentos de actina y los microtúbulos, son los componentes más estables del citoesqueleto. Están formados por una familia de proteínas filamentosas localizadas en el citoplasma (queratinas, vimentinas y neurofilamentos) y el núcleo (láminas nucleares). Estos filamentos forman una red que se extiende desde la envoltura nuclear hasta la membrana plasmática, e incluso, forman una malla que reviste la membrana nuclear interna para darle fortaleza. Son característicos de células que soportan gran tensión mecánica como la prolongación de las células nerviosas, los epitelios y las células musculares (Alberts, *et al.*, 2015).

La vimentina es una proteína filamentosa cuyos monómeros se unen formando dímeros enrollándose en forma helicoidal, después se unen dos dímeros de forma antiparalela y forman un tetrámero que conforma la unidad de polimerización de la vimentina. Los tetrámeros se unen longitudinalmente formando protofilamentos y a lo ancho se unen 8 protofilamentos para dar la estructura final formando una fibra estable lo cual es crítico para sus funciones de soporte y resistencia (Alberts *et al.*, 2015).

Los filamentos de vimentina se localizan en células mesénquimales, musculares, del tejido conectivo y de la neuroglia, aparece en múltiples tipos de células durante la embriogénesis temprana, por lo que pueden utilizarse como marcadores celulares del mesénquima. Debido a sus características diferenciales de expresión los filamentos intermedios pueden ser utilizados para realizar tipificación celular (Steinert., 1991; Alberts *et al.*, 2015).

Se ha observado que en el crecimiento de la pluma, es posible detectar la presencia de filamentos de vimentina en el epitelio, en la región subepidérmica, en la pulpa y/o papila. En determinadas regiones del filamento, se pueden determinar signos morfológicos de su estado particular funcional, confirmándolo con sus características morfológicas celulares, pudiendo determinar una interacción epitelio-dérmica. Los filamentos de vimentina colaboran para dar las características morfológicas necesarias para el funcionamiento de las células (Bavdek, *et al.*, 1997).

Todos los términos utilizados en este trabajo están acordes a la Nomenclatura Anatómica Veterinaria (Gasse, 2012) y a la Nomenclatura Histológica Veterinaria (Seeger *et al.*, 2017).

#### **IV. JUSTIFICACIÓN.**

Se han realizado estudios sobre el crecimiento de la pluma en embriones y animales jóvenes, pero pocos se han hecho en animales adultos. A su vez, dentro de los estudios del crecimiento de la pluma en animales adultos, pocos son los estudios que relacionan los componentes celulares del epitelio, de la pulpa y la papila. Se ha observado que la papila induce la regeneración de la pluma mediante la secreción de moléculas de señalización (Widelitz *et al.*, 2003); pero aún no se conoce el mecanismo, ya que se ha postulado que esto puede ser debido que las células de la papila migren al epitelio del cálamo. Se ha observado que la vimentina, participa en los cambios morfológicos celulares y en la migración de las células en diferenciación (Martinovic, 2017). En relación con esto, en el crecimiento de la pluma se ha encontrado la presencia de vimentina en la región subepidérmica, haciendo suponer que las células de la papila o la pulpa se relacionan con el epitelio. Debido a que en el epitelio existen unas células de forma fusiforme (células oscuras) en la zona ramogénica que no se sabe su origen, se piensa que pueden ser células epiteliales en degeneración o células que migran de la papila (Alibardi, 2010). Para comprender el proceso de regeneración y crecimiento de las plumas es necesario realizar estudios a nivel anatómico, histológico, celular y subcelular que permitan reconocer de forma integrada los eventos que suceden durante este proceso.

## **V. OBJETIVO GENERAL.**

Describir los cambios morfológicos celulares en diferentes estadios del cálamo de las plumas remeras en crecimiento de palomas adultas machos, mediante tinciones topográficas y su relación con la expresión de vimentina en las células de la papila, pulpa y epitelio.

## **OBJETIVOS PARTICULARES.**

1. Analizar las características morfológicas celulares de la papila dérmica, pulpa y del epitelio del cálamo de las plumas remeras en diferentes tiempos de crecimiento, por medio de las tinciones de H-E y Tricrómica de Gomori.
2. Identificar la presencia de vimentina mediante ensayos de inmunofluorescencia indirecta como posible marcador de cambios a nivel celular en el desarrollo de las estructuras que conforman al cálamo.



## **VI. HIPÓTESIS.**

La expresión de vimentina coincide con los cambios morfológicos celulares en el epitelio, la pulpa y la papila dérmica del cálamo en las diferentes etapas del crecimiento.

## **VII. MATERIALES Y MÉTODOS.**

### **Toma de Muestras.**

Se tomaron muestras de tres machos adultos de palomas mensajeras (*Columba livia*), se extrajeron las plumas remeras primarias de las alas para inducir la regeneración de las plumas. Posteriormente se tomaron muestras los días 8, 13, 18, 23 y 28 de las plumas en regeneración, considerando como día cero cuando se extrajeron las plumas. Se fijaron en paraformaldehído al 4% en buffer salino de fosfatos (PBS). Se disecó el cálamo; se procesaron las muestras por el método de inclusión en parafina y se realizaron cortes de 4  $\mu\text{m}$  de espesor. Para este trabajo se aplicaron las técnicas de tinción Hematoxilina-Eosina (HE) y Tricrómica de Gomori usando como referente las estructuras anatómicas descritas para el cálamo en crecimiento (Martínez, 2015).

### **Hematoxilina-Eosina.**

Tinción utilizada para observar la estructura general del tejido, marcando principalmente la diferencia entre el núcleo (basófilo) y citoplasma de las células (acidófilo). Por lo tanto, con esta técnica se realizará el estudio morfológico celular.

### **Procedimiento.**

Se sumergieron las muestras en hematoxilina de Ehrlich durante 6 a 15 minutos. Se lavaron en agua corriente por 2 a 5 minutos. La diferenciación se hizo en alcohol ácido al 1%, se lavaron brevemente en agua corriente. Se sumergieron en carbonato de litio, hasta que el tejido se observó azul brillante, se lavaron en agua destilada. Para contrastar, se utilizó eosina durante 15 minutos. Finalmente las muestras se deshidrataron, dos cambios de etanol al 95% cada uno, luego etanol absoluto y se hicieron dos cambios en xilol.

### **Tricrómica de Gomori.**

Contrasta núcleos celulares, eritrocitos y los cuatro tejidos básicos (epitelial, conectivo, muscular y nervioso). Con esta técnica se observó la relación de los tejidos, principalmente entre la papila y epitelio.

**Procedimiento.**

Se sumergieron las muestras en hematoxilina de Weigert 10 minutos; se lavaron con agua destilada. Posteriormente se sumergieron en el colorante de Gomori 10 minutos. Se hizo el lavado en agua destilada. Finalmente las muestras se deshidrataron, dos cambios de etanol al 95% cada uno, luego etanol absoluto y se hicieron dos cambios en xilol.

**Inmunofluorescencia Indirecta (IFI).****Procedimiento:**

Se obtuvieron cortes del cálamó de 4  $\mu\text{m}$  de espesor y se realizó la desparafinación en xilol, dos cambios. Se permeabilizó con tritón x100, 0.01% en PBS durante 20 min. Después se preparó solución de ácido cítrico 0.01M con un pH 7, posteriormente se hirvieron las laminillas en 4 ciclos de 5 minutos en horno de microondas, se retiraron las muestras del ácido cítrico y se dejaron enfriar (técnica de recuperación de antígeno). Después se realizó el bloqueo con albumina sérica bovina al 1% en PBS (BSA) durante 20 minutos, luego se lavaron las muestras 3 veces con PBS; se agregó el anticuerpo primario antivimentina producido en ratón (Mouse anti-Vimentin V9, Novex) diluido 1:20 en PBS. Se incubó a 4 °C toda la noche; al día siguiente se retiró el anticuerpo antivimentina lavando 3 veces con PBS, se colocó el anticuerpo secundario conjugado con isotiocainato de fluoresceína (FITC) (Rabbit anti-mouse FITC labeled, Santa Cruz) diluido 1:20 en PBS y se dejó incubar durante 1 hora, después se lavó el anticuerpo secundario 3 veces con PBS, y se realizó un lavado final con agua destilada para hacer el montaje en portaobjetos utilizando medio de montaje especial para fluorescencia con 4'6-diamino-2-phenylindole (DAPI) (Ultracruz™ Mounting Medium for Fluorescence, Santa Cruz). Las muestras se observaron y analizaron con un microscopio óptico marca Carl Zeiss, modelo Axio Lab A-1 y un microscopio de fluorescencia marca Carl Zeiss, modelo Axioscop 40 acoplado a una cámara de color marca Evolution VF.

## VIII. RESULTADOS.

### Anatomía de la pluma.

Las observaciones realizadas concuerdan con lo reportado en la literatura por Masson, (2004) y García *et al.* (2016), en la disección anatómica a nivel macroscópico de las muestras de los días 8, 13, 18 y 23 (Fig. 2). Se observaron en el día 8 la papila, pulpa y epidermis bien definidas (Fig. 3A); mientras que en el día 13 (Fig.3 B), además de observarse las estructuras ya mencionadas se empieza a observar la formación de la veleta y con ello la proyección de las barbas de tal manera que para los días 18 y 23 (Figs.4A y 4B) estas proyecciones son más evidentes así como la formación de vasos sanguíneos, sin embargo a nivel del cálamo se observa que tanto la papila y la pulpa se pierden dejando para el día 23 una estructura hueca.

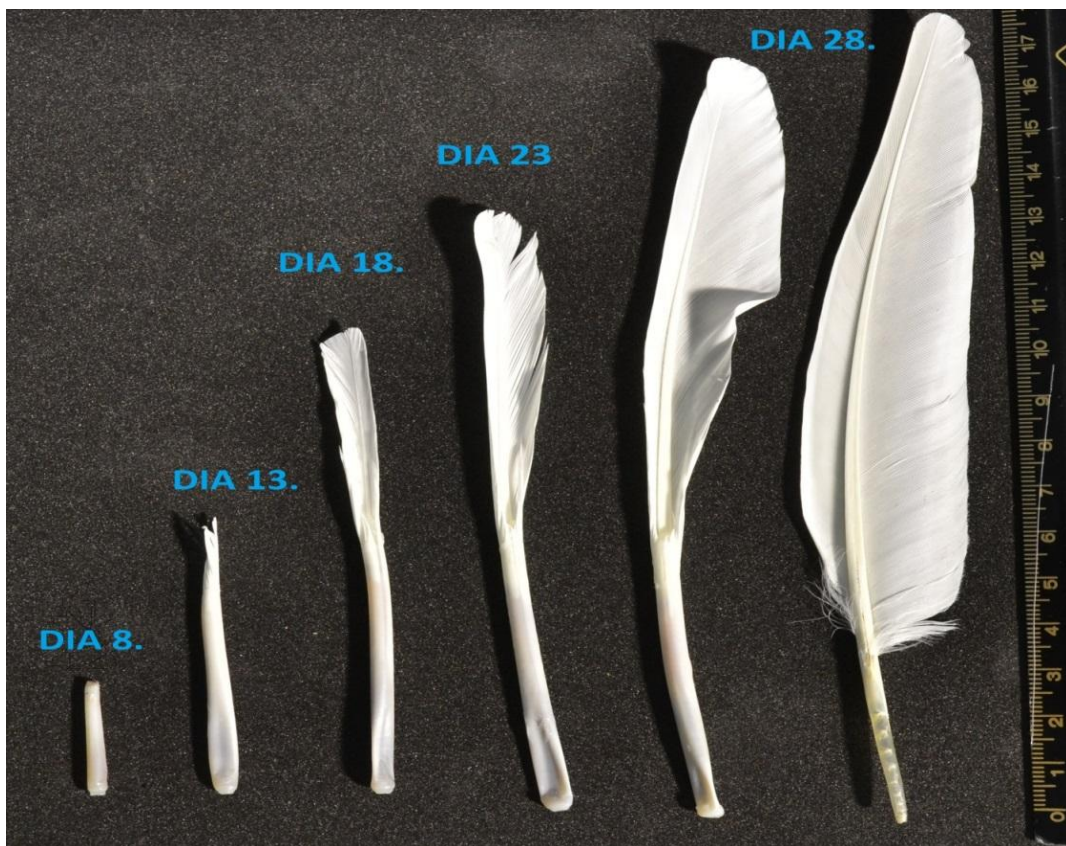
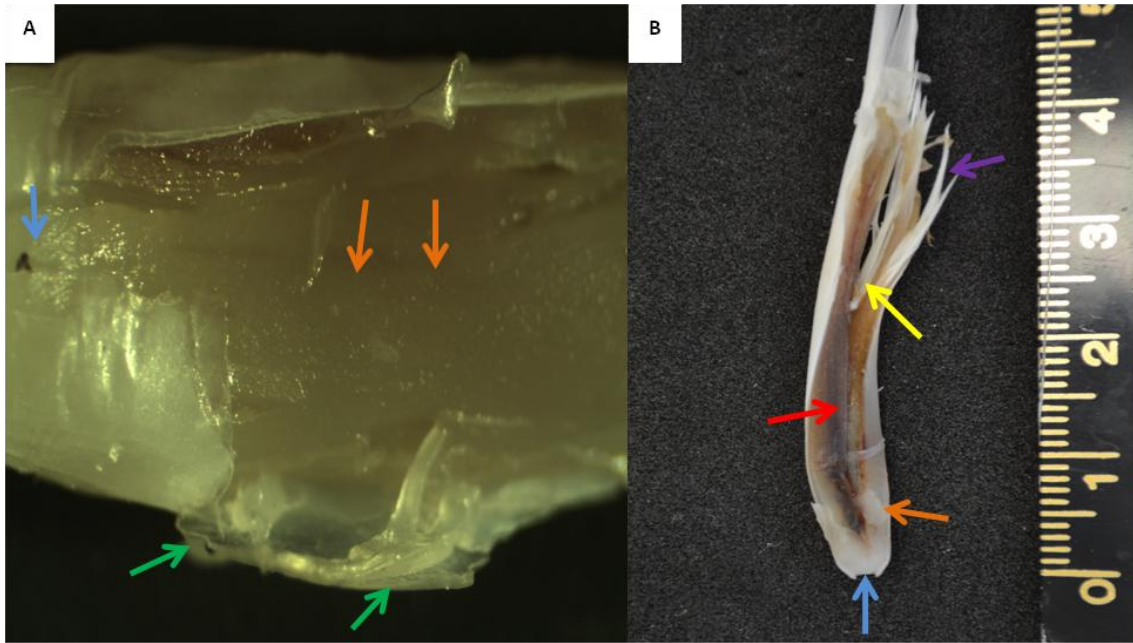


Figura 2. Plumas en sus diferentes etapas de crecimiento.

Se muestran las plumas utilizadas para realizar las preparaciones histológicas de IFI.



**Figura 3. Disección del cálamo de la pluma, días 8 y 13 de crecimiento.**

(A) Día 8 de crecimiento, se observa la papila (flecha azul), pulpa (flecha anaranjada) y epidermis (flecha verde). (B) Día 13 de crecimiento vasos sanguíneos (flecha roja), raquis (flecha amarilla) y barbas (flecha morada), papila (flecha azul), pulpa y pulpa (flecha anaranjada).



**Figura 4. Disección de plumas, días 18 y 23 de crecimiento.**

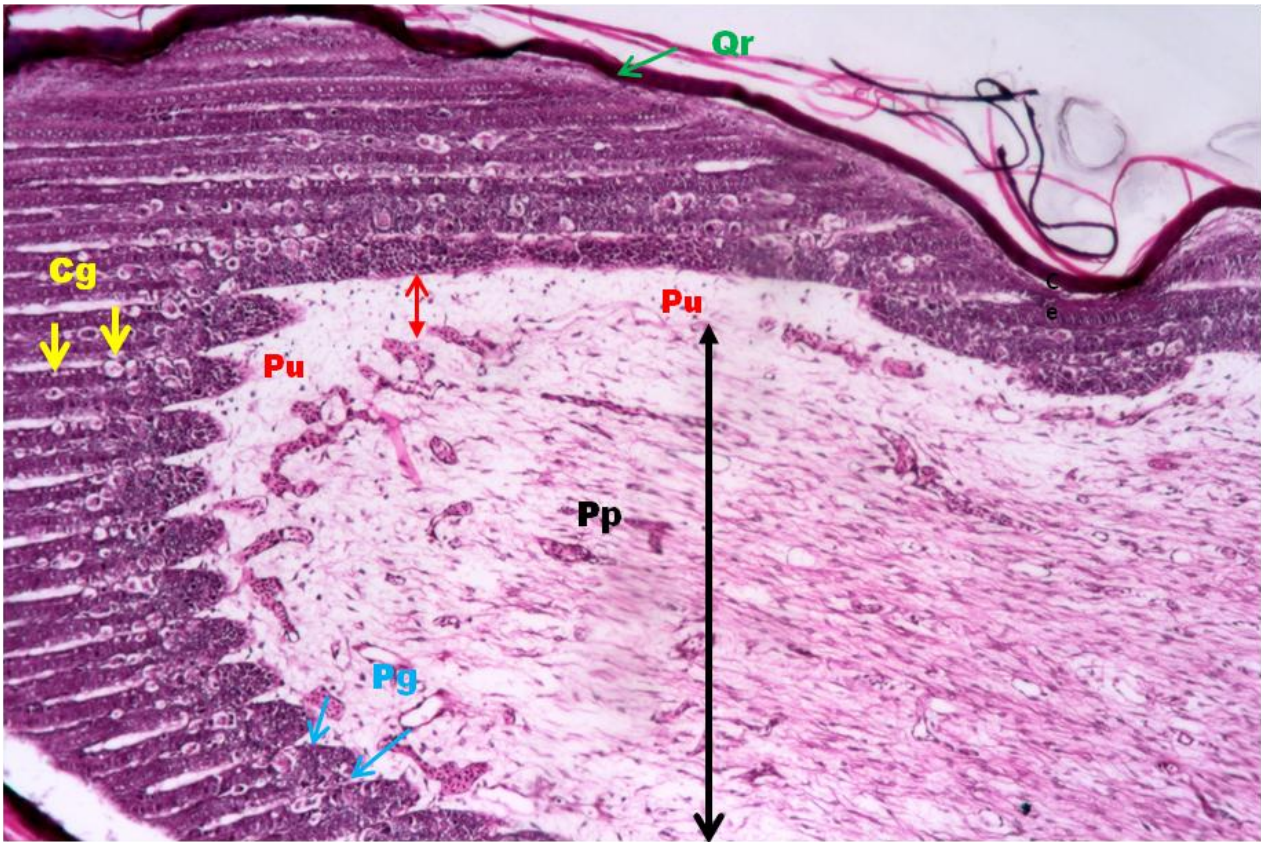
En los paneles A y B se observa el vaso sanguíneo central (flechas rojas), barbas (flechas amarillas), y papila (flechas azules).

### **Anatomía microscópica o Histología.**

En la región de la papila dérmica se puede observar que ésta toma una coloración rosa intenso y las células que se encuentran en esta región, fibrocitos, fibroblastos y células redondas se encuentran distribuidas de una manera compactada pero bien definida, por otro lado en la región de la pulpa se aprecia una coloración que se torna pálida y las estructuras, aunque están bien diferenciadas, su distribución es laxa pudiéndose resaltar células fusiformes.

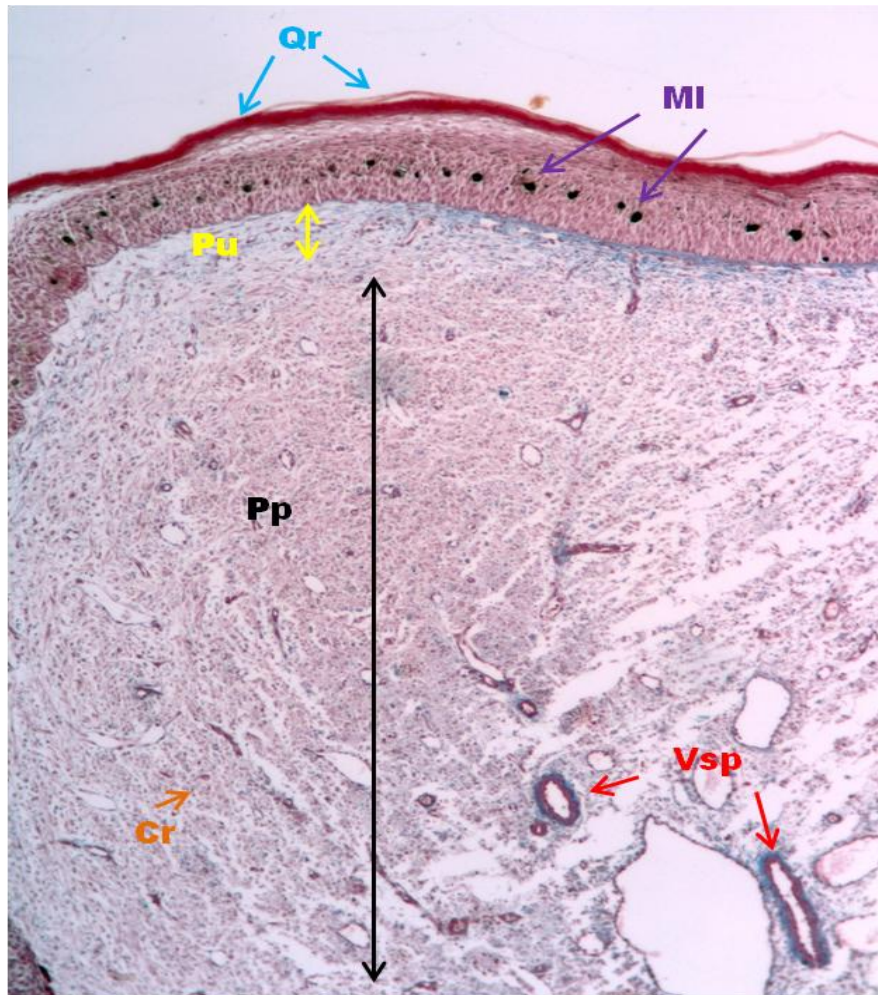
En el día 8 en el epitelio, sólo se observaron ligeros pliegues en la región proximal del mismo, con algunas masas celulares no diferenciadas. Entre estas células se apreció la presencia de células con características morfológicas celulares parecidas a las células oscuras de la zona ramogénica (células muy finas de forma fusiforme), además de observar células redondeadas bien definidas (Fig. 5). Las crestas de las barbas se observaron bien diferenciadas desde el día 13 al 23, en toda la longitud del cálamo, encontrando crestas pequeñas, medianas y grandes.

En todas las etapas de crecimiento y en todas las crestas se observaron los melanocitos (Fig. 6).



**Figura 5. Estructura histológica de la región proximal del cálamo (día 8), corte longitudinal.**

Crestas pequeñas con poca diferenciación. **Pu**: región de la pulpa (flecha roja doble punta). **Cg**; células en posible degeneración y posible producción de glucógeno (flechas amarillas). **PG**; pliegues (flecha azul). **Pp**: región de la papila (flecha negra doble punta). **Qr**: queratina (flecha verde). Tinción HE. 10x.



**Figura 6. Corte transversal de la región proximal del cálamo, día 13 de crecimiento.**

En las crestas de las barbas se observan melanocitos, en la región de la papila se observa una mayor cantidad de células redondas y vasos sanguíneos bien definidos correspondientes a arterias y venas periféricas. **Pp**: región de la papila (flecha negra doble punta). **Pu**: pulpa (flecha amarilla doble punta). **MI**: melanocitos (flecha morada). **Cr**: célula redonda. **Vsp**: vaso sanguíneo periférico (flecha roja). **Qr**: queratina (flechas azules). Tinción Tricrómica de Gomori. 10x.

En el día 18 se empieza a apreciar una mejor diferenciación de las crestas estando bien delimitadas encontrando células cuboides y la presencia de melanocitos entre ellas (Fig. 7).

En las crestas se observó lo siguiente:

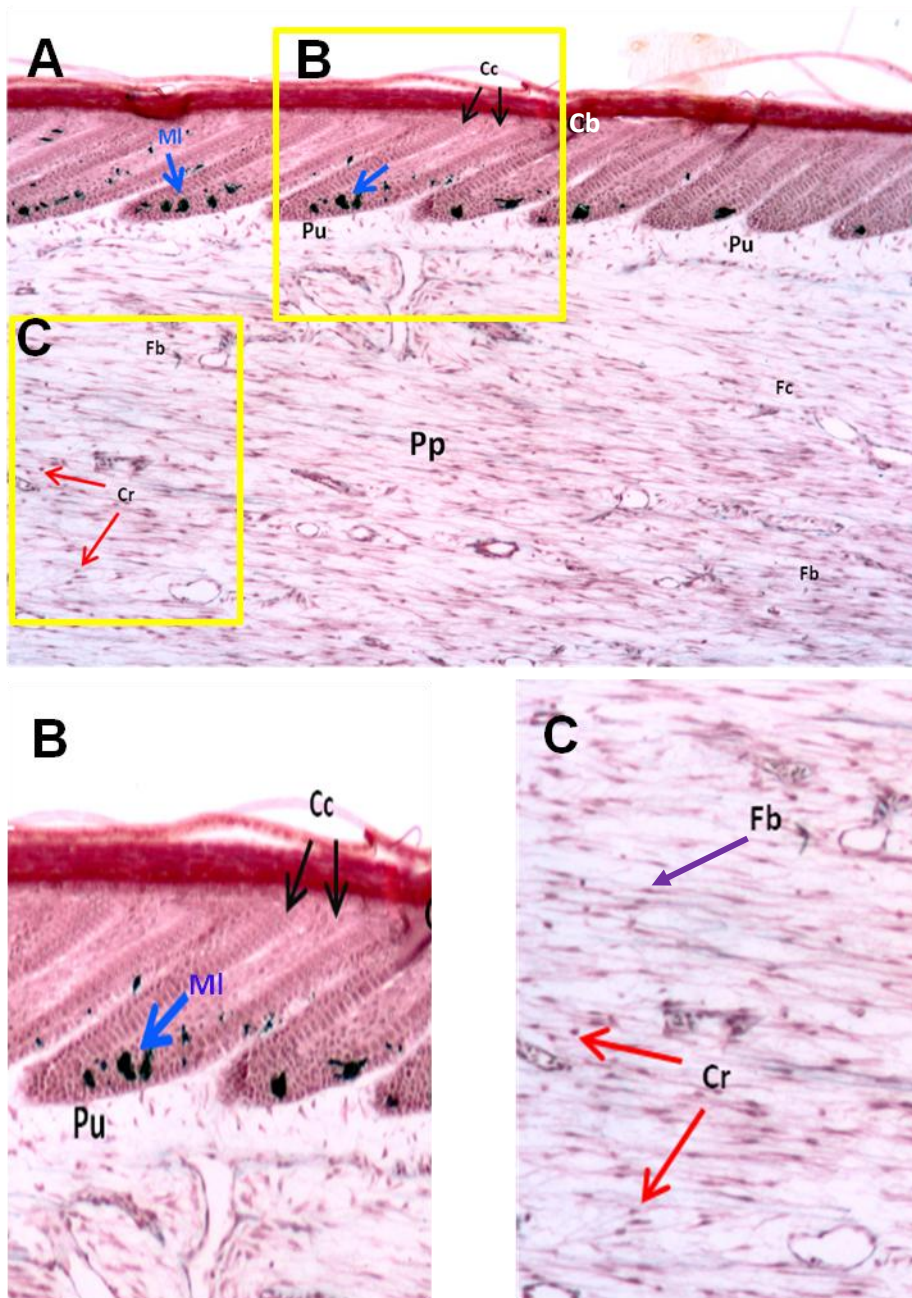
Crestas pequeñas: Algunas crestas presentaron una morfología celular poco definida y otras presentaron una placa marginal con células cuboides, una placa



barbular con células cuboides y una placa axial con células alargadas de forma no definida (Fig. 7).

Crestas medianas: en la base de las crestas y en la placa marginal, se observaron células escamosas y cuboides. Las células de la placa barbular presentaron células cuboides y columnares. En el ápice de la cresta se mostró un cúmulo de células en forma de nódulo con morfología no diferenciada, las cuales posteriormente formarán a la barba de la pluma. La placa axial presentó células alargadas con células mostrando una morfología no definida.

Crestas grandes: se observaron en la placa marginal células escamosas, en la placa barbular se observaron células fusiformes, las células de la barba tomaron una forma poliédrica, posteriormente fueron perdiendo su núcleo, se observó muerte celular, para posteriormente dejar un espacio en la barba y las células de la placa axial ya no estaban presentes.

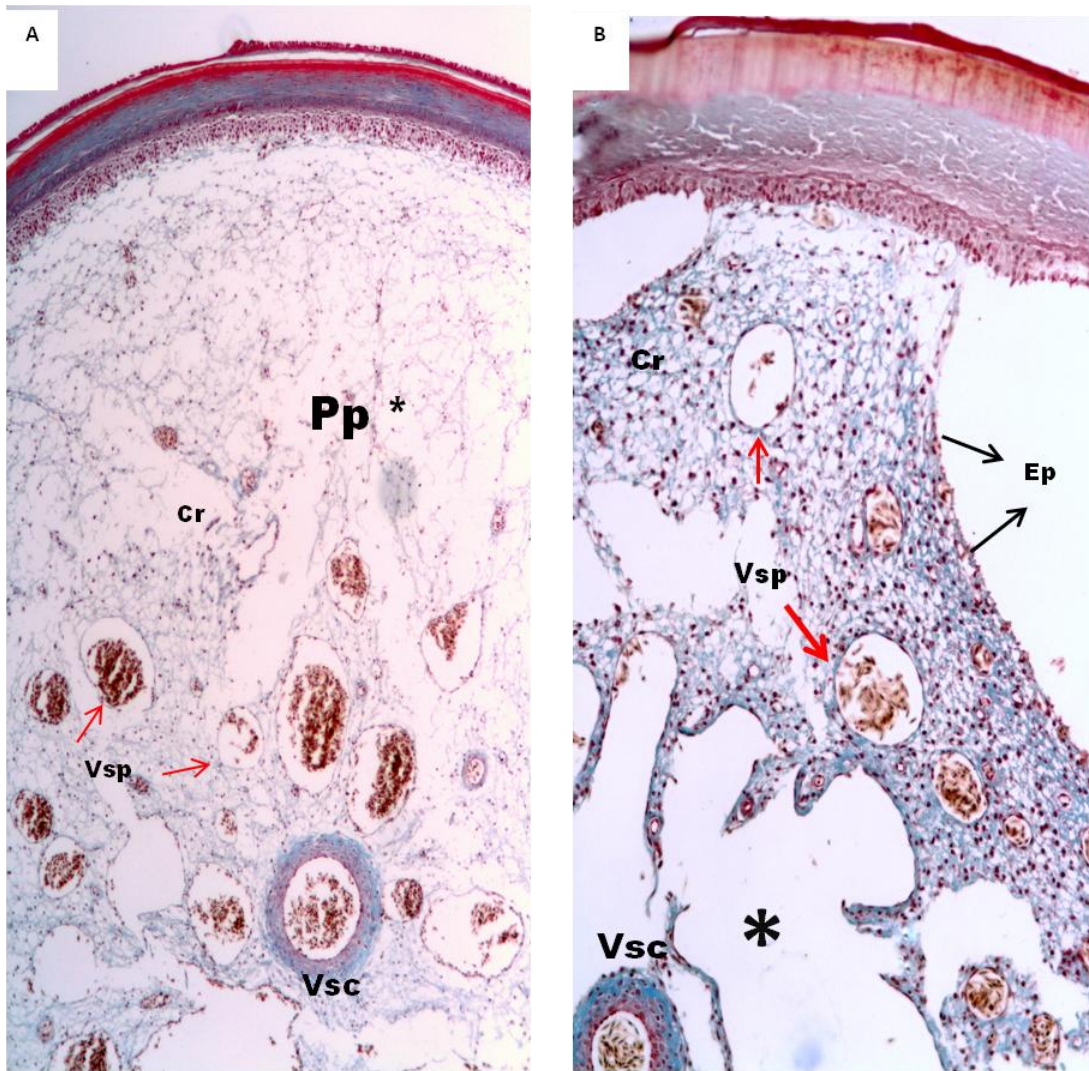


**Figura 7. Corte longitudinal de cálamo, día 18 de crecimiento.**

- A. Se observa la papila (**Pp**); pulpa (**Pu**); crestas de la barba (**Cb**), así como las células que podemos encontrar en estas regiones. **Cc**: células cuboides (flechas negras); **MI**: melanocitos (flechas azules). **Cr**: células redondas y **Fb**: fibroblastos.
- B. Inserto amplificado mostrando las células cuboides (**Cc**, flecha negra) y los melanocitos (**MI**, flecha azul).
- C. Inserto amplificado mostrando los: **Fb**: fibroblastos (flecha morada) y **Cr**: células redondas (flechas rojas). Tinción Tricrómica de Gomori. 10x.

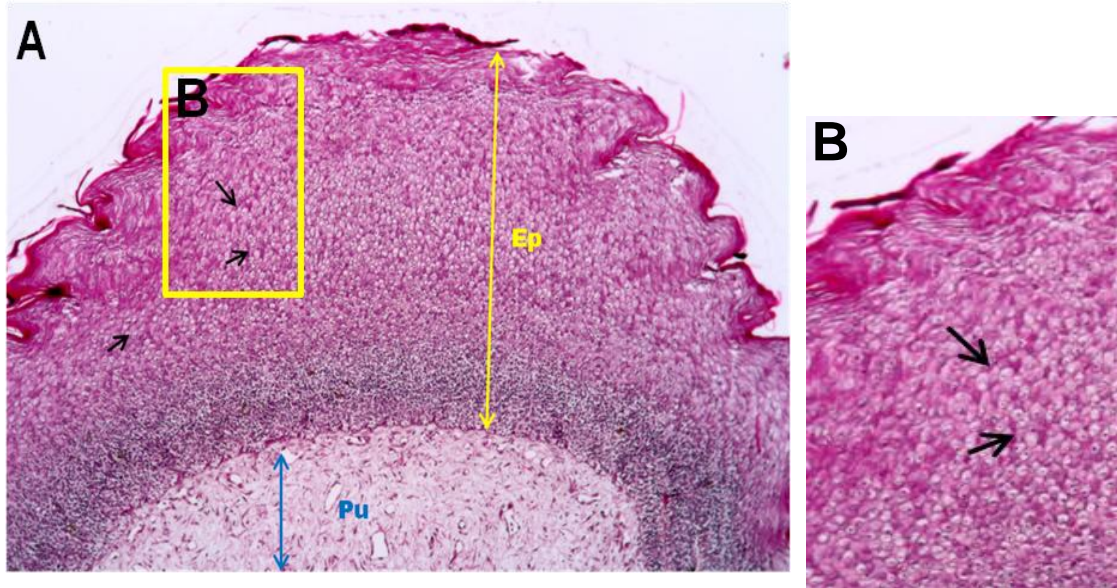
En la región de la papila dérmica: se observaron en todas las etapas de crecimiento desde el día 8 al día 23, células fusiformes, probablemente se trate de fibrocitos y fibroblastos (Fig. 8). A su vez la papila y pulpa estuvieron rodeadas por un epitelio simple escamoso, delimitando una cavidad en el cálamo.

También se observó la presencia de células redondas en los días 8 y 23, en esta última etapa, se observaron varias células adiposas infiltradas (Fig. 9)



**Figura 8. Cortes transversales del cálamo, días 18(A) y 23 (B) de crecimiento.**

**A:** día 18 de crecimiento, se aprecia mayor vascularización denotando una arteria central además de una mejor diferenciación del tejido. **B:** día 23 de crecimiento, de igual manera se aprecia la arteria central sin embargo los vasos periféricos (Vsp) disminuyen y se aprecia la formación de epitelio escamoso revistiendo la cavidad de aire. **Pp:** papila. **Vsc:** vaso sanguíneo central. **Vsp:** vasos sanguíneos periféricos (flecha roja). **Ep:** epitelio escamoso (flecha negra). El asterisco (\*) indica espacios de aire. Tinción Tricrómica de Gomori. 10x.



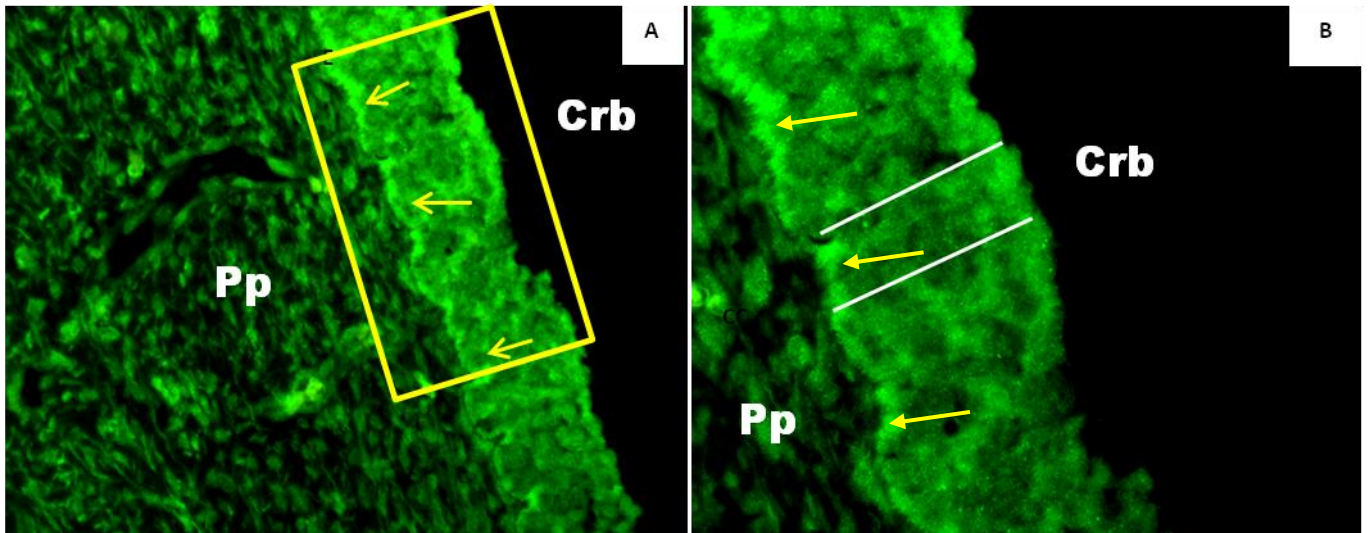
**Figura 9. Corte transversal del cálamo, día 23.**

- A. Presencia de células con mayor cantidad de vacuolas en el citoplasma, probablemente acumulación de ácidos grasos (flechas negras). **Pu**: pulpa (flecha azul). **Ep**: epitelio (flecha amarilla).
  - B. Inserto amplificado mostrando las células con acumulación de vacuolas (flecha negra).
- Tinción H-E. 10X.

### **Expresión de vimentina.**

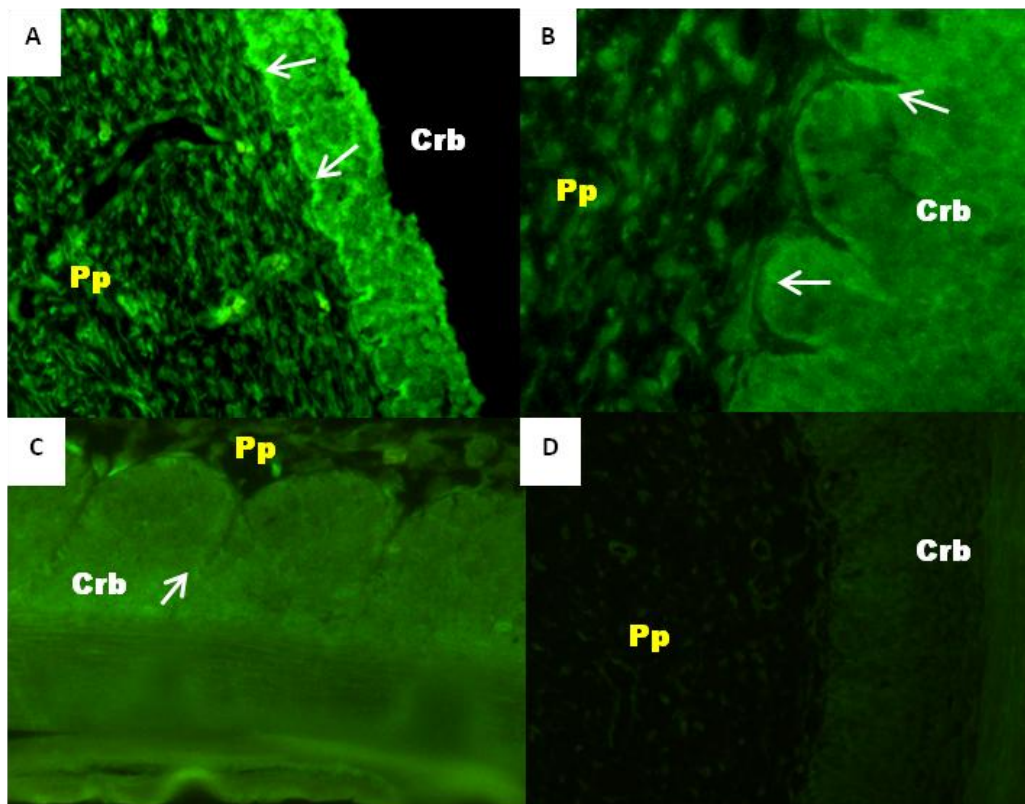
Mediante la técnica de IFI se realizó la identificación de vimentina en el citoplasma de las células mesenquimales, su distribución y los cambios morfológicos celulares; en la papila dérmica, la pulpa y el epitelio del cálamo durante el crecimiento de la pluma.

Se observó la presencia de vimentina, en el día 8 en la región proximal del cálamo en las crestas de las barbas no diferenciadas y en el estrato basal, (Fig. 10 A y B; Fig. 11 A), siendo la única región del epitelio positiva a este filamento disminuyendo hacia el día 13 (Fig. 11 B). En el día 18 es casi imperceptible (Fig.11 C) y al día 23 no se observó la presencia de dicho filamento (Fig. 11 D). Con relación a la papila dérmica sus células fueron positivas a vimentina en los mismos días 8 y 18, disminuyendo la presencia hacia el día 23 y 28 (Fig.10 y Fig.11)



**Figura 10. Identificación de filamentos de vimentina en el cálamo de plumas en crecimiento.**

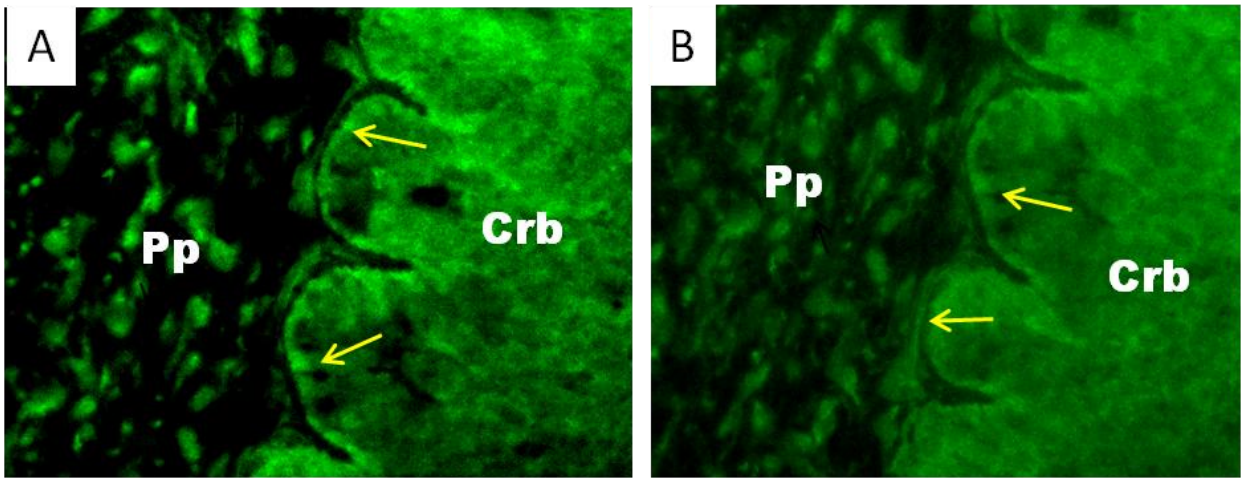
**A:** Día 8 de crecimiento. **A:** región proximal del cálamo en las crestas pequeñas, Filamentos de vimentina (flecha amarilla). **Crb:** Crestas de la región basal, **Pp;** papila. **B:** Inserto amplificado de las crestas de la región basal donde se aprecian filamentos de vimentina (flechas amarillas). Técnica IFI. 40X.



**Figura 11. Identificación de vimentina, corte de cálamo de plumas en crecimiento.**

**A)** Día 8 (10X); **B)** Día 13 (40X); **C)** Día 18 (40X); **D)** Día 23 (10X). **Pp:** papila. **Crb:** crestas de la barba. Flechas blancas: marca de vimentina Técnica de IFI.

En las crestas de la región basal de la papila dérmica se observaron los filamentos de vimentina en los días 8 y 13 de crecimiento (Fig. 12 A y B). A partir del día 13 se observa una disminución de la marca de vimentina en comparación al día 8 de crecimiento, mientras que en el día 18 la marca de vimentina en comparación al día 8 y 13 es casi imperceptible y en el día 23 ya no se aprecia marca de vimentina.



**Figura 12. Identificación de filamentos de vimentina en el cálamo de plumas en crecimiento.**

**A:** Día 8 de crecimiento, se observa con mayor intensidad la marca de los filamentos de vimentina. **Crb:** crestas de la región basal, **Pp:** papila. **B:** Día 13 de crecimiento, región proximal del cálamo en la crestas, se observa una disminución en la marca de los filamentos de vimentina (flecha amarilla) en comparación con el día 8. **Crb:** crestas de la región basal, **Pp:** papila. Técnica de IFI. (40X).

## IX. DISCUSIÓN.

En este trabajo se hizo el estudio de la región del cálamo de la pluma de paloma adulta realizando una disección macroscópica, histológica y llevando a cabo estudios de inmunofluorescencia para identificar la presencia de vimentina.

En la región proximal del cálamo se observaron masas celulares y crestas, entre estas crestas se localizaron células fusiformes, que podrían corresponder a las células oscuras reportadas por Alibardi (2010), quien observó células fusiformes en la región del raquis. En toda la longitud del cálamo se observaron crestas con estratos celulares bien definidos, encontrando en las crestas cercanas a la región proximal el inicio de cambios en la morfología celular, ya que en la placa marginal se observaron células escamosas con transición a células cuboides cuya morfología cambió a células columnares dando paso a la formación de células de forma fusiforme las cuales al liberarse del folículo dan origen a las barbas. Las células de la placa axial se mostraron alargadas de una forma no muy bien definida y de acuerdo con Maderson *et al.* (2009) estas células permiten la liberación de las bárbulas y las células de la barba de forma poliédrica ya que esta placa por producir en poca cantidad  $\beta$ -queratina y poca acumulación de lípidos; al madurar no forman tejidos cohesivos, como consecuencia se separan hasta finalmente desaparecer.

Con relación a la papila dérmica y a la pulpa no se encontraron diferencias con las características morfológicas celulares, ya que se observaron células fusiformes correspondientes a fibrocitos y fibroblastos, células redondas y en la última etapa de crecimiento se observaron células adiposas estas últimas de manera abundante en la muestra correspondiente al día 23. Sin embargo se encontró la presencia de un vaso sanguíneo central muy definido y de mayor tamaño así como varios periféricos de menor tamaño los cuales durante el desarrollo de la pluma se van perdiendo, al mismo tiempo que se observan grandes espacios de aire, a la par a nivel macroscópico se observa el cálamo una estructura hueca tal como lo menciona Mc Farland *et al.* (1979), que al finalizar el desarrollo de la pluma las estructuras que se encontraban dentro del cálamo van desapareciendo dejando un espacio hueco.

En el estudio realizado mediante la técnica de IFI para marcar los filamentos de vimentina, se observó la presencia de esta proteína en las células basales del epitelio, en el día 8 de crecimiento de la pluma, y después de ese día disminuyó su presencia para el día 13, desapareciendo a partir del día 18. Estas células tienen características parecidas a las células oscuras de la zona ramogénica. Según Alibardi (2009b), no se sabe cuál es el origen de estas células, se cree que son células de la papila dérmica que migran al epitelio o células epiteliales en degeneración.

En términos generales las estructuras histológicas coinciden con lo reportado por Martínez (2015).

A nivel de la pulpa y la papila las células expresaron vimentina en los días 8 y 13 coincidiendo con las células del epitelio, observando una fluorescencia más marcada en las células de la papila dérmica que las de la pulpa. Mediante estudios de inmunohistoquímica, Bavdeck (1997) reportó la presencia de vimentina en las células subepidérmica, con mayor intensidad de la marca en la papila dérmica y en los fibroblastos de la pulpa, que se ha observado que en el crecimiento de la pluma, por lo que es posible detectar la presencia de vimentina en la región subepidérmica, en la pulpa y/o papila. Los filamentos de vimentina pueden reflejar morfológicamente una estructura relacionada con ciertos estados funcionales de las células (Bavdek *et al.*, 1997). Esto nos permite sugerir que las células de la papila dérmica migran al epitelio y que en el epitelio cambian sus características morfológicas para dar origen a las crestas de las barbas. Estos hallazgos pueden coincidir con los estudios realizados por Alibardi (2010) con microscopía electrónica de transmisión, quien observó que las células de la papila dérmica emitían proyecciones al epitelio en donde se estaban formando las crestas de las barbas. Este mismo autor (Alibardi 2009a) menciona que la ramificación de la pluma está dada por la activación de la papila dérmica, por la interacción de las células epiteliales del collar y la zona ramogénica, dándose tres relaciones de los componentes celulares. Estas tres relaciones son epitelial-mesenquimal (collar ramogénico y germinal), la primera relación se considera que es por un estímulo en donde son liberadas moléculas por exocitosis en las prolongaciones de los



fibroblastos cerca de las células del collar, la segunda por contacto entre célula y célula a través de la membrana basal y la tercera es una relación mecánica, de anclaje de las fibras de colágeno a la lámina densa que revisten a las crestas de las barbas. Estas tres relaciones coinciden con lo estudiado por Bavdeck (1997) quien observó que la vimentina se detectó en la región subepidérmica, pudiendo indicar la relación de las células de la papila o pulpa con el epitelio, siendo especificado por Alibardi (2010) que las células de la papila emitían proyecciones hacia las crestas. En nuestro estudio se observó que la vimentina estaba presente en el estrato basal del epitelio, coincidiendo su presencia de este filamento intermedio (el día 8) con las células de la papila dérmica.

Las células de la papila se consideran de tipo mesenquimal y tienen la capacidad de diferenciarse en células epiteliales. Cuando se da una diferenciación de mesénquima a epitelio, se dan cambios en el citoesqueleto, por ejemplo, entre la adhesión célula a célula, en la polaridad ápico-basal y en la síntesis de la membrana basal. La presencia o ausencia de ciertos filamentos intermedios se considera como un marcador de diferenciación morfológica y funcional. La vimentina es considerada como un marcador de diferenciación celular mesenquimal, su expresión ha sido detectada en diferentes estados prenatales de ovarios en bovinos, pero al progresar la diferenciación de éstos, la vimentina puede ser reemplazada por otros filamentos intermedios tejido-específicos. También la vimentina ha sido reportada como una proteína esencial para la morfología testicular normal y para la espermatogénesis. En estudios de diferenciación de las gónadas en humanos (Martinovic 2017), se observó que la vimentina tuvo un rol importante en la formación adecuada del citoesqueleto de las células, para la migración eventual de éstas en la misma gónada. Esto se ha propuesto en las células germinales, las cuales usaron elementos del citoesqueleto como la vimentina, como una fuente importante para la formación de la citoarquitectura, necesaria para su migración, lo que fue respaldado por el hecho de que la vimentina tiene un contacto estrecho con el núcleo, proveyéndole soporte e integridad al mismo, presentando también importancia en la polaridad de las células. En el desarrollo tardío de las gónadas, la expresión disminuida de

vimentina en las células germinales coincidió con la presencia de apoptosis, por lo tanto también se involucra con las vías de señalización vinculadas a la supervivencia celular (Martinovic, 2017).

## **X. CONCLUSIONES.**

- La disección macroscópica del cálamo de la pluma mostró las diferentes partes que conforman a la pluma en los diferentes días de crecimiento (8,13, 18, 23 y 28), que incluyen: cálamo, veleta y raquis.
- A partir de los cortes y tinciones de Hematoxilina-Eosina (H-E) y Tricrómica de Gomori se realizó la evaluación y descripción morfológica celular del cálamo de las plumas remeras en crecimiento en palomas adultas, encontrando: células redondas, fibrocitos, fibroblastos, células, vasos sanguíneos en la región de la papila dérmica y en la pulpa; fibrocitos y fibroblastos.
- En el epitelio, se observaron células escamosas y cuboides en la placa marginal, en la placa barbular células cuboides y columnares y en la región del cuello del folículo se observaron células fusiformes en la placa barbular y en la región barbular células poliédricas. Se observaron gran cantidad de células en posible degeneración, presentando grandes vacuolas en el corte histológico del día 23 de crecimiento.
- Se llevó a cabo la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI) en cortes del cálamo de la pluma de los días 8 al 23 y se identificó la presencia de vimentina en las células del estrato basal del epitelio del cálamo de las plumas remeras en crecimiento encontrando mayor cantidad de marca de vimentina en el día 8 disminuyendo en los días 13 a 23 en comparación al día 8 de crecimiento. Coincidiendo con las células de la papila, positivas a vimentina en los mismos días.

## **XI. BIBLIOGRAFÍA.**

- Alberts B, Johnson A, Lewis J, Morgan D, Raff M, Roberts K and Walter P. (2015). *Molecular Biology of the Cell*. Garland Science. 6th Ed. New York, USA.
- Alibardi L. (2009a). Follicular patterns during feather morphogenesis in relation to the formation of asymmetric feathers, and bristles a Dipartimento di Biologic. 2009. de Italian Journal of Zoology Publication. Recuperado de URL: <http://www.tandfonline.com/loi/tizo2>.
- Alibardi L. (2009b). Cornification of the pulp epithelium and formation of pulp cups in down feathers and regenerating feathers. *Anat. Sci. Int.* 85: 269–279.
- Alibardi L. (2010). Ultrastructure of the feather follicle in relation to the formation of the rachis in pennaceous feathers. *Anat. Sci. Int.* 85: 79–91.
- Bacha W. y Wood L. (1991). *Atlas en Color de Histología Veterinaria*. Buenos Aires: Inter-Médica.
- Barbeito C. y González N. (2014). *Histología de las Aves*. Buenos Aires: Editorial de la Universidad de La Plata.
- Bragulla, H., and Hirschberg, R. (2003). Horse hooves and bird feathers: Two model systems for studying the structure and development of highly adapted integumentary accessory organs the role of the dermo epidermal interface for the micro-architecture of complex epidermal structures. *J Exp Zool B Mol Dev Evol.* 298 (1): 140-151.
- Bavdek S., Golob Z.G., Van Dijk J., Dorrestei G.M., and Fazarinc G. (1997). Vimentin and desmin-positive cells in the moulting budgerigar (*Melopsittacus undulatus*) skin. *Anat. Histol. Embryol.* 26: 176-178.
- Estrada F. y Uribe M. (2002). *Atlas de Histología de los Vertebrados*. México FES-Zaragoza UNAM.
- García T., Ortiz B., Reyes P. y Nieto B. (2016). *Anatomía de las Aves*. FES-Cuautitlán UNAM.
- Gasse H. (Chairman Editorial Committee). (2012) *Nomina Anatomica Veterinaria*. International Committee on Veterinary Gross Anatomical Nomenclature. 5th ed. (revised versión). Hannover, Germany.
- Gomori G. (1950). A rapid one-step trichrome stain. *Am. J. Clin. Pathol.* 20: 265.

- Jenni L. and Winkler R. 1994. Moulting and ageing of European passerines. Academic Press, Londres. Recuperado de URL: [https://issuu.com/angelc7/docs/moult\\_and\\_ageing\\_of\\_european\\_passer](https://issuu.com/angelc7/docs/moult_and_ageing_of_european_passer).
- Lin S.J., Wideliz R.B., Yue Z., Li A., Wu X., Jiang T.X., Wu P. and Chuong C.M. (2013). Feather regeneration as a model for organogenesis. *Develop. Growth Differ.* 5: 139–148.
- Lineo C. (1758). *Systema Nature per regna tria naturae, secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis* (in Latín). Volume 1 (10th ed.). Holmiae (Stockholm): Laurentii Salvii.
- Maderson P.F.A., Hillenius W.J., Hiller U. and Dove C.C. (2009). Toward a comprehensive model feather regeneration. *J. Morphol.* 270:1166-1208.
- Martínez C.M.R. (2015). Caracterización histológica del cálamo de las plumas remeras en crecimiento en palomas (Tesis de Maestría).UNAM.
- Martinovic V., Pusic T.V., Restovic I., Bocina I., Filipovic N., Saraga-Babic M. and Vukojevic K. (2017). Expression of epithelial and mesenchymal differentiation markers in the early human gonadal development. *Anat. Rec.* 300: 1315-1326.
- Masson S.A. (2004). *Tratado de Histología Veterinaria*. Facultad de Veterinaria, Universidad de Córdoba, España.
- Mc Farland W.N., Pough F., Cade T.J. and Heiser J.B. (1979). *Vertebrate life*. Mc. Millan, Publisher Company.
- Medellín R.A., Gómez De Silva H., Álvarez R.J.G., Oliveras A., y Equihua C. (2005). Vertebrados superiores exóticos en México: diversidad, distribución y efectos potenciales. Laboratorio de Ecología y Conservación de Vertebrados. Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México. Proyecto SNIB-CONABIO U020.
- Ohi R and Zanic M. (2016). Ahead of the curve: new insights into microtubule dynamics. Recuperado de URL: [www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26998244](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26998244).
- Pacheco M., Molist G. y Pombal D. M. (2008). *Atlas de Histología Vegetal y Animal* Depto. de Biología Funcional y Ciencias de la Salud Facultad de Biología Universidad de Vigo España.

- Pass D. (1995). Normal anatomy of the avian skin. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine*. En *Blackwell's Five-Minute Veterinary Consult: Avian* (160). Nueva Jersey. Wiley-Blackwell .
- .Prasain N. and Stevens T. (2009). The actin cytoskeleton in endothelial cell phenotypes. Published by Elsevier. *Microvascular. Research* 1, January 2009, 77: 53-63. Recuperado de URL:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0026286208001702>.
- Prum R.O. and Dyck J. (2003). A hierarchical model of plumage: Morphology, development, and evolution. *J. Exp. Dev. B. Mol. Dev. Evol.* 298 (1): 73-90.
- Seeger J., Stoffel M. and Simoens P. (2017). *Nomina Histologica Veterinaria*. International Committee on Histological Nomenclature. 1<sup>st</sup>. ed. Ghent, Belgium.
- .Shere A. and Chuong C. (1996). Sonic Hedgehog in feather morphogenesis: Induction of mesenchymal condensation and association with cell death. *Developmental Dynamics*. 207: 157-170.
- Steinert, P. M. (1991): Analysis of the mechanism of assembly of mouse keratin1/keratin 10 intermediate filaments: evidence for alternating rows of antiparallel in-register and antiparallel staggered molecules. *J. Struct. Biol.* 107: 175-178.
- Toro H. (2000). Palomas: historia, presencia en Chile y riesgos asociados. *TecnoVet*. Recuperado de URL:  
<https://revistas.uchile.cl/index.php/RT/article/view/5259>.
- .Widelitz, R. B., Jiang, T., Yu, M., Shen, T., Shen, J. Y., Wu, P., Yu Z. and Chuong C.M.. (2003). Molecular biology of feather morphogenesis: A testable model for evo-devo research. *J. Exp. Dev. B. Mol. Dev. Evol.* 298 (1): 109-122.