

*Morfología  
Sanguínea  
de los Batracios*

TESIS QUE PARA SU EXAMEN  
PROFESIONAL PRESENTA  
EL ALUMNO

**JORGE GONZALEZ RAMIREZ**

TESIS 50-1

ESC. NAC. DE MED.  
U. N. A. M.  
MEXICO 1950



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.

A MI PADRE,  
MI MAESTRO,  
MI AMIGO  
EL DR. IGNACIO GONZALEZ GUZMAN

A MI MADRE  
LA SRA. CONSUELO RAMIREZ  
CON TODO MI CARINO

## INTRODUCCION

En este breve trabajo resumo las experiencias que he realizado en el Instituto de Estudios Médicos y Biológicos de la Universidad Nacional de México.

Es mi propósito presentarlo en forma de notas esquemáticas para que su consulta sea fácil y su texto tenga la simplicidad y precisión que es de desearse cuando se describe un fenómeno biológico.

He hecho el estudio de la sangre de Anuros y Urode los con las técnicas que tenemos al alcance en el Instituto de Estudios Médicos y Biológicos con objeto de poner de relieve su utilidad general, sus ventajas parciales y los artificios de técnica que a mi manera de ver producen y que recalco en las conclusiones de esta tesis.

## - TÉCNICAS DE ESTUDIO -

1. Coloración de los frotis con azul de metileno y Giemsa a la manera de González Guzmán.
2. Coloración supravital con azul brillante de cresil según:
  - a. Poggi-Negri.
  - b. Pappenheim-Nakanishi-Cesaris Demel.
3. Coloración supravital con rojo neutro y verde janus E, a la manera de Cunningham y Topkins.
4. Observación de células vivas con microscópio de fase contraste.
5. Impregnación selectiva del aparato nucleolar con la doble impregnación argéntica de Río Hortega, según las variantes de González Guzmán.

## COLORACION PANOPTICA DE LOS FROTIS

### I. REACTIVOS

- a. Solución de azul de metileno rectificado:  
azul de metileno 0.30 g.  
alcohol metílico absoluto 100 c.c.
- b. Solución de Giemsa.
- c. Agua destilada neutra.

### II. TECNICA

- a. El frótis de sangre o de médula ósea o los imprompta de órganos se colocan sobre un ángulo de varilla de vidrio contenido en la mitad menor de una caja de Petri.
- b. Se vierten sobre él 30 gotas de la solución metílica de azul de metileno, se tapa con la mitad mayor y se deja realizar la fijación durante 5 minutos.
- c. Se vierten sobre la solución del colorante 30 gotas de agua destilada y se mezcla con suaves movimientos de vaivén. Se prolonga la coloración durante 5 minutos.
- d. Se tira la solución hidroalcohólica de azul de metileno y se lava en agua destilada.
- e. Se vuelve el frótis a la caja de Petri se vierte sobre él 2 c.c. de una dilución del colorante de Giemsa con una concentración de una gota de colorante por cada c.c. de agua destilada. Se prolonga la coloración de 12 a 20 minutos según el poder tintorial de la solución, vigilando al microscopio hasta obtener color violeta de mediana intensidad en los núcleos.
- f. Lavar en agua destilada y escurrir sin secar.
- g. Montar con resina sintética neutra, cubriendo con la minillas delgadas número 1.

### III. RESULTADOS

Núcleos violeta rojizo mate; protoplasmas azules de intensidad y tonalidad variables. Granulaciones azurófilas de los mieloblastos en violeta mate, de los linfocitos y monocitos en púrpura. Granulaciones neutrofilas en violeta, anfoxífilas en rosa al rojo, monoixífilas en rojo vinoso, basófilas en violeta oscuro y mate. Corpúsculos nucleolares en azul pálido. Glóbulos rojos en rosa naranja.

## COLORACION SUPRAVITAL

### I. REACTIVOS

- a. Solución de azul de metileno al 0.5 % en solución salina fisiológica de cloruro de sodio al 8.5 por mil
- b. Solución de azul brillante de cresil al 0.25 % en alcohol metílico absoluto.
- c. Cubre y portaobjetos rigurosamente desengrasados.

### II. TÉCNICA

#### - DE POGGI-NEGRI -

- a. Poner de 4 a 5 gotas de sangre tomadas por punción venosa o del lóbulo de la oreja en 10 c.c. de la solución de azul de metileno, mezclar y dejar actuar de 20 a 30 minutos.
- b. Centrifugar a 1000 revoluciones por minuto durante 6 minutos.
- c. Tirar bruscamente el líquido sobrenadante y sin escurrir dejar volver al fondo el líquido que moja las paredes, emulsionando con él el sedimento celular.
- d. Con pipeta Pasteur tomar una pequeña gotecilla de la emulsión, ponerla sobre un portaobjetos y depositar sobre ella un cubreobjetos cuadrado de 22 m.m. del número 1. Observar con objetivo de inmersión.
- e. Resultados: Cariolinfa azul pálido, cromatina incolora, nucléolos azul intenso; protoplasmas esponjosos en azul muy pálido; granulaciones neutrófilas, anfoxífilas y monoxífilas en azul de tonalidad variable; monobasófilas en violeta intenso y mate. En los hematíes o eritroblastos substancia alfa o filamentosa en azul, beta o granular en violeta; corpúsculos C en azul verdoso.

#### - DE PAPPENHEIM-NAKANISHI-CESARIS DEMEL -

- a. Sobre un portaobjetos depositar 30 gotas de la solución metilica de azul brillante de cresil y escurrir dejando evaporar sosteniendo el portaobjetos en posición inclinada sobre la boca del frasco en el que se recibe el colorante.
- b. Poner una pequeña gotecita de sangre en la parte central de un cubreobjetos cuadrado de 22 m.m. y del número 1, invertirla sobre el portaobjetos preparado con la película del colorante. Observar con objetivo de inmersión después de 10 minutos de coloración.  
Resultados: Sensiblemente los mismos que con el azul de metileno en la técnica de Poggi-Negri.

## COLOZACION SUPRAVITAL CON ROJO NEUTRO Y VERDE JANUS B.

### I. REACTIVOS

- a. Alcohol etílico absoluto.
- b. Solución saturada de rojo neutro en alcohol etílico absoluto.
- c. Solución saturada de verde janus B en alcohol etílico absoluto.

### II. TECNICA

- a. Preparación de los portaobjetos:  
Sobre un portaobjetos rigurosamente desengrasado, se vierten 30 gotas de la solución siguiente:  
Alcohol etílico absoluto 10 c.c.  
Sol. saturada de rojo neutro 20 a 30 gotas.  
Sol. saturada de verde janus B 30 gotas.  
Se escurre y deja evaporar.
- b. Sobre un cubreobjetos de 22 m.m. número 1, rigurosamente desengrasado, se pone una pequeña gotecita de sangre recientemente obtenida y se invierte sobre el portaobjetos preparado con la película del colorante.
- c. Observar con objetivo de inmersión inmediatamente después de hecha la preparación.

Para sangres ricas en glóbulos blancos como las leucémicas y para el jugo de punciones medular, esplénica o ganglionar hay que usar doble cantidad de las soluciones saturadas de rojo neutro y verde janus.

### III. RESULTADOS

Los protoplasmas son gris pálido apenas perceptible los núcleos gris más oscuro sin estructuras cromáticas, los nucléolos incoloros y refringentes sólo son perceptibles en las muy jóvenes. Los condriosomas se tiñen en verde y las vacuolas protoplásmicas en rosa al rojo. Los granos neutrófilos y anoxífilos en rosa salmón, los monoxífilos en anaranjado pálido y los monobasófilos en rojo ladrillo. En los glóbulos rojos la substancia filamentososa aparece de modo inconstante, la granular en rojo.

# MICROSCOPIA DE FASE CONTRASTE

## A. REACTIVOS

Ninguno.

## B. TECNICA

1. Sobre un portaobjetos cuidadosamente desengrasado se deposita una pequeña gotecilla de sangre y se aplica sobre ella un cubreobjeto de 22 m.m. y del número 1 procurando con el tamaño de la gotecita de sangre obtener una capa delgada.
2. Recibir sobre el espejo cóncavo del microscopio luz pasada por filtro verde, arreglando las distancias de modo de obtener efecto Köhler.
3. Centrar los diafragmas de la lámpara y del condensador del microscopio.
4. Usar para el estudio de la sangre doble inmersión, entre el condensador y el portaobjetos y entre el cubreobjeto y el objetivo de inmersión.
5. Orientarse en la preparación empleando primero campo claro. Después girar el revólver de rejillas del condensador, dejando en sitio la que corresponde al objetivo de inmersión.

No deben observarse halos luminosos en torno de las células; mucho menos exéntricas a ellas.

## C. RESULTADOS

En los protoplasmas incoloros o gris palidísimo se perciben los condriomas en negro o gris obscuro, las vacuolas en gris con o sin granos o corteza negra, los granos neutrófilos o anfófilos aparecen en negro, los monoxífilos en gris uniforme o con granos o cortezas negras, los monobasófilos en gris obscuro uniforme o con estructuras semejantes a los monoxífilos. En los núcleos la cariolina es gris pálido, las estructuras cromatínicas gris más obscuro y los núcleos muestran aparato nucleolar con tonalidades intermedias. En los hematíes la substancia filamentosa, no es perceptible, la granular aparece en gris.

# DOBLE IMPREGNACIÓN ARGÉNTICA ADAPTADA A LA COLORACIÓN SELECTIVA DE NUCLEÓLOS

## I. REACTIVOS

1. Nitrato de plata en solución acuosa al 2 %
2. Carbonato de plata amoniacal de Río Hortega, de concentración normal y de preferencia preparado el mismo día de su uso.
3. Piridina químicamente pura.
4. Solución concentrada de amoníaco.
5. Solución acuosa de formalina al 10 %
6. Gelatina en solución acuosa al 30 %
7. Alcohol etílico a 96 grados.
8. Creosota de haya.
9. Solución salina fisiológica.

## II. TECNICA

### A. Fijación e Inclusión.

1. Poner 1 c.c. de sangre venosa en 10 c.c. de solución de formalina al 10 % en solución salina fisiológica. Prolongar la fijación 12 a 24 horas.
2. Centrifugar 5 minutos a 1500 r.p.m. y retirar con pipeta Pasteur el líquido sobrenadante.
3. Agregar 10 c.c. de agua amoniacal al 2 %, mezclar y centrifugar 5 minutos a 1500 r.p.m. Separar el líquido sobrenadante como antes y reemplazarlo por agua destilada. Emulsionar nuevamente, centrifugar y retirar el agua con pipeta hasta dejar sobre el sedimento la menor cantidad posible.
4. Llevar el tubo con el sedimento al baño maría a 50 grados y agregar un volumen igual de la solución de gelatina tibia a 40 grados centígrados. Mezclar con agitador de vidrio y dejar la mezcla en el baño durante 10 minutos.
5. Con pipeta Pasteur tibia y de punta gruesa, aspirar la mezcla y depositar en un pequeño godete de porcelana. Dejar coagular y llevar a la refrigeradora durante dos horas.
6. Desprender el coágulo, limpiarlo y ponerlo en una solución acuosa de formalina al 10 %, en la que permanecerá 4 a 5 días.

### B. Coloración.

1. Cortar por congelación, obteniendo cortes de 10 a 15 micras de espesor.
2. Lavar los cortes en agua amoniacal al 2 % y después en agua destilada.

3. Impregnación en nitrato de plata al 2% durante 24 horas a la temperatura del laboratorio y a la luz.
4. Lavar en agua destilada con 0.5 % de piridina.
5. Impregnar en carbonato de plata amoniacal con 4 a 6 gotas de piridina por cada 10 c.c. de la solución argéntica. Prolongar la coloración durante 24 horas a la temperatura del laboratorio y a la luz.
6. Lavado muy rápido en agua destilada.
7. Alcohol etílico de 96 grados.
8. Creosota de haya.
9. Montar corte por corte en portaobjetos, escurrir en plano inclinado, quitar con un lienzo el exceso de creosota al rededor de la preparación y después la mayor cantidad posible colocando la preparación sobre un secante y presionando con otro el corte dos o tres veces.
10. Montar en bálsamo de Canadá o en resina sintética.

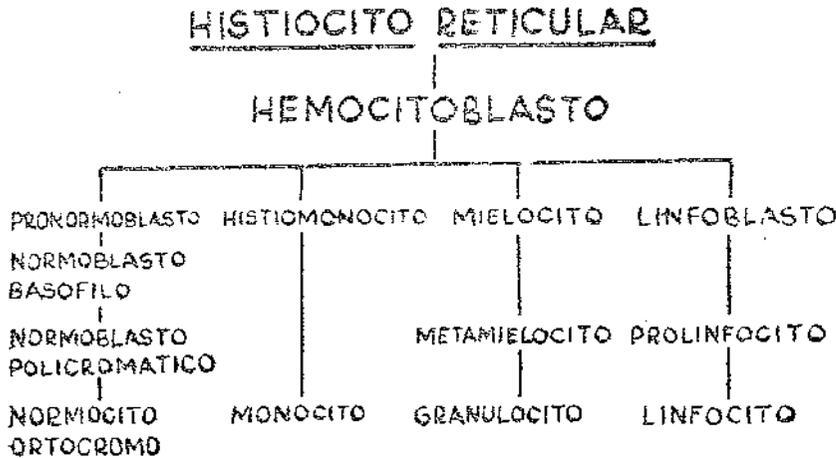
### III. RESULTADOS

Las buenas preparaciones tienen color ámbar al caramelo, no se ha teñido en ellas la gelatina y sólo ha tomado color amarillento o cepia claro. En los núcleos sólo se ha teñido la cariolinfa en cepia claro y el aparato nuclear, cuya substancia fundamental aparece en cepia sobre la que contrastan los granos argentófilos intensamente negros. El protoplasma de las diversas células es amarillento o cepia pálido. Los granos neutrófilos, anfófilos o eosinófilos se tiñen en tonos amarillentos y son perceptibles además por su gran refringencia.

# ALGUNOS DATOS HEMATOLOGICOS DE LA RANA

Todas las células sanguíneas derivan de un ancestro conjuntivo, retículo endotelial, presente en la médula ósea, en el bazo, en el mesonefros, en la submucosa de las vías digestivas etc. Esta célula histiocitaria da a otra parenquimal, el hemocitoblasto, la que a su vez origina las distintas estirpes sanguíneas de acuerdo con el esquema siguiente:

## ESQUEMA DE LA HEMOPOIESIS EN LA RANA — SEGUN GONZALEZ GUZMAN 1949 —



En este esquema no ha sido considerada la hemopoiesis embrionaria.

Los granulocitos eosinófilos derivarían de los mielocitos, metamielocitos y polimorfonucleares, con granos característicos de la especie.

Los granulocitos basófilos tendrían un origen semejante.

Los monocitos conservan siempre atributos histiocitarios.

# HISTIOCITOS INDIFERENCIADOS Y HEMOCITOBLASTOS

Se observan raramente en la sangre, se encuentran fácilmente en la médula ósea o en el bazo, sobre todo en procesos inmunitarios experimentales. Presentan los atributos siguientes:

I. En los frotis de médula ósea o en los impronta de bazo teñidos con azul de metileno-Giemsa

## A. HISTIOCITOS

1. Son células voluminosas de 20 a 26 micras, de forma un poco irregular y a veces todavía con aspecto sincitial.
2. El núcleo es grande, de 11 a 17 micras, redondeado, elipsoidal u ovoideo, a veces más o menos escotado. La estructura cromatínica es fina en las formas más jóvenes y se engrosa un poco en las etapas inmediatamente anteriores al hemocitoblasto. La cariolinfa es violeta muy pálido y la membrana nuclear muy aparente.
3. Los nucléolos son frecuentemente visibles, en número de dos o tres, de color azul pálido y con formas irregularmente redondeadas, elipsoidales u ovoideas. No hay condensación cromatínica perinucleolar.
4. El protoplasma es moderadamente basófilo, de estructura finamente esponjosa y presenta la imagen negativa del condrioma y frecuentemente formaciones vacuolares de tamaño variable. No muestra corpúsculos granulares.

## B. HEMOCITOBLASTOS

1. Su tamaño es ligeramente inferior, se encuentran siempre aislados.
2. El núcleo es igual al de los histiocitos, pero a veces el retículo cromatínico es más grueso.
3. El aparato nucleolar presenta atributos semejantes.
4. El protoplasma es mucho más escaso, más basófilo, con estructura esponjosa más evidente, condrioma menos perceptible y vacuolas mucho menos frecuentes.

## II. En las coloraciones vitales.

### A. HISTIOCITOS

- a. En los renacuajos sin esbozos podálicos
  1. Con azul de metileno es posible observar dos o tres nucléolos.
  2. Con verde janus la separación entre exo y endoplasma es neta, éste contiene vacuolitas de tamaño variable, de color rosa y a veces con un punto oscuro en su periferia. En el exoplasma más fluido que el precedente hay mitocondrias y condriocentos de color verde con tendencia a agruparse en la bahía nuclear. En la vecindad de la membrana celular a veces se ven algunos granos rosa.
  3. Los pseudópodos se forman a expensas del exoplasma y son anhistos.
- b. En los animales con esbozos de las patas posteriores, las estructuras son equivalentes a las mencionadas.
- c. En el animal adulto
  1. Tienen dimensiones variables: 10 a 26 micras.
  2. El núcleo por lo general es escotado, sus dimensiones varían concomitantemente a las de la célula. Cuando la coloración no se ha pasado es anhisto.
  3. Se pueden observar dos o tres nucléolos en las células jóvenes.
  4. En el protoplasma se pueden observar: condrioma, centro celular, vacuolitas y diversos gránulos.
    - a. El condrioma está constituido por mitocondrias y condriocentos de tamaños variables que con el rojo neutro-verde janus toman tinte verde. Tienen tendencia a acumularse en la bahía nuclear.
    - b. El centro celular se encuentra en la bahía nuclear es incoloro pero refringente.
  5. Las vacuolas son de tamaño y tonalidad variables según el tiempo de exposición de la célula al colorante; varían desde la apariencia incolora al rojo intenso (rojo neutro verde janus) en toda la gama tonal que existe entre estos extremos. A veces se acumulan en la bahía nuclear pero son de preferencia periféricas, es casi constante en ellas el hallazgo de un grano cortical oscuro.
  6. Existen numerosas granulaciones de tinte y tamaño variables: incoloras y refringentes o teñidas intensamente en rojo, azul o violeta según sea el colorante usado.

## B. HEMOCITOBLASTOS

1. Con azul de metileno el núcleo presenta estructura alveolar.
2. Los nucléolos son frecuentes y muestran una formación vacuolar interna.
3. El protoplasma alberga granulaciones en diplococo o bastones violeta?, además a veces hay retículo probablemente por precipitación del ácido ribosa nucleico.

## III. Con fase contraste

### A. HISTIOCITOS

1. Son células grandes que presentan frecuentemente formación de pseudópodos.
2. El núcleo es grande, generalmente excéntrico y de contorno cambiante, fácilmente deformado durante la movilización celular. Su cromatina tiene aspecto variable: desde el retículo fino en las células jóvenes, a la trabécula gruesa de mallas amplias en el monocito adulto.
3. Los nucléolos son perceptibles en las células jóvenes bajo forma de corpúsculos redondeados gris pálido y de tamaño mediano.
4. El protoplasma es abundante y presenta cuatro tipos de formaciones citoplásmicas:
  - a. Condrioma.-Está formado por mitocondrias y condriocitos más o menos largos y flexuosos de color gris. Ambos elementos tienen predilección por la bahía nuclear donde se les ve en mayor número. Son frecuentemente arrastrados por las corrientes citoplásmicas.
  - b. Granos negros y pequeñas vacuolas brillantes o gris pálido con grano cortical negro único o doble. Los granos negros suelen ser muy numerosos en algunos histiocitos.
  - c. Microsomas.-Granos muy finos de color gris muy pálido muy abundantes sobre todo cerca del núcleo y particularmente visibles en las porciones protoplásmicas más fluidas o en movimiento. Presentan dos tipos de movimiento: Browniano y el de translación que les imprimen las corrientes protoplásmicas.
  - d. Inclusiones fagocitadas diversas.
5. En observaciones combinadas de fase contraste y coloración vital se pueden observar además vacuolas grandes que almacenan rojo neutro. Como estas estructuras

no se observan usando el microscopio de fase única mente, creo como probable que se trate de artificios provocados por la presencia del colorante.

## B. HEMOCITOBLASTOS

1. El núcleo es redondo o elipsoide y muestra estructura cromatínica en red grisácea floja y fina.
2. El protoplasma medianamente abundante presenta mitocondrias y condriocitos de dimensiones variables y pequeñas vacuolitas con punto negro cortical. El citoplasma cuando es fluido permite movimientos Brownianos de los múltiples y pequeñísimos corpúsculos que contiene, no así cuando está gelificado.

## IV. Con técnicas nucleolares.-

### A. HISTIOCITOS

- a. Sincitiales en reposo
  1. Presentan uno o dos corpúsculos nucleolares, relativamente pequeños y con estructuras internas sencillas.
- b. Movilizados
  1. La movilización produce en el aparato nucleolar los cambios siguientes: aumento discreto del número de nucléolos; aumento de la masa global de los corpúsculos y estructuras internas más complejas como mayor número de granos argentófilos o cortezas negras de espesor variable.

### B. HEMOCITOBLASTOS

- i. Presentan atributos semejantes a los histiocitos movilizados.

# SERIE ROJA

- I. Aspectos con los colorantes panópticos  
Las diversas etapas evolutivas presentan los atributos siguientes:

## A. PRONORMOBLASTOS

1. Son células grandes de 14 a 17 micras.
2. El núcleo es muy voluminoso, muestra cariolinfa teñida en violeta pálido y cromatina condensada en escasos grumos relativamente grandes, de contornos diversos, unidos entre sí por trabéculas más estrechas.
3. Los nucléolos no son perceptibles.
4. El protoplasma es relativamente escaso, intensamente basófilo, en porciones presenta estructura difásica, en otras es uniformemente denso. A veces hay vacuolas incoloras o de tinte rosa-violeta muy pálido.

## B. NORMOBLASTOS BASOFILOS

1. Son más pequeños, redondeados o elipsoidales.
2. El núcleo de la misma forma muestra membrana nuclear bien aparente, la cariolinfa tiende a condensarse mostrando grumos más gruesos y numerosos.
3. Los nucléolos no son perceptibles.
4. El protoplasma sigue siendo muy basófilo, escaso y con estructura vagamente esponjosa. Las formas más evolucionadas muestran disminución de la basofilia protoplásmica, mayor condensación de cromatina y cariolinfa menos teñida.

## C. NORMOBLASTOS POLICROMATICOS

1. Son células ligeramente más pequeñas que los normoblastos basófilos.
2. El núcleo presenta estructura semejante.
3. El protoplasma ofrece dos aspectos: violeta de tonalidad variable con estructura uniforme o fase de dispersión de tonalidad violeta y formaciones nebulosas de color azul.

## D. NORMOBLASTOS ORTOCROMOS

Pueden distinguirse dos estadios:

a. Inmaduros:

1. Son formas del tamaño de los policromáticos o un poco mayores.
2. El núcleo es redondo o elipsoidal con poca diferencia de ejes, con cariolinfa teñida en violeta pálido

y cromatina más densa que la de las formas policromáticas.

3. El protoplasma es rojo amarillento con predominancia del primer tinte y de estructura uniforme.

#### b. Maduros:

1. Son células más voluminosas que las anteriores.

2. El núcleo es siempre elipsoidal con mayor diferencia de ejes. La cariolinfa disminuye y es de color violeta pálido, la cromatina se condensa en gruesos grumos más cromófilos.

3. El protoplasma es rojo amarillento con preponderancia del segundo tinte y sin estructura aparente.

### II. En coloración supravital

#### A. En los renacuajos sin esbozos podálicos:

1. Las formas jóvenes son redondeadas y a medida que su edad aumenta muestran tendencia a la forma elipsoidal.

2. El núcleo es redondeado y sin estructura aparente.

3. Con azul de metileno se pueden observar nucléolos tanto más numerosos y aparentes cuanto que la juventud celular es mayor.

4. Con rojo neutro-verde janus el protoplasma muestra de cuatro a ocho condriocontos largos y flexuosos que se disponen cerca del núcleo; en las células muy jóvenes los condriocontos son más numerosos y se agrupan en la zona más amplia del citoplasma; hay algunos granos rosa. Con azul de metileno todas estas células presentan substancia alfa medianamente abundante en forma de filamentos cortos pero con tendencia a formar pequeños conjuntos. No se ven granos o formaciones beta de Cesaris Bemel.

#### B. En los renacuajos con esbozos podálicos:

1. Las células muy jóvenes son raras y presentan atributos semejantes a los ya descritos. En las formas más evolucionadas sólo ocasionalmente se encuentra substancia alfa y uno que otro granito violeta.

#### C. En los anirales adultos:

La substancia filamentosa es inconstante, con mayor frecuencia se encuentran granos metacromáticos. A veces se observan escasos granos rojos.

### III . Con fase contraste

Las estructuras nucleares y citoplásmicas son diferentes según progresa la maduración:

- a. En los glóbulos jóvenes
  1. El núcleo muestra retículo cromatínico gris oscuro que coincide con el observado en las preparaciones teñidas con panópticos.
  2. Aún en las células muy jóvenes no se perciben nucléolos.
  3. En el protoplasma se ven condriocitos de diversos tamaños y espesor, así como mitocondrias particularmente abundantes en el área perinuclear.  
El protoplasma a veces es viscoso y casi no permite movimientos de las estructuras que contiene.
- b. En los glóbulos maduros:
  1. Las células son elipsoides.
  2. El núcleo es gris, con estructura vagamente grumosa como en las preparaciones panópticas.
  3. El protoplasma tiene en algunos casos uno o dos gránulos grises o negros que después de 15 a 30 minutos de hecha la preparación muestran movimientos Brownianos, lo que indica que el citoplasma inicialmente es un gel que va perdiendo consistencia a medida que la observación se prolonga.

### IV . Con técnicas nucleolares:

- a. Las células jóvenes:
  1. El núcleo presenta cariolinfa en cepia pálido y retículo cromatínico laxo con puntos nodales gruesos, aspecto muy semejante al encontrado con panópticos pero mucho más nítido como si se coloreara únicamente la parte axial del retículo.
  2. Los nucléolos en las células muy jóvenes están representados por uno o dos gránulos negros de media a una micra y a medida que la célula madura éstos se pequeñecen y son acompañados por gránulos pulverulentos también negros (restos nucleolares) de manera que en conjunto presentan escasas variaciones volumétricas.
  3. El protoplasma está claramente separado del núcleo y toma tintes en cepia tanto más oscuros cuanto que la juventud celular es mayor.

b. Las células adultas:

1. El núcleo presenta dos aspectos:
  - a. Si la coloración ha sido perfecta, la cromatina no se tiñe y sólo la cariolinfa toma tinte cepia.
  - e. Si la coloración no es óptima presenta la ventaja de observar retículo cromatínico mucho más nítido que el observado con los panópticos. La cariolinfa es cepia más claro.
2. El aparato nuclear está representado por uno o dos granos negros o bien por múltiples cuerpecillos pulverulentos también teñidos en negro y a veces acompañados por migajas coloridas en cepia.
3. El protoplasma toma tinte amarillento.

# SERIE LEUCOCITARIA

## I. En coloraciones panópticas

### A. SERIE GRANULOCITICA

#### a. Mielocitos y metamielocitos

1. Son células que raramente se observan en sangre periférica. Se les encuentra con facilidad en la médula ósea.
2. Son de tamaño semejante al de los hemocitoblastos. Su núcleo tiene retículo cromatínico más grueso, especialmente en los metamielocitos cuyo núcleo empieza a tomar forma cilíndroide. No se observa aparato nucleolar.
3. El protoplasma es medianamente basófilo y no muy abundante, sin imagen negativa del condrioma. Las granulaciones no se tiñen ó lo hacen en rosa apenas perceptible y aparecen generalmente como imagen negativa.

En condiciones favorables de observación son redondeados, elipsoidales, ovoides ó en diplococo y más raras veces forman series de granulaciones ó toman aspecto de pequeños bastones.

#### b. Granulocitos

##### 1. Polimorfonucleares

- a. Son células voluminosas de 14 a 16 micras, con protoplasma relativamente abundante.
- a. El núcleo es generalmente alargado de espesor diverso en sus diversas porciones y flexionado en formas caprichosas. La estructura cromatínica está hecha a base de grumos ó migajas colocadas en los nudos de un retículo más fino. La cariolinfa es violeta pálido y no se perciben nucléolos.
- v. El protoplasma es ligeramente basófilo a veces con zonas más azules que se esfuman en el resto. Las granulaciones y su aspecto son iguales a las observadas en los metamielocitos.

##### 2. Eosinófilos

- a. Tienen alrededor de 14 micras.
- a. El núcleo de 10 por 9 con forma irregular, grumos cromatínicos gruesos en el seno de un retículo fino. No se ven nucléolos.
- v. El protoplasma es medianamente basófilo, presenta una zona yuxtannuclear sin granos alfa y con la imagen negativa de algunos condriosomas, el resto está ocupado por los granos eosinófilos de tamaño y forma variables.

### 3. Basófilos

- α. El núcleo presenta fenómenos líticos acentuados y es estructura casi imperceptible.
  - β. Los granos basófilos toman tinte violeta mate, son redondos ó elipsoides y con diferencias de tamaño no muy ostensibles. El protoplasma es incoloro ó violeta pálido.
- ### 4. Trombocitos.
- α. Son células elipsoides, tienen 12 por 10 micras.
  - β. El núcleo de 13 por 6 muestra cariolinfa muy cromófila y cromatina en grumos gruesos de contorno esfumado.
  - γ. El protoplasma es medianamente basófilo, no muestra imagen del condrioma. No tiene granulaciones. Presenta de una a tres vacuolas sobre todo polares.

## 8. SERIE LINFOCITICA

### a. Linfocitos

- 1. Son redondeados, su tamaño va de las 12 a las 18 micras.
  - 2. El núcleo generalmente elipsoide a veces presenta una profunda y estrecha escotadura. La cromatina se presenta en grumos gruesos, la cariolinfa es violeta pálido.
  - 3. No se percibe aparato nucleolar.
  - 4. El protoplasma es débilmente basófilo y más abundante en las células más evolucionadas, en las cuales a menudo son perceptibles granulaciones azurófilas con tonalidad semejante a las humanas. No se observa imagen negativa del condrioma.
- ### b. Las células más jóvenes ¿linfoblastos? tienen protoplasma más basófilo y núcleo de estructura más fina, pero no se ven formaciones nucleolares.

## II. Coloración supravital

### A. SERIE GRANULOCITICA

#### a. Polimorfonucleares

1. El núcleo en las coloraciones "no pasadas" no muestra estructura aparente.
2. Estas células presentan granulaciones cromóforas refringentes ó bien ligeramente cromófilas. Con rojo neutro verde janus, las granulaciones toman tinte rosa pálido; con azul de metileno se coloran en violeta metacromático muy tenue; parece haber condensación del colorante en la superficie de los gránulos. A veces se observan finos condriocentos y microsomas.

#### b. Eosinófilos

1. Con rojo neutro verde janus presentan granos cristalinos de color salmón y condriosomas verdes. Raramente se ven en el exoplasma vacuolas de tamaño variable hasta de una micra e intensamente teñidas en rojo.
2. Con azul de metileno se ven áreas claras, libres de gránulos, constituidas por protoplasma fluido, con numerosos microsomas de tamaño uniforme y agitados por movimiento Browniano. A veces es posible apreciar algunos finísimos condriocentos.

#### c. Basófilos

1. Con rojo neutro verde janus tiñen sus gránulos en rojo ladrillo obscuro. Con azul brillante de cresil se ven granos azul violeta metacromáticos.

#### d. Trombocitos

1. Con rojo neutro verde janus es posible observar en el protoplasma escasos granitos y uno que otro bastoncito verdes, así como inconstantemente granitos rojos.
2. Poco tiempo después de hecha la coloración, la célula se redondea e inmoviliza, probablemente por la acción tóxica del colorante.

## B. SERIE LINFOCITICA

### a. Los linfoblastos

1. Son células de 14 a 16 micras.
2. No se aprecia estructura nuclear.
3. El halo protoplásmico tiene de una a dos y media micras, en su parte más amplia hay numerosos condriocitos y mitocondrias. Con rojo neutro verde janus no se ven granos rojos. Con azul de metileno el protoplasma muestra vagamente inclusiones azul muy pálido que pudieran corresponder al condrioma.

### b. Linfocitos

1. En el animal adulto miden de siete a ocho micras.
2. No se observan estructura nuclear ni nucléolos.
3. El protoplasma es un halo muy estrecho en el cual se ven 10 ó 12 corpúsculos mitocondriales de los que dos ó tres son condriocitos. El condrioma es tanto más abundante cuanto que la célula es más joven. No se observan granos rojos.

## III. Fase contraste

## A. SERIE GRANULOCITICA

### a. Polimorfonucleares

1. Los núcleos muestran la misma estructura interna señalada para los monocitos, en las células jóvenes el núcleo es redondeado ó apenas escotado, pero en los adultos es estirado y pocas veces segmentado.
2. El protoplasma en las células en actividad motriz muestra dos zonas: un hialoplasma periférico y un endoplasma viscoso con diversos gránulos. Cuando la célula entra en reposo, el exoplasma se incorpora al resto del citoplasma ó bien es invadido por los gránulos.

Las granulaciones a diferencia de lo que ocurre con otras técnicas, son perfectamente visibles, tienen forma variable desde la redondeada hasta la elipsoide y aún de finos bastones; son de color gris obscuro. No se percibe condrioma por lo que se supone que el origen de las granulaciones sean los condriosomas. Los granos negros ó las vacuolas con corteza negra,

son excepcionales y sólo aparecen después de observaciones prolongadas.

#### b. Eosinófilos

Su aspecto es distinto según su juventud

##### α. En los eosinófilos jóvenes:

1. El núcleo es redondo ó escotado y con estructura semejante a la de los polinucleares.
2. Contienen de 8 a 10 granos eosinófilos grandes, redondos, sensiblemente del mismo tamaño, casi negros y sin estructura interna; además presentan numerosos corpúsculos grises en todo semejantes a los de los polimorfonucleares.

##### β. En los más evolucionados:

1. El núcleo es lobulado.
2. Los granos eosinófilos son grandes y refringentes, formados por una substancia gris pálido en cuyo interior se ven uno ó dos granos negros agitados por movimiento Browniano ó sujetos a desplazamientos menos vivos, como si el contenido del grano fuera un tanto viscoso; a veces en lugar de granos hay cortezas dictiosómicas. No se perciben otros corpúsculos.
3. Queda la impresión de que los granos eosinófilos derivan de los de los polinucleares, que recién formados son muy oscuros y sin estructura aparente, que con el tiempo se fluidifican y que una parte de sus materiales constituyentes se condensa en forma de granulitos ó cortezas.

##### c. Trombocitos

1. En sangre tomada del bazo, tienen protoplasma viscoso con granos negros y bastones cortos y finos. En la sangre circulante se les ven granos grises muy móviles y una ó dos vacuolitas.

## B. SERIE LINFOCITICA

a. En las formas jóvenes el condrioma es abundante y formado sobre todo por condriocentos.

##### b. En las formas adultas:

1. El núcleo presenta estructura reticular muy tosca en gris obscuro.
2. En el protoplasma se advierten fácilmente condriosomas: condriocentos y mitocondrias completamente semejantes a los vistos con coloración vital. A veces se ven pequeñísimas vacuolitas con un grano negro cortical.

#### IV. Técnicas nucleolares

##### A. CELULAS CEPAS

Cuando se produce la movilización de los histiocitos sincitiales, a sus expensas se forman gruesos elementos celulares libres y redondeados, no se dispone de medios fieles para averiguar si esa célula va a orientarse en el sentido granulocitario ó si va a formar células linfáticas ó histiocitarias diversas. Por tal motivo se describen sólo como células cepas.

1. Son elementos voluminosos de 15 a 25 micras.
2. El núcleo es grande, vesiculoso, con cariolinfa teñida en cepia claro.
3. El aparato nucleolar está constituido por uno a tres corpúsculos más grandes que los de los histiocitos en reposo. La masa total y la riqueza nucleolar es también más grande que la de los histiocitos en reposo. Sus estructuras internas muestran granos más numerosos ó bien cortezas intensamente negras que pueden ser completas, incompletas ó parciales, asociadas a la presencia de algunos gránulos.
4. El protoplasma es de mediana abundancia, más cromófilo que el de los histiocitos sincitiales, muestra a veces estructura finamente esponjosa y ocasionalmente granos negros ó pequeñas vacuolas incoloras.

##### B. SERIE LINFATICA

###### a. Linfoblastos

1. Son más pequeños que las células cepas, con protoplasma menos abundante y un poco más cromófilo.
2. El núcleo irregularmente redondeado, presenta a veces una escotadura profunda; tiene membrana limitante evidente y cariolinfa cepia claro.
3. El aparato nucleolar está constituido por uno ó dos gruesos nucléolos de forma generalmente irregular, a veces con prolongamientos espinosos. La substancia fundamental es cepia obscuro y la argentófila se encuentra repartida en numerosas granulaciones finas y en pocos casos en forma de cortezas completas ó in-

completas, asociadas a formaciones granulares.

**b. Linfocitos**

1. Con células más pequeñas todavía.
2. El protoplasma es escaso y con frecuencia sólo rodea parte del núcleo; medianamente cromófilo y sin estructura apreciable.
3. El núcleo claramente elipsoide ó irregularmente ovoidal tiene cariolinfa obscura y uno ó dos nucléolos de tamaño y forma variables. La riqueza nucleolar es inferior a la linfoblástica y las estructuras internas semejantes, aunque menos complejas.

# DATOS HEMATOLOGICOS DEL AJOLOTE

## HISTIOCITOS Y CELULAS CEPAS

### I. Panópticos

#### A. HISTIOCITOS

1. Núcleo generalmente compuesto por dos masas unidas ó no por puentes cromatinicos. Estructura a base de motas cromatinicas gruesas, de contorno sahumado, e intensamente teñidas.
2. No se ven nucléolos.
3. El protoplasma es rosa liláceo ó azul muy pálido con restos de retículo laxo coloreados en azul un poco más intenso, pero sólo observables en algunos territorios citoplásmicos. No hay granulaciones ó vacuolas y sólo en algunos, inclusiones grandes teñidas en azul.

### II. Coloración vital

#### A. HISTIOCITOS

##### a. Rojo neutro-verde janus

1. Son células voluminosas, animadas por movimientos pseudopódicos frecuentes.
2. El núcleo es redondeado y exéntrico ó polimorfo.
3. A veces es posible percibir un nucléolo voluminoso.
4. En el citoplasma se forman pseudópodos lamíneos que contienen microsomas incoloros ó ligerísimamente rosas agitados por movimiento Browniano; presente además granos verdes y rojos y vacuolas de color la drillo. Si se vé la preparación inmediatamente después de hecha se observan vacuolas incoloras y ó tras de color salmón pálido.

##### b. Con azul brillante de cresil

1. Se ven vacuolas violeta intenso; se tiñen en violeta pálido microsomas y granos mitocondriales.

## II. Fase Contraste

### A. HISTIOCITOS

1. Son células grandes con movimientos pseudopódicos complejos.
2. El núcleo voluminoso, muestra gibas ó escotaduras, su estructura interna es un retículo semejante al de los polimorfonucleares.
3. No se aprecian nucleólos.
4. El citoplasma contiene mitocondrias y condriocentos no se ven vacuolas; sin embargo con el tiempo tales formaciones aparecen. Los pseudópodos son de distintos tipos: laminosos, festoneados, filiformes, membranosos etc.

En algunos histiocitos se vé en uno de los polos nucleares un pseudópodo laminoso muy ténue, festoneado ó con apéndices filiformes que contienen condriocentos y mitocondrias; en el polo opuesto hay pseudópodos gemantes que se continúan con prolongaciones laminosas.

Algunas veces los pseudópodos membranosos tienen aspectos mielínicos ó de hojas espinosas de cardos. Otros presentan prolongamientos filiformes muy extensos con engrosamientos oscuros de trecho en trecho; por otras partes del citoplasma se forman pseudópodos con aspecto de yemas; cuando los pseudópodos se retraen, se separan del resto de la célula a la que quedan unidos por un ténue filamento que se rompe a continuación quedando como masas de protoplasma cuya porción central está gelificada y la periférica fluida.

### B. CELULAS CEPAS

1. Son voluminosas.
2. Su núcleo en corazón tiene retículo fino.
3. Se percibe un grueso nucleólo.
4. Citoplasma en anillo medianamente grueso, con mitocondrias y condriocentos así como tres ó cuatro vacuolitas.

Hay tendencia a la aglutinación del condrioma.

## SERIE ROJA

### I. Panópticos

#### HEMATIES

1. Son elipsoidales de 28 por 20 micras.
2. Los núcleos de 9 por 13 micras; retículo cromatínico grueso.
3. En el citoplasma se ven corpúsculos redondeados ó granulares, únicos ó múltiples que corresponden a los de substancia beta que se ven en coloración vital, con los panópticos toman tinte que vá del azul al violeta. Se percibe una substancia que aglutina estos gránulos y que se tinte ortocromáticamente en azul muy pálido.

En algunos glóbulos se ven gruesas masas de color azul.

En la génesis de los granos beta, se puede pensar que las masas azules sufren procesos de condensación separándose una substancia granular que se tinte del azul al violeta y deja el residuo pálido mente azul.

### II. Coloración vital

#### HEMATIES

##### a. Rojo neutro-verde janus

1. De frente son elipsoidales, de perfil fusiformes.
2. En el protoplasma de las células jóvenes se ven mitocondrias y condriocentos verdes semejantes a los vistos con fase contraste. En los adultos a veces se ven granitos verdes, pero pasado algún tiempo, en la mayoría de los hematies hay migañitas verdes difusas, son restos del aparato mitocondrial; estos residuos se ven mejor que con fase.

Se observa en el citoplasma, un grueso corpúsculo teñido en rojo, a veces hay hasta cinco de menor tamaño, como si hubiera un volumen constante de esta substancia que parece corresponder a la beta.

##### b. Con azul brillante de cresil

1. Los granos mencionados con el rojo neutro son de

substancia beta.

En algunos glóbulos rojos, los granos metacromáticos están en serie, unidos entre sí por un cordón ó filamento de espesor y contorno irregulares, pálidamente teñido en violeta ó incoloro.

En algunos eritrocitos hay un grueso corpúsculo metacromático con un polo más pálido, dando la impresión de que en su seno se condensa la substancia beta en forma de granos y queda una substancia aglutinante cromófoba ó ligeramente violeta.

#### C. Conclusiones

Como catabolito del ácido ribosa nucleico que se transforma en hemoglobina, probablemente queda la ribosa, unida a radicales protéicos los cuales se combinan con un radical sulfúrico, formando así una mucoproteína metacromática que vendría a ser la substancia beta de Cesaris Benel

#### III. Fase contraste

## HEMATIES

1. El núcleo muestra retículo cromatínico medianamente grueso.
2. No se observan nucléolos.
3. En el citoplasma hay mitocondrias y sobre todo condríocitos largos acompañados por bastoncitos más pequeños que se mueven libremente en el seno del protoplasma.

# SERIE BLANCA

## I. Panópticos

### A. SERIE GRANULOSA

#### a. Polimorfonucleares

1. Son células grandes de unas 30 micras.
2. Su núcleo es más bien una larga banda con abultamientos de trecho en trecho, a veces es anular, doblado en ocho. La estructura cromática a base de motas más pequeñas que las de los linfocitos.
3. El citoplasma es lila pálido con restos de retículo azul.

#### b. Eosinófilos

1. Son células voluminosas, de 30 micras.
2. El núcleo es generalmente único. Muestra estructura nuclear semejante a la de los polinucleares, pero más frecuentemente con marcado aspecto degenerativo.
3. El citoplasma es azul pálido, contiene gránulos rosa naranja mucho más numerosos que en la rana, de forma y tamaño variables y sin estructura aparente.

#### c. Basófilos

1. Núcleo de aspecto degenerativo.
2. Protoplasma casi incoloro y una enorme cantidad de granulaciones basófilas metacromáticas cuyos tamaños van de media a una y media micras.  
Estas células parece que en las preparaciones de fase contraste, muestran granos gris obscuro, inmóviles y sin estructura aparente que llenan completamente la célula sin dejar ver el núcleo.

#### d. Trombocitos

1. Son células de 18 a 22 por 12 a 14 micras.
2. Protoplasma escaso, medianamente basófilo acumulado sobre todo en las regiones polares del núcleo; en las formas mejor conservadas el límite celular es más ó menos neto y sólo se observan pequeñas imágenes claras que pudieran corresponder al condrioma. En las formas que han iniciado su alteración, el protoplasma está menos bien limitado, parece estar desgarrado en la periferia y muestra como huella algunas prolongaciones filiformes. En una de las zonas polares y menos frecuentemente en las dos, la mayoría de los trom

bocitos muestran calotas ó vacuolas alargadas que se tifican en violeta muy pálido destacándose con dificultad del protoplasma basófilo.

3. El núcleo medianamente cromófilo muestra cariolinfa violeta pálido, membrana nuclear poco perceptible y cromatina en gruesas motas de dimensiones intermedias entre las de los eritrocitos y las de los linfocitos.

## B. SERIE LINFÁTICA

### a. Linfocitos

1. Son células que van de las 12 a las 14 micras de diámetro.
2. El núcleo es redondo ó ligeramente escotado. Estructura cromática de motas gruesas de contorno poco neto.
3. Citoplasma escaso en las adultas, más abundante y más basófilo en los elementos jóvenes. Hay retículo citoplásmico laxo y poco perceptible, y con relativa frecuencia granulaciones azurófilas, un poco más grandes que las neutrófilas pero más pequeñas que las eosinófilas humanas.

### II. Coloración vital

## A. SERIE GRANULOSA

### a. Polimorfonucleares

#### α. Rojo neutro verde janus

1. En el citoplasma hay escasos granos finos y otros más numerosos y gruesos son de color verde, hay granos acompañados por escasos granos rojos y otros incoloros de tamaño semejante. Raramente se observan vacuolitas rojas.

#### β. Azul brillante de cresil

1. En células con dos núcleos hay condriomas incoloros y sólo algunas mitocondrias muestran tinte violeta pálido.

### b. Trombocitos

1. Núcleo elipsoidal ó redondeado.
2. Citoplasma acumulado en los polos nucleares. Hay mito

condrias y condriocentos verdes, así como vacuolitas gris verdoso y uno que otro grano teñido en rojo. Son perceptibles las vacuolas que se observan con fase contraste.

c. Eosinófilos

1. Las granulaciones son de color salmón.
2. No se percibe condrioma.

## B. SERIE LINFATICA

a. Linfocitos

α. Rojo neutro verde jasna

1. El condrioma se tinte en verde. A veces hay corpúscu los rojos en una formación semejante a la roseta de los monocitos.

Con el tiempo aparecen granos rojos de mediano tamaño.

α. Con azul brillante de cresil

1. En preparaciones recientes, los condriocentos aparecen incoloros y en su interior se perciben dos ó tres granos violeta pálido.
2. A menudo se percibe un nucléolo en azul pálido.

### III. Fase Contraste

## A. SERIE GRANULOSA

a. Polimorfonucleares

1. Núcleo multilobulado con estructura intermedia entre la de los hematíes y la de los linfocitos.
2. Hay mitocondrias negras y finos condriocentos reunidos en grupos de cuatro a ocho ó bien condrioma en grupos dispersos. Frecuentemente se ven vacuolitas, claras, con corteza parcial negra.

b. Eosinófilos

1. Son completamente semejantes a los de la rana.

c. Trombocitos

1. La vesícula nuclear aparece casi desnuda ó rodeada de una pequeña zona protoplásmica no siempre discernible que parece transformarse rápidamente en las vesículas que describiré a continuación.

3. El núcleo es elipsoide, muestra sensiblemente la misma estructura que en los frotis.
4. En las preparaciones recién hechas y antes de que se produzca la coagulación, aparece en torno de los trombocitos una gran vesícula apenas perceptible, limitada por una delgadísima membrana en la que a veces pueden percibirse algunos pliegues de color grisáceo. La vesícula al crecer se hace esférica y toma aspecto en bisaco ó un poco irregular.
5. A veces en el interior del citoplasma se ven dos ó tres pequeñas vacuolas de color gris claro anidadas por movimientos. ¿Estas vesículas resultan del ectoplasma que se fluidifica mucho, tomando líquido del medio ambiente? ¿Son la expresión morfológica de la liberación de la tromboplastina?  
Debido a que estas vesículas pueden ser observadas por otras técnicas, me inclino a creer que están ligadas a los fenómenos de la liberación de la tromboplastina.

## B SERIE LINFÁTICA

- A. Linfocitos
  1. Núcleo ligeramente escotado con estructura gruesa mente reticular.
  2. No se perciben nucléolos.
  3. En el citoplasma en forma de estrecho anillo perinuclear hay mitocondrias negras y finos condriocantos. Se observan pseudópodos filiformes.

# CONCLUSIONES

## 1. Los Colorantes Panópticos

Nos dan información Citológica general muy aceptable; la estructura cromatínica presenta aspectos nítidos de gran utilidad cuando de su estudio se trata. El protoplasma toma tintes característicos para los diversos animales y las granulaciones leucocitarias son creadas según sus aptencias cromáticas.

Conocen en evidencia las sustancias alfa y beta de Cesaris Lemel lo que en el ajolote me sirvió para intentar una explicación sobre su origen y significado, y relacionarlas con los fenómenos de la síntesis de la hemoglobina.

Son colorantes que en general no producen artificios de técnica, pero en cambio tienen la desventaja de no mostrar, o hacerlo rudimentariamente, estructuras tan importantes como el condrioma, el aparato nucleolar, el retículo y el aparato de Golgi que tan importantes papeles desempeñan en la Fisiología Celular. Además las informaciones que con su uso obtenemos son de materia muerta y por tanto muerta, lo que nos limita a un estudio estático de las células.

## 2. Los Colorantes Vitales

Son sustancias cuya importancia radica en que nos permiten la observación de las células vivas. De acuerdo con numerosos autores deben ser los colorantes que se usen cuando se trate de saber si alguna estructura celular es un artificio provocado por otras técnicas o corresponden a una realidad celular. Sin embargo me parece que en ocasiones sí generan artefactos como lo hego notar al describir los histiocitos y hablar de las vacuolas que se observan en su protoplasma.

Son colorantes que deben usarse cuando se estudia el citoplasma y sus estructuras, como el condrioma, vacuola y aparato de Golgi por ejemplo, ya que cuando tienen al núcleo, este fenómeno debe considerarse debido al efecto tóxico que ejercen y la inminencia de la muerte celular que concomitantemente acarrearán.

Se trata pues de técnicas de valor inestimable, ya que estudian células vivas, pero limitado a determinados territorios celulares.

### 5. La Microscopía de Fase Contraste

Me parece que este método constituye la piedra base para los avances de la Citología moderna. Nos permite el estudio de las células vivientes sin el empleo de reactivo ó colorante alguno; la visión celular que proporciona es completa ya que tanto el citoplasma y sus estructuras como el núcleo y sus formaciones internas son perfectamente visibles. El condrioma es puesto en evidencia con una claridad asombrosa, lo mismo que el aparato de Golgi, vacuoma y granulaciones celulares a las cuales muestra claramente ahí donde otras técnicas no las descubren como indiqué en el caso de la granulación cromófoba de los polimorfonucleares de la rana y la formación de las vesículas de los trombocitos del ajolote que supongo como la expresión morfológica de la liberación de la tromboplastina; la formación de pseudópodos puede ser seguida paso a paso y las relaciones entre exo y endoplasma estudiadas en todos los momentos en que tal fenómeno acaece.

Tiene además el inestimable valor de no producir artificios de técnica, aún más, permite descubrirlos tanto por medio de la simple comparación con otros métodos de observación como por el proceso de su formación como tuve ocasión de señalarlo al describir las vacuolas que aparecen en el protoplasma de los histiocitos a medida que el tiempo transcurre y que han sido tomadas como organoídes preexistentes en dichas células.

Sin embargo tiene la limitación de mostrar sólo aquellos elementos cuyo índice de refracción es ligeramente diferente, inconveniente mínimo ya que en las células prácticamente la totalidad de sus estructuras poseen esa característica óptica.

Resumiendo, creo que la Microscopía de Fase Contraste es el procedimiento a seguir en la Citología moderna ya que su ventaja en el estudio general de las células es muy grande con respecto a otras técnicas, y que su uso debe ser acompañado por los procedimientos especiales para determinadas estructuras celulares, nucléolos por ejemplo, ó métodos que, estudian reacciones citológicas precisas como las oxidadas.

#### 4. Técnicas Nucleolares

Este es un campo que ha sido abordado principalmente por el Dr. Ignacio González Guzmán en nuestro país, y basta pensar que de acuerdo con sus teorías, la síntesis de la hemoglobina, algunos lípidos y la formación de anticuerpos encuentran en el aparato nucleolar su órgano generador, para comprender la enorme importancia que actualmente reviste el estudio preciso del aparato nucleolar.

Con estas Técnicas Argentinas las únicas que actualmente nos proporcionan información detallada sobre el nucléolo y que nos han permitido señalar tales estructuras en células en las cuales la mayoría de los autores las consideran inexistentes.